

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

**UNIVERSITE MENTOURI DE CONSTANTINE
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ANIMALE**

N° d'ordre :

N° de série :

**MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
MAGISTERE EN BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALE
Option : Biologie Cellulaire et Moléculaire**

THEME

**LES INFERTILITES MASCULINES :
ETUDE CYTOLOGIQUE ET BIOCHIMIQUE**

Présenté par : Mr ZEGHIB FOUAD

Soutenu le : 07 / 07 / 2009

MEMBRES DE JURY :

Président : Mr. SEKHRI A. Pr. C.H.U Constantine

Rapporteur : Mr. ROUABAH A. MC. U.M.C Constantine

Examineur : Mme AOUATI S. Pr. C.H.U Constantine

Mme ROUABAH L. MC. U.M.C Constantine

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2008 - 2009

Dédicace

A ceux que j'aime surtout

*Mon défunt et regretté **père** qui a rêvé de me voir en magister avant son départ éternel ... toi qui n'as pu voir la promesse des fleurs d'un jardin si merveilleusement entretenu... pardon pour le retard pour exhausser ton rêve et je prie Dieu qu'il t'accorde sa grande mérisicorde pour tout ce que tu m'as donné toute ta vie.*

*Ma très chère **mère** qui m'a toujours poussé et motivé vers le meilleur dans toute ma vie, que Dieu te protège et te préserve une longue vie.*

*Ma petite chérie **filie** qui j'aurais souhaité être présente le jour de soutenance mais Dieu a voulu qu'elle rejoigne son vaste paradis.*

*Ma chère **épouse** pour sa patience et son soutien moral aux moments difficiles.*

Mon frère, mes sœurs, oncles, tantes, mes beaux parents et leurs petites familles pour leur intérêt envers mon travail.

*Mon grand frère et mon enseignant **Mr Nouadri Tahar** pour ses sincères conseils et son assistance toute la durée de mes études.*

*Mon cher ami **Nourreddine** pour son soutien sans faille et permanent.*

A vous tous je dédie mon modeste travail

Fouad

Remerciement

En premier lieu, je tiens à adresser mes plus sincères remerciements à Mr. le Professeur **Sekhri Abdelhamid**, médecin chef du service d'histologie - embryologie au CHU de Constantine, sans qui je n'aurais pu réaliser ce mémoire et qui, malgré ses multiples contraintes a toujours eu le temps pour dire un mot sur l'avancement du travail. Merci infiniment de m'avoir donné la possibilité de travailler dans votre laboratoire et avoir mis à ma disposition tous les moyens pour travailler dans de bonnes conditions. Je vous remercie encore pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury.

Je remercie chaleureusement Mr. **Rouabah Abdelkader**, maître de conférence à l'université Mentouri de Constantine, de m'avoir encadré avec beaucoup de compétence, de rigueur scientifique, d'enthousiasme et de disponibilité. Merci pour vos précieux conseils et la confiance que vous m'avez accordée durant la réalisation de ce travail tout en gardant un œil critique, juste et avisé.

Je présente toute ma reconnaissance à Mme. **Aouati S.**, Professeur au service d'histologie - embryologie du CHU de Constantine, pour avoir accepté d'examiner mon mémoire et de me faire l'honneur d'être partie du jury de thèse.

Mes remerciements les plus respectueux vont à Mme. **Rouabah Leila**, maître de conférence à l'université Mentouri de Constantine, qui a contribué à ma formation et qui m'a fait l'honneur d'être membre du mon jury et l'examinatrice de mon manuscrit. Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance pour l'intérêt qu'elle a porté à mon travail.

Je tiens particulièrement à exprimer mes plus vifs remerciements à Mr. le Professeur **Khelifi Douadi**, directeur du laboratoire de biotechnologie végétale à l'université Mentouri de Constantine pour son accueil, sa disponibilité et son assistance à la réalisation de SDS-PAGE.

Je suis très reconnaissant à Mr. **Boulkheloua Jamel**, maître assistant chargé de cours à l'université de Tébessa, pour l'aide qu'il m'a apportée lors de l'analyse statistique. Je suis très sensible pour votre gentillesse et votre disponibilité.

Je témoigne ma vive reconnaissance pour toute l'équipe du laboratoire d'histologie - embryologie CHU de Constantine pour leur encouragement, sympathie et disponibilité notamment Mme **Hamirèche Fatma Zohra**, Mme **Baaziz Hinda**, Mme **Nesrine**, Mr **Mansouri Djamel** et Mr **Zeghad Toufik** .

Un grand merci à Mr **Hadjoub Ayache** qui m'a particulièrement témoigné une attention humaine. Je suis très reconnaissant de votre précieuse aide et assistance toute la durée de mon séjour au laboratoire et surtout votre patience pour m'aider et m'apprendre la préparation et la lecture des lames. je n'oublierai jamais aussi votre générosité pour la documentation qui m'a beaucoup servi.

Mes gratitudes vont aussi à Mr. **Benouar Farid** pour sa gentillesse, assistance et disponibilité pour les dosages biochimiques et la prise des photos sur microscope.

Je remercie également Mr **Chafai Sami** pour m'avoir remplacé volontairement dans les gardes du jour durant mes études.

MERCI POUR VOUS TOUS

RESUME

Le sperme humain contient différents types de protéines qui sont nécessaires pour le fonctionnement et la survie des spermatozoïdes qui reflète l'état des glandes annexes. L'analyse protéomique profonde du liquide séminal humain a révélé plus de 900 protéines dont les fonctions prédominantes sont la formation du coagulum et la liquéfaction, la protection et le support métabolique pour les spermatozoïdes et aussi des fonctions immunologiques importantes jugées par le nombre important des protéines liée à ses fonctions

La composition protéique du plasma séminal apparaît susceptible à des extrêmes variations à cause d'un large nombre de facteurs. Selon la littérature il existe des variations dans les teneurs en protéines totales du plasma séminal et il est difficile de mesurer avec exactitude la concentration qui dépend fortement des techniques de dosage utilisées et de l'état physiologique des patients.

Les données bibliographiques indiquent que les protéines absentes chez les oligospermiques peuvent être critiques pour les fonctions normales du sperme et peuvent être utilisées comme marqueurs de l'infertilité. D'autre part, la présence des protéines de poids moléculaire compris entre 20 et 23 kDa dans le liquide séminal des oligospermiques et leur absence chez les normospermiques et les azospermiques peut être due à une protéolyse accélérée des protéines du liquide séminal qui peut contribuer dans l'établissement d'une hypofertilité.

Des échantillons de plasma séminal ont été prélevés sur 120 patients orientés vers les services de la biologie de la reproduction du centre hospitalo-universitaire de Constantine, dans le cadre d'investigation d'une stérilité de couple. Après l'analyse cytologique qui a révélé une proportion importante de cas pathologiques liés aux perturbations des paramètres spermatiques ainsi qu'aux anomalies morphologiques des spermatozoïdes, l'analyse biochimique réalisée à travers le dosage des protéines totales du liquide séminal et leur séparation par électrophorèse mono dimensionnelle en gel polyacrylamide en présence du SDS (SDS-PAGE) montre d'une part, que les teneurs moyennes en protéines totales du liquide séminal de certains cas pathologiques en l'occurrence, la tératospermie, l'azoospermie et l'asthénotératospermie sont proches des normospermiques. Dans les autres cas pathologiques recensés les concentrations semblent relativement plus faibles notamment dans le cas des polyasthénospermies et des oligospermies. D'autre part, les patrons de distribution des protéines non spécifiques montrent qu'à l'exception de l'oligoasthénospermie et de la

polyasthénospermie, qui présentent les mêmes profils électrophorétiques que la normospermie, les autres cas pathologiques sont caractérisés par l'absence d'au moins une sinon de plusieurs bandes protéiques. Dans le cas de l'azoospermie 3 bandes spécifiques sont discernées et que l'on ne retrouve pas chez les autres cas pathologiques étudiés.

Mots clés : Infertilité – Stérilité – Pathologie – Protéomie - Marqueurs

ABSTRACT

The human semen contains different types of proteins that are necessary for the functioning and survival of spermatozoa that reflects the state of the glands. The proteomic analysis of deep human seminal fluid revealed over 900 proteins whose functions are the predominant coagulum formation and liquefaction, protection and support for sperm metabolic and immunological functions deemed important by the large number of proteins related to its functions. The protein composition of seminal plasma is susceptible to extreme fluctuations due to a large number of factors. According to the literature there are variations in the levels of total protein in seminal plasma and it is difficult to accurately measure the concentration which depends heavily on the technical assay used and the physiological status of patients.

The bibliographic data indicate that the protein absent in oligospermia can be critical for normal sperm function and may be used as markers of infertility. On the other hand, the presence of protein molecular weight between 20 and 23 kDa in seminal fluid of oligospermia and their absence among normospermia and azospermia may be due to accelerated proteolysis of seminal fluid proteins that may contribute in establishment of a hypofertilité.

Samples of seminal plasma were collected on 120 patient-oriented services of the reproductive biology of the central hospital of Constantine in an investigation of a sterile couple. After cytological analysis revealed that a significant proportion of illnesses associated with disturbances of sperm parameters and sperm morphological abnormalities, the biochemical analysis performed through the determination of total protein of seminal fluid and their separation by electrophoresis mono dimensional polyacrylamide gel in the presence of SDS (SDS-PAGE) shows first, that the average content of total protein of seminal fluid in some pathological cases in this case, the tératospermia, azospermia and asthénotératospermia are close of normospermia. In other pathological cases identified concentrations seem relatively low especially in the case of polyasthénospermia and oligospermia. On the other hand, the distribution patterns of non-specific proteins showed that, except for oligoasthénospermia and the polyasthénotératospermia, which have the same electrophoretic profile as normospermia, other pathological cases are characterized by the absence of at least one if not several protein bands. In the case of azospermia 3 specific bands are discerned and are not found in other pathological cases studied.

Keywords: Infertility - Sterility - Pathology - Proteomic – Markers.

ملخص

دراسة العقم عند الرجال عن طريق تحليل السائل المنوي والتحليل الخلوي المورفولوجي تبين النسبة الكبيرة للحالات المرضية المتأثرة من جهة باختلال المقاييس المنوية خاصة انخفاض الحركية العادية للحيوانات المنوية ومن جهة أخرى النسبة المرتفعة للتشوهات المورفولوجية خاصة تلك المتعلقة بالوحدة الوسطى.

حدوث هذه الحالات المرضية راجع من جهة إلى تأثير الخلفيات المرضية القديمة للجهاز البولي التناسلي خاصة العدوى الالتهابية ودوالي الخصيتين ومن جهة أخرى لوجود بعض عوامل الخطر المرتبطة بالنشاط العملي للمرضى خاصة أولئك المعرضون لارتفاع الحرارة الخارجية بينما حالات مرضية أخرى يمكن أنها ترجع إلى أسباب هرمونية و/أو وراثية أو مجهولة السبب. يبدو أن مساهمتنا في دراسة تعقيم الرجال أتت بمؤشرات جديدة للتقريب البيولوجي لعقم الرجال في بعض الأمراض عن طريق قياس البروتينات الكلية في حالة Poly- و Oligo-teratospermie و asthenospermie حيث كانت متدنية بشكل كبير، وأيضا عن طريق الهجرة الكهربائية على هلام البولي أكريلاميد Polyacrylamide (SDS-PAGE) في حالة Azoospermie بوجود قطع حصرية وخاصة.

SOMMAIRE

	Page
INTRODUCTION	1
CHAPITRE. 1. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	3
I. Anatomie et histophysiologie de l'appareil génital masculin	4
II. Elaboration et fonction du sperme	8
III. La fécondation	15
IV. Définition de l'infertilité	15
V. Définitions et étiologies des différentes anomalies spermatiques	16
V.1. La normospermie	16
V.2. Anomalies liées aux troubles du coit	17
V.3. Anomalies liées aux spermatozoïdes et plasma séminal	18
V.4. Infertilités idiopathiques	22
V.5. Les facteurs de risques	22
VI. Bilan clinique de l'infertilité masculine	25
VI.1. Interrogatoire	25
VI.2. Examen clinique	26
VI.3. Bilan de première intention non orienté	27
VI.4. Examens complémentaires de seconde intention ou orientés	30
VI.5. Autres explorations spécialisées	37
CHAPITRE. 2. MATÉRIEL ET MÉTHODES	41
I. Aspect de la population cible	42
II. Matériel biologique	42
III. Techniques d'examen du sperme	42
III.1. Spermogramme	42
III.2. Spermocyto gramme	46
IV. Dosage des protéines totales	49
V. Electrophorèse des protéines par SDS-PAGE	51
CHAPITRE. 3. RÉSULTATS ET DISCUSSION	53
I. L'aspect général de la population étudiée	54
II. Résultats du spermogramme et le spermocyto gramme	55
III. Fréquence des anomalies spermatiques	56
IV. Distribution des pathologies selon l'âge	60

V.	Distribution des pathologies selon l'activité professionnelle	62
VI.	Antécédents urogénitaux	63
VII.	Distribution en fonction du mode de vie	66
VIII.	Anomalies macroscopiques du spermogramme	66
IX.	Anomalies microscopiques du spermogramme	68
IX.1.	L'agglutinat.	68
IX.2.	La vitalité.	68
IX.3.	La concentration des spermatozoïdes.	69
IX.4.	La concentration des cellules rondes	70
IX.4.	Estimation de la mobilité.	71
X.	Spermocytogramme	72
XI.	Concentration des protéines totales	77
XII.	Electrophorèse des protéines du liquide séminal sur gel polyacrylamide.	80
	CONCLUSION DISCUSSION GÉNÉRALE	83
	PLANCHES	104
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	112
	ANNEXES	120
	LISTE DES FIGURES	129
	LISTE DES TABLEAUX	130
	LISTE PLANCHES	131
	LISTES DES ANNEXES	132

ABREVIATIONS

- AAS : Anticorp Anti-Spermatozoïde.
- ABP : Androgen Binding Protein
- ADN : Acide DésoxyriboNucléique
- AMH : Hormone Anti-Müllérienne
- AMP : Aide Médicale à la Procréation.
- AS : Asthénospermie.
- ATS : Asthéo-Tératospermie.
- AZ : Azoospermie.
- AZF : Azoospermia Factor
- βHCG: β Human Chorionic Gonadotropin
- CASA : Computer-aided sperm analysis
- CFTR : Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
- DBCP : 1, 2- dibromo-3-chloropropane
- FIV: Fécondation In Vitro
- FSH : Follicule Stimulating Hormone.
- GnRH : Gonadotrophin Releasing Hormone.
- IAC: Insémination intra-utérine avec sperme de conjoint
- IAM : Index d'Anomalies Multiples
- ICSI : Intracytoplasmic Sperm Injection
- IgA : Immunoglobuline A
- IGF-1 : Insuline - like Growth Factor 1
- IgG : Immunoglobuline G
- IgM : Immunoglobuline M
- IUI : Insémination intra-utérine
- LH : Luteinizing Hormone.
- NS : Normospermie.
- OAS : Oligo-Asthénospermie.
- OATS :Oligo-Asthéo-Tératospermie.
- OMS : Organisation Mondiale de la Santé.
- OTS : Oligo-Tératospermie.
- OTSV:Oligo-Tératospermie sévère.
- PAS : Poly-Asthénospermie.

PATS: Poly-Asthéno-Téatospermie.
PCR : Polymerase chain reaction
PRL : Prolactine.
RA : Réaction Acrosomique
ROS : Reactive Oxygene Species
TGF β : Transforming Growth Factor β
TPC : Test Post Coïtal
TS : Téatospermie.
 β HCG: β Human Chorionic Gonadotropin

INTRODUCTION

Dans de nombreuses cultures, l'enfant constitue un bien précieux, la joie et la fierté du couple. Ainsi un foyer sans enfant est source d'opprobre, de divorce, de désintégration de la cellule familiale.

Il n'y a pas encore si longtemps, la femme était le plus souvent tenue pour responsable de la stérilité se fondant dans une logique primaire : "‘‘puisqu'elle n'est pas enceinte, c'est elle qui est stérile’". La femme qui se retrouve sans défense alors que la responsabilité masculine de la stérilité conjugale existe et ne cesse de croître (Cohen-Bacrie et *al.*, 2007).

La diminution de la fertilité chez l'homme est accentuée dans les dernières années cela est dû en générale au changement des conditions de vie actuelle par rapport à ce qui a été dans le passé. L'augmentation du taux de la pollution, la dégradation de l'environnement, le changement du régime alimentaire où les produits comestibles sont pour la plupart traités par des pesticides et des produits chimiques et l'augmentation accrue des fréquences des maladies sexuellement transmissibles, représentent des facteurs pouvant avoir un impacte grave sur la fertilité de l'homme.

L'infertilité est un problème de couple, cette situation concerne 25 % des couples souhaitant procréer et qui n'arrivent pas à concevoir un enfant au bout d'un an. 15 % des couples infertiles cherchent un traitement médical à leur infertilité et moins de 5% restent sans enfant alors que les causes des infertilités masculines sont déterminées dans 50% des couples infertiles (Dohle et *al.*, 2007).

Selon les enquêtes nationales menées par le ministère de la santé de la population et de la réforme hospitalière entre 1992 et 2002, l'Algérie compte plus de 300.000 couples souffrant d'infertilité, soit une proportion de 7 % des couples.

Dans ce cadre, nous nous sommes proposé d'apporter notre contribution à travers une étude des infertilités masculines dans le Constantinois, en abordant l'aspect épidémiologique de cette affection. Cette dernière consiste à:

- identifier et mesurer la fréquence des différentes anomalies spermatiques liées aux infertilités masculines .
- déterminer les facteurs étiologiques et l'incidence de certains facteurs de risques sur l'infertilité masculine.
- comparer sur le plan cytologique et biochimique entre les cas normaux et les cas pathologiques et rechercher d'éventuelles corrélations inter et intra paramétriques .
- confronter nos résultats avec ceux de la littérature.

Chapitre. 1 :

Etude bibliographique

I. Anatomie et histophysiologie de l'appareil génital masculin

L'appareil génital masculin comprend les deux testicules, les voies génitales excrétrices, les glandes annexes composées des vésicules séminales, de la prostate et des glandes bulbo-urétrales et du pénis (Dadoune et *al.*, 1990) (Fig.1).

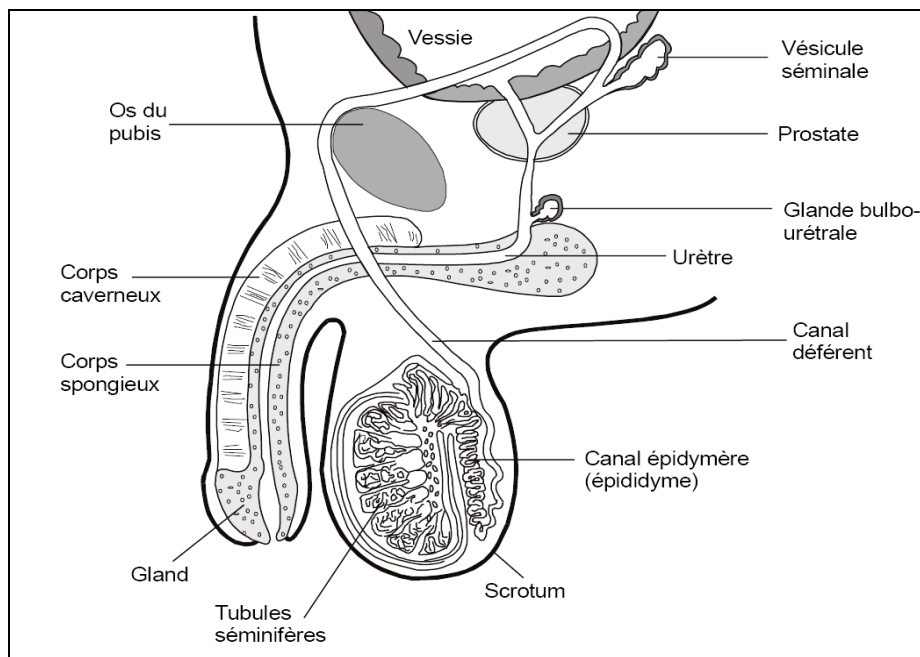


Figure. 1 : Coupe sagittale schématisée de l'appareil génital masculin.
(d'après Dadoune et *al.*, 1990)

Les testicules sont constitués par l'assemblage de divers éléments dont l'albuginée, tubes séminifères, espaces interstitiels. Elles sont douées d'une double fonction, l'une est une fonction exocrine assurée par les tubes séminifères, dont le produit est représenté par les spermatozoïdes, alors que la deuxième est une fonction endocrine consistant en l'élaboration de diverses hormones testiculaires par l'intermédiaire des cellules interstitielles (Girod et Czyba., 1969) .

Le testicule de forme ovoïde, mesure environ 5 cm de long, 3 cm de large et 2,5 cm de profondeur. Il est suspendu dans le scrotum revêtu d'une capsule conjonctive blanche l'albuginée. Ce dernier s'épaissit et s'enfonce dans la partie supérieure du bord inférieure du testicule pour former le corps de Highmore. Celui-ci est perforé par des formations canalaies qui constituent le rete testis (Fig. 2).

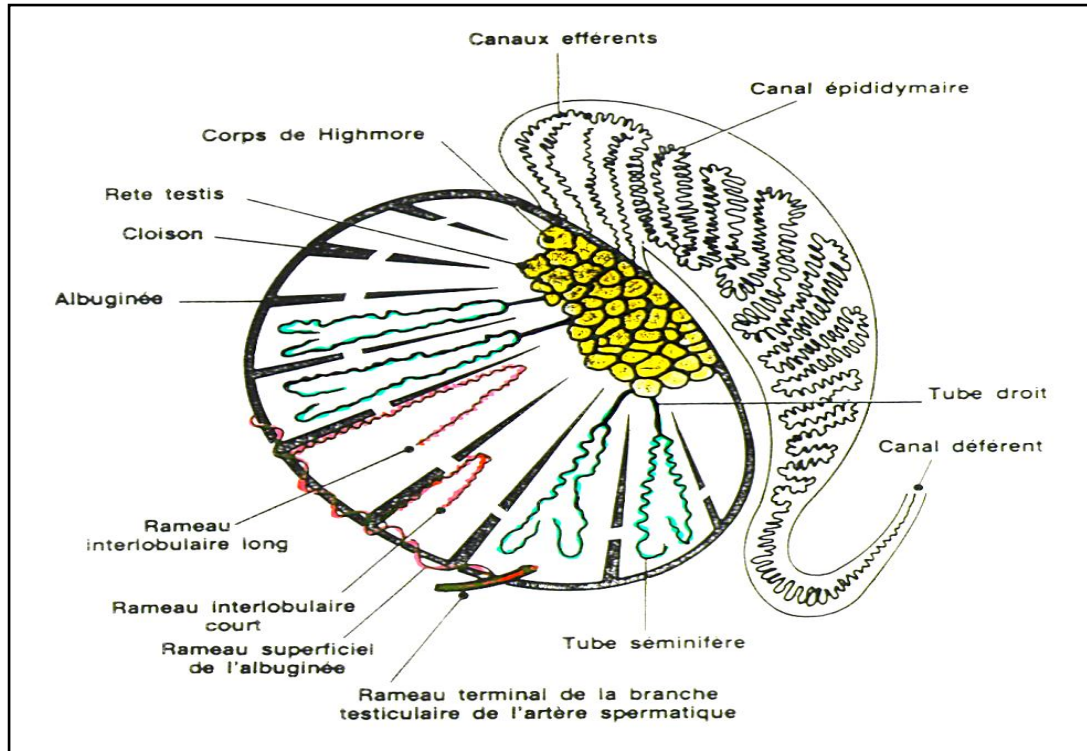


Figure. 2 : Organisation générale du testicule (d'après Dadoune et *al.*, 1990)

Entre l'albuginée et le corps de Highmore sont tendues les cloisons interlobulaires qui délimitent entre 200 à 300 lobules testiculaires contenant chacun entre 2 à 3 tubes séminifères de 80 à 100 cm de longueur. Ces derniers convergent vers le corps de Highmore où ils s'abouchent dans le rete testis par un segment rectiligne, le tube droit. Chaque tube séminifère est limité par une paroi propre la gaine périvitubulaire, et renferme l'épithélium séminal constitué par les éléments de la lignée germinale et les cellules de Sertoli (Dadoune et *al.*, 1990).

La gaine périvitubulaire est formée par une lame basale avec plusieurs couches de cellules semblables à des cellules musculaires lisses, les cellules myoïdes, réparties au sein de trousseaux de fibrilles de collagène. Elle est revêtue sur son versant externe par une couche de fibroblastes établissant des contacts avec les éléments du tissu interstitiel.

Les cellules de la lignée germinale, représentent les différentes étapes de la spermatogenèse, sont disposées en couche superposées qui s'étendent entre la membrane basale et la lumière du tube séminifère (Dadoune et *al.*, 1990). Les cellules de Sertoli s'intercalent avec les cellules de la lignée germinale avec lesquelles établissent des jonctions serrées et les cellules de Sertoli adjacentes formant ainsi la barrière hémato-

testiculaire. Leur base repose sur la gaine périvitulaire, alors l'apex atteint fréquemment la lumière du tube séminifère (Grabowski et *al.*, 2002). Outre leurs activités sécrétoires impliquées dans la régulation endocrine et paracrine du testicule à savoir la synthèse des protéines liant les androgènes (ABP), l'inhibine, l'activine et l'hormone antimüllérienne (AMH), les cellules de Sertoli assurent plusieurs fonctions dans le déroulement de la spermatogenèse. Elles ont un rôle de support, protection et nutritionnel pour les cellules germinales en assurant l'étanchéité de la barrière hémato-testiculaire (Hazard et Perlemuler, 2000). Elles interviennent dans la spermiation par la libération des spermatozoïdes dans la lumière du tube séminifère probablement sous la dépendance d'une protéase l'activateur du plasminogène. Elles jouent un rôle dans la phagocytose des cellules germinales dégénérées et les corps résiduels éliminés par les spermatides (Dadoune et *al.*, 1990).

Le tissu interstitiel forme les espaces compris entre les tubes séminifères. Il est constitué du tissu conjonctif renfermant des fibroblastes, lymphocytes et macrophages impliqués dans la régulation paracrine intra-gonadique, des vaisseaux sanguins et lymphatiques, et les cellules de Leydig sécrétant l'androgène testiculaire la testostérone (Dadoune *et al.*, 1990).

Les cellules de Leydig sont des cellules polyédriques avec un noyau rond excentré et un volumineux nucléole. Se trouvant isolées ou groupées en amas autour des capillaires sanguins et lymphatiques, elles présentent tous les caractères structuraux des cellules qui synthétisent des stéroïdes par la présence d'un réticulum endoplasmique lisse très développé et de nombreuses mitochondries à crêtes tubulaires ainsi que de nombreuses inclusions lipidiques, pigmentaires ou protidiques. Leur principale fonction est l'élaboration des androgènes testiculaires tel que la testostérone, androsténone, dihydrotestostérone et androstaniol (Dadoune et *al.*, 1990).

Les voies génitales excrétrices comprennent les voies spermatiques intratesticulaire à savoir les tubes droits et le rete testis, les canaux efférents, le canal épидидymaire, le canal déférent et l'urètre.

Les canaux efférents sortent du testicule et traversent l'albuginée par 10 à 12 canaux enroulés en spirale de plus en plus larges, tandis que le canal épидидymaire est un conduit de 3 à 6 m de long, extrêmement pelotonné est divisé en 3 segments ; la tête située au pôle supérieur du testicule, la queue située au pôle inférieure et le corps qui relie la tête et la queue. L'épididyme remplit deux fonctions essentielles, la première étant le transport des spermatozoïdes pour une moyenne de transit de 12 jours (Dadoune et *al.*, 1990) et leur

stockage dans la queue qui peut atteindre un mois (Grabowski et *al.*, 2002), tandis que la deuxième est la maturation et l'acquisition du pouvoir fécondant des spermatozoïdes par diverses modifications biochimiques sur la membrane plasmique et le noyau du spermatozoïde (Dadoune et *al.*, 1990).

Le canal déférent fait suite à la queue de l'épididyme. C'est un tube à trajet vertical, de 45 cm de long pour 2 à 3 mm de diamètre. Il est caractérisé par une lumière étroite et festonnée et il se termine par une région dilatée, l'ampoule déférentielle où se fait le stockage des spermatozoïdes, bordée par un épithélium prismatique simple au niveau de laquelle s'abouche les vésicules séminales. Il se poursuit par le court canal éjaculateur qui rejoint l'urètre prostatique (Dadoune et *al.*, 1990). Après les canaux éjaculateurs, le tractus génital se confond avec le tractus urinaire à travers l'urètre qui mesure 20 cm environ, il traverse la prostate, le diaphragme uro-génital et le pénis, et se divise en trois parties à savoir l'urètre prostatique, l'urètre membraneux et l'urètre spongieux (Grabowski et *al.*, 2002).

Les glandes annexes comprennent les vésicules séminales, la prostate et les glandes de Cowper. Les premiers sont des organes pairs, en forme de sac à paroi bosselée, élaborent une grande partie du plasma séminal qui constitue le volume principal de l'éjaculat. Elles renferment des électrolytes, des sucres tel que le fructose comme source énergétique des spermatozoïdes, des protéines essentiellement la lactoferrine et des prostaglandines. Tandis que la prostate est une glande exocrine pesant 20 g, comporte deux parties, crâniale et caudale formées de 3 lobes chacune disposée autour de l'urètre prostatique. Elle est constituée par une cinquantaine de glandes tubulo-alvéolaires ramifiées, dont les canaux excréteurs s'abouchent dans l'urètre prostatique. Les cellules épithéliales ont les caractéristiques des cellules sécrétrices de protéines et contiennent de nombreux lysosomes. Les sécrétions prostatiques entrent dans la composition du liquide séminal elles contiennent principalement l'acide citrique, les phosphatases acides et le Zinc, considérés comme marqueurs prostatiques en plus de l'albumine et les enzymes protéolytiques. Alors que les glandes de Cowper ou glandes bulbo-urétrales s'abouchent dans l'urètre membraneux. Elles sont tubulo-alvéolaires et bordées par un épithélium de type muqueux. leur sécrétion est de type mucoïde responsable de la lubrification de l'urètre avant l'éjaculation et de la protection des spermatozoïdes contre l'urine acide (Dadoune et *al.*, 1990).

Le pénis ou verge est constitué de trois organes érectiles ; le corps spongieux et les deux corps caverneux recouvert par la peau. Le corps spongieux est médian et entoure l'urètre

pénien, il possède un renflements postérieur, le bulbe et un renflement antérieur, le gland. Les corps caverneux ont la forme de demi-cylindre accolés. Ils sont séparés par une cloison conjonctive. Les corps spongieux et caverneux sont entourés par une albuginée riche en cellules musculaires lisses (Dadoune et *al.*, 1990).

II. Elaboration et fonction du sperme

II.1. Sperme

Le sperme comporte des spermatozoïdes contenus dans un plasma séminal composé de sécrétions d'origine épидидymaire, vésiculaire, prostatique et bulbo-urétrale.

Le sperme normal est un fluide faiblement visqueux qui a une couleur opaline. Il coagule peu après son émission et se liquéfie en 10 à 30 minutes .

Les fonctions du plasma séminal sont multiples. Il exerce un rôle mécanique lors du coït, il stabilise la membrane du spermatozoïde et modifie sa mobilité, sa condensation nucléaire, sa congélabilité et masque les antigènes de surface. Le plasma séminal a également une action sur les voies génitales féminines en inhibant les réactions immunitaires et en stimulant le péristaltisme tubaire pour accélérer la remontée des spermatozoïdes. Toutes les composantes du plasma séminal doivent être présentes pour que ces différentes activités s'expriment.

Le plasma séminale fournie aux spermatozoïdes un moyen de transport et des nutriments. Il neutralise le milieu acide de l'urètre de l'homme et du vagin de la femme, il contient également des enzymes qui activent les spermatozoïdes après l'éjaculation (Lucas, 2007).

II.2. Elaboration du sperme

Les voies élaboratrices et conductrices des constituants du sperme comportent deux parties, la première appartenant en propre à l'appareil génital (voie séminale), la deuxième servant également à l'excrétion urinaire (voie génito-urinaire) (Girod et Czyba, 1969).

Les spermatozoïdes élaborés dans les tubes séminifères du testicule parcourent les tubes droit et le rete testis avant de quitter le testicule par les canaux efférents qui pénètrent dans la tête de l'épididyme.

Les différentes sécrétions ne sont pas émises simultanément. Lors de l'éjaculation, le sphincter lisse de l'urètre se ferme, le plasma épидидymaire et les spermatozoïdes en réserve dans la queue de l'épididyme sont émis, entrant ainsi en contact avec la sécrétion

prostatique. Il se produit probablement des interactions entre ses trois composants au moment de l'éjaculation. Secondairement le fluide vésiculaire rejoint l'éjaculat. La séquence éjaculatoire se fait en 5 ou 6 parties permettant de récupérer des fractions pures correspondantes aux différentes sécrétions. Il faut noter que tout le matériel sécrété dans les différentes parties du tractus n'est pas incorporé au plasma séminal. Ainsi, l'origine des sécrétions se décompose en 5% glandes de Cowper, 20% à 40% prostate, 10% à 20% épидидyme et 40% à 60% vésicules séminales (Lucas, 2007).

II.3. Spermatozoïde :

Les spermatozoïdes sont des cellules sexuelles spécialisées de forme allongée (Nazza, 2002) libérés dans la lumière du tube séminifère des testicules. Un homme adulte produit environ 400 millions de spermatozoïdes par jour. Dans le système reproducteur de la femme, l'espérance de vie des spermatozoïdes est d'environ 48 heures. Les spermatozoïdes matures sont spécialisés pour atteindre l'ovocyte et y pénétrer .

L'étude ultrastructurale du spermatozoïde n'a été possible que grâce à l'apport du microscope électronique. Ce qui a permis aux cytologistes de déterminer avec exactitude la structure interne et externe du spermatozoïde.

Le spermatozoïde humain mesure environ 60 μm de long, on distingue la tête de 8 à 10 μm de long élargie entièrement en forme de spatule. Elle est limitée par la membrane plasmique et contient une chromatine dense et homogène, limitée postérieurement par l'épaississement de la plaque basale, et l'acrosome qui coiffe les 2/3 antérieures du noyau et contient de nombreuses enzymes notamment, l'hyaluronidase, la corona penetrating enzyme qui permet la traversée de la corona radiata, l'acrosine qui est une protéinase spécifique de traversée de la zone pellucide et les neurominidases qui jouent un rôle dans l'induction de la réponse de l'ovocyte.

Le collet qui mesure 1 μm de long est une zone cytoplasmique correspondant à une étroite constriction, comprenant le centriole proximale et les colonnes segmentées qui constituent une pièce de jonction entre la plaque basale et le flagelle.

La pièce intermédiaire est de 4 à 5 μm de long s'étend du centriole distale à l'anneau de Jensen. Limitée par la membrane plasmique elle comprend le flagelle en position axiale avec ses 9+1 doublets, un anneau périphérique de 9 fibres denses associées aux doublets périphériques et constituées d'autant de gros filaments qui interviennent dans la motilité du flagelle, l'hélice mitochondriale et une mince couche cytoplasmique dilatée.

La pièce principale, qui forme la partie la plus longue du spermatozoïde de 40 à 50 μm de long, limitée par la membrane plasmique, elle contient le flagelle en position axiale entouré d'une gaine fibreuse de nature protéique qui présente latéralement deux épaissements diamétralement opposés, les colonnes longitudinales.

La pièce terminale de 5 à 10 μm de long est constituée uniquement des tubules de flagelle, dont le filament axial et le seul reconnaissable, les éléments périphériques étant plus ou moins dissociés en tubules simples recouvert de la membrane plasmique (Mauvais-Javis, 1986).

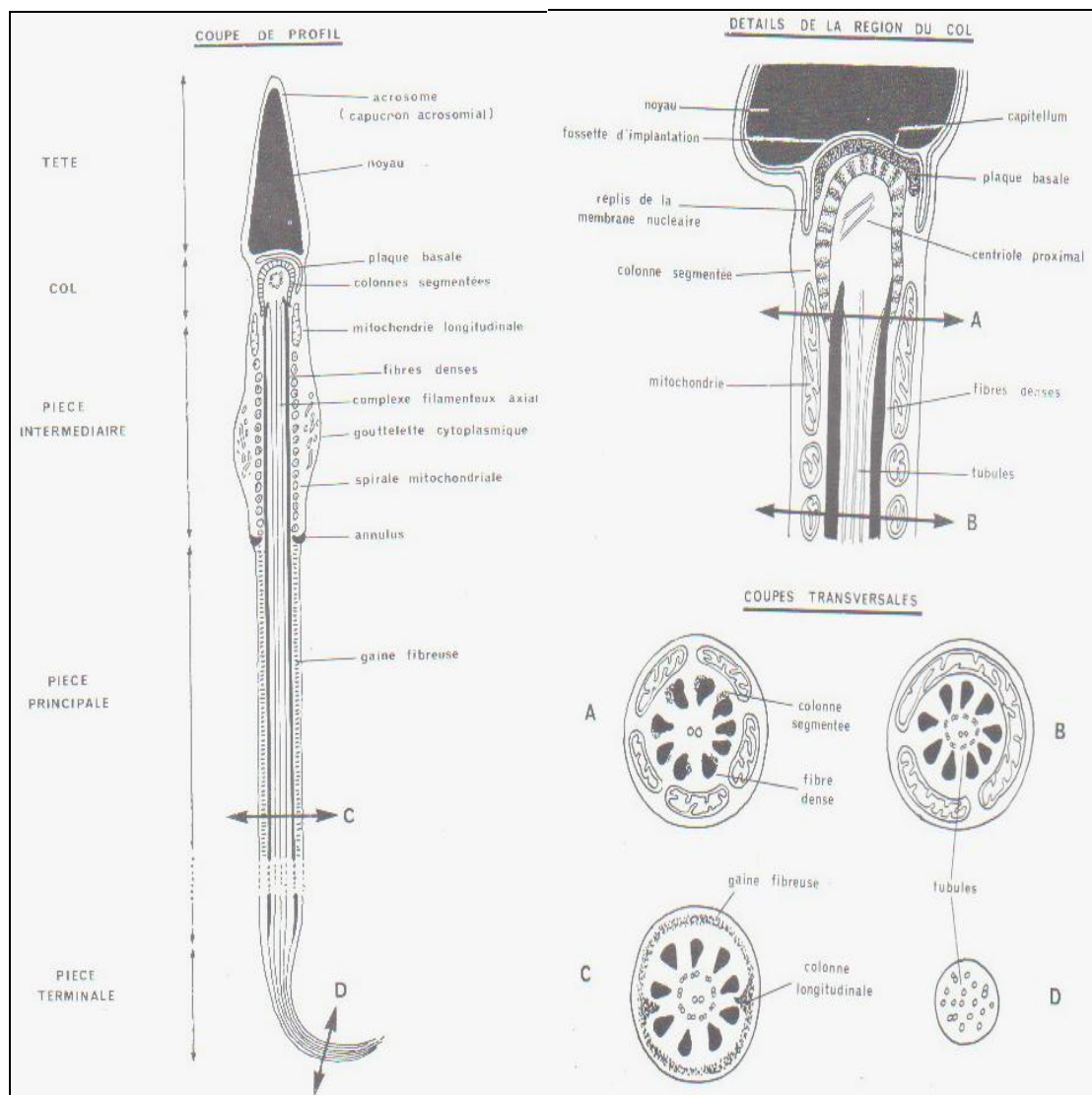


Figure. 3 : Ultrastructure du spermatozoïde humain. (d'après Girod et Czyba, 1969)
Schéma de la cellule en coupe longitudinale. Les niveaux a, b, c et d sont représentés en coupe transversale.

II.4. Propriétés du spermatozoïde

Grâce au mouvement de leurs flagelles les spermatozoïdes sont capables de se déplacer par des mouvements ondulatoires de faible amplitude suivant une direction régulière plus ou moins rectiligne. La vitalité appréciée après coloration vitale au cours de l'examen microscopique, décroît rapidement dans le liquide séminal, alors que dans les voies génitales femelles la durée de survie est relativement plus longue (48 h en moyenne). Les spermatozoïdes possèdent des antigènes spécifiques qui sont présents sur l'acrosome et qui peuvent réagir avec les agglutinants présents dans le mucus cervical et les sécrétions vaginales. Le pouvoir fécondant est la possibilité d'un spermatozoïde normale et mobile de fusionner avec une gamète femelle. Son activité métabolique est représentée par l'activité respiratoire qui est importante car le mouvement flagellaire exige un important apport d'ATP. L'hétérogamétrie permet de distinguer deux sortes de spermatozoïdes; les spermatozoïdes à 22 autosomes +Y et les spermatozoïdes à 22 autosomes +X (Nazzari, 2002).

II.5. Spermatogenèse

La spermatogenèse représente la fonction exocrine du testicule, c'est un processus qui conduit à la production des gamètes males. Elle a lieu dans les tubes séminifères des testicules et se produit de manière continue à la puberté jusqu'à la mort. La spermatogenèse dure environ 74 jours et compte 4 phases : la multiplication, l'accroissement, la méiose et la spermiogénèse.

Selon le stade de prolifération ou de différenciation, on distingue 5 stades cellulaires qui s'intercalent entre les cellules de Sertoli, depuis la périphérie vers la lumière des tubes séminifères (Fig. 4). Les spermatogonies ou cellules souches diploïdes qui subissent une phase de multiplication et dont la microscopie électronique permet de distinguer 3 types ; A sombre (dark) qui constituent une population de réserve et A claire (pale) qui vont donner des spermatogonies de types B, qui se différencient pour donner à leur tour les spermatocytes I.

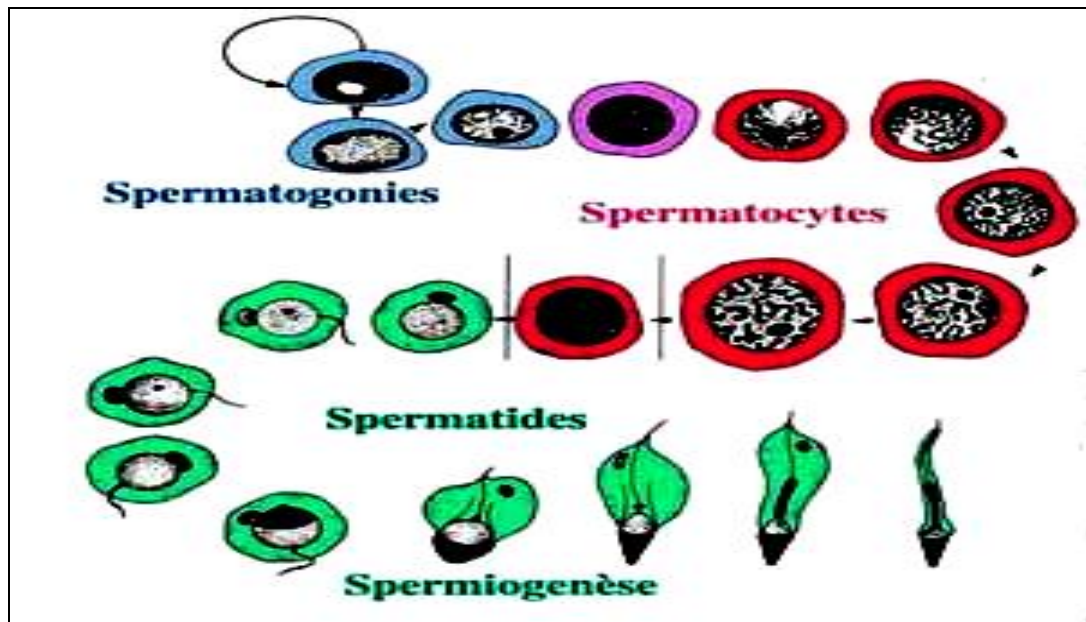


Figure 4 : Le cycle de la spermatogénèse (D'après Clermont in Dadoune et *al.*, 1990)

Les spermatocytes I sont des cellules diploïdes qui vont subir une phase d'accroissement avant d'entrer en mitose réductionnelle (1^{re} phase de la mitose) pour donner les spermatocytes II. Ces dernières sont des cellules haploïdes (n chromosomes), dont la moitié renferment le chromosome X et l'autre le chromosome Y, qui se divisent rapidement par mitose équationnelles (2^e phase de la mitose) aboutissant aux spermatides, cellules haploïdes qui ne se divisent plus mais subissent une phase de maturation.

les spermatozoïdes qui proviennent des précédents à l'issue d'une phase de différenciation, la spermiogénèse au cours de laquelle les cellules subissent de profonds modifications qui sont ; la formation de l'acrosome, qui s'étend sur la moitié de la surface du noyau et contient des enzymes aidant à la pénétration ovulaire au cours de la fécondation, la condensation du noyau, la formation du collet, la formation de la pièce intermédiaire, ainsi de la queue et la perte de la plus grande partie du cytoplasme (Hazard et Perlemuler, 2000) .

II.6. Cycle de la spermatogénèse

Sur le plan chronologique le cycle spermatogénétique correspond au passage d'une spermatogonie à 16 spermatozoïdes et dure 74 jours, dont 23 jours pour la seule spermiogénèse. La durée de vie moyenne des différents stades cellulaires étant de 18

jours pour les spermatogonies de types A, 9 jours pour celles du types B, 23 jours pour les spermatocytes I, 1 jour pour les spermatocytes II et 23 jours pour les spermatoïdes. Alors que sur le plan histologique, le cycle de l'épithélium séminal rend compte des différents aspects observés sur les coupes transversales du testicule. On distingue 6 stades correspondant à des associations cellulaires différentes, juxtaposées au sein de l'épithélium séminal. La durée de chaque stade est de 16 jours et les 6 stades qui constituent le cycle épithélial se succèdent à un endroit donné du tube séminifère évoluant de façon indépendante (Hazard et Perlemuter, 2000).

II.7. Régulation de la spermatogenèse :

L'axe hypothalamo-hypophysaire-testiculaire joue un rôle fondamental dans le processus de la reproduction notamment en assurant la maturation sexuelle lors de la puberté et le contrôle des fonctions endocrine et exocrine des testicules.

A l'étage hypothalamique le fonctionnement gonadique est sous la dépendance de la LHRH ou GnRH (Gonadotrophin Releasing Hormone) ou gonadolibérine, dont la sécrétion est pulsatile (un pulse toutes les 90 minutes) et se fait dans le système veineux porte hypothalamo-hypophysaire. A l'étage hypophysaire la GnRH trouve des récepteurs sur les cellules gonadotropes de l'antéhypophyse. La fixation du GnRH à son récepteur active le système de la phosphokinase C et stimule la synthèse et la sécrétion par les cellules gonadotropes des deux gonadotrophines ; LH (Luteinizing Hormone) et FSH (Follicule Stimulating Hormone). A l'étage testiculaire les gonadotrophines hypophysaires LH et FSH agissent sur des récepteurs membranaires spécifiques, topographiquement séparés. La LH, qui prend le relais de la β HCG d'origine placentaire, active dans les premières semaines du développement fœtal. Cette dernière exerce son action en se fixant à des récepteurs situés sur la cellule de Leydig où elle stimule, par l'intermédiaire de l'adénylcyclase, la biosynthèse de la testostérone essentiellement en favorisant le transport du cholestérol vers la membrane interne de la mitochondrie. Tandis que la FSH est responsable de l'initiation et du maintien de la spermatogénèse en agissant sur les cellules de Sertoli testiculaires dont elle stimule l'ensemble des sécrétions (Fig. 5).

La régulation de la fonction gonadotrope est caractérisée par un rétrocontrôle négatif exercé à la fois au niveau de l'hypothalamus et de l'hypophyse par la sécrétion testiculaire. La testostérone a une action inhibitrice sur la sécrétion de la LH et à

moindre degré de la FSH par l'hypophyse et sur celle de la GnRH par l'hypothalamus. Au niveau hypothalamique son action se fait en grande partie après aromatisation en œstradiol. Alors que l'inhibine exerce un rétrocontrôle négatif sur la synthèse des sous unités β de la FSH par les cellules gonadotropes. Tandis que la prolactine a tendance à déprimer la sécrétion de la GnRH ; elle pourrait également intervenir directement sur la production de la testostérone par la cellule de Leydig.

Il existe des interconnexions multiples et complexes entre les cellules de Leydig et les cellules de Sertoli à titre d'exemple la testostérone sécrétée par les cellules de Leydig agit en synergie avec la FSH pour stimuler les sécrétions sertoliennes et la proopiomelanocortine sécrétée par la cellule de Leydig sous l'influence de la LH agirait en diminuant l'action de la FSH sur la cellule de Sertoli. La plupart des substances sécrétées par la cellule de Sertoli influencent la stéroïdogénèse dans la cellule de Leydig soit en activant (inhibine , IGF-1, TGFB) soit en inhibant (interleukine 1, substance GnRH –like) (Hazard et Perlemuter, 2000)

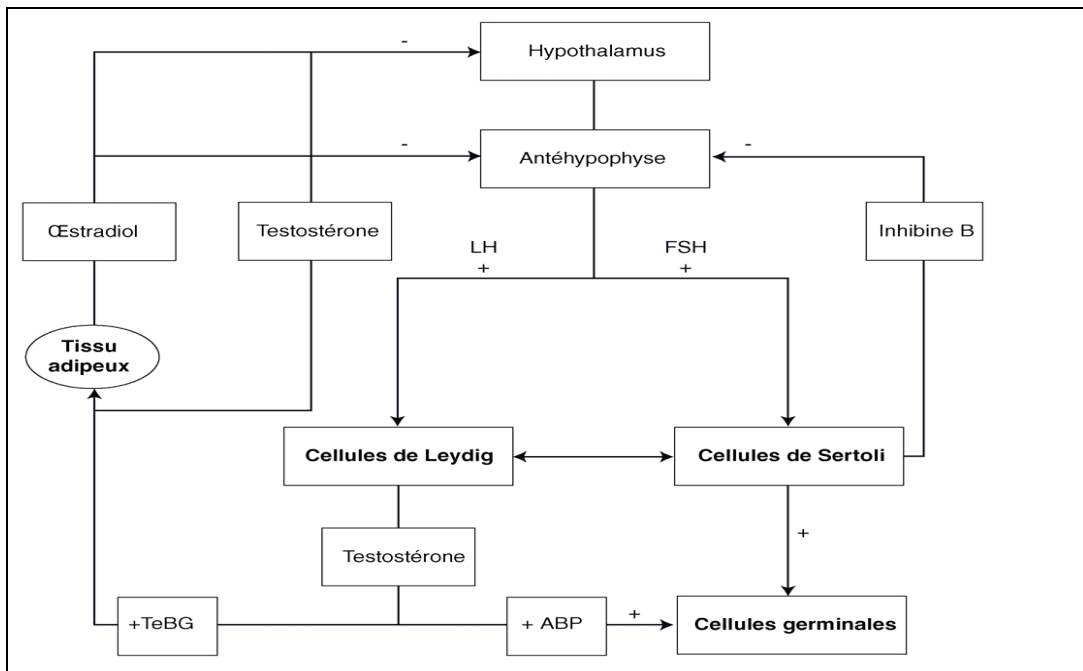


Figure. 5 : Régulation hypothalamohypophysaire schématique des fonctions endocrines et exocrines de l'homme adulte.

LH : luteinizing hormone ; FSH : follicle stimulating hormone ; ABP : androgène binding protein (synthèse sertolienne) ; TeBG : testiculaire binding globuline (synthèse hépatique).

(d'après Schlosser et al., 2007).

III. La Fécondation

La fécondation, processus au cours duquel s'unissent les gamètes mâle et femelle, s'effectue dans l'ampoule de la trompe de Fallope. La survie des spermatozoïdes et de l'ovocyte non fécondé dans les voies génitales féminines est de 24 heures. Au moment de leur pénétration dans le tractus génital féminin, les spermatozoïdes ne sont pas capables de produire la fécondation. Ils doivent subir deux transformations à savoir la capacitation et la réaction acrosomique.

La capacitation consiste en un temps d'adaptation au tractus génital féminin. Elle dure environ sept heures au cours desquelles la membrane plasmique, qui recouvre la zone de l'acrosome du spermatozoïde, s'est débarrassée de son revêtement glycoprotéique ainsi que des protéines du liquide séminal. La pénétration dans la corona radiata et la réaction acrosomique ne seront possibles qu'après capacitation complète.

La réaction acrosomique se produit après fixation sur la membrane pellucide ; elle est induite par les protéines de la membrane. Elle entraîne la libération d'enzymes nécessaires à la pénétration de la membrane, incluant l'acrosine et des substances à effets trypsiniques. La fécondation se fait en trois phases : pénétration de la corona radiata, pénétration de la membrane pellucide et fusion des membranes cellulaires de l'ovocyte et du spermatozoïde.

Les principales conséquences de la fécondation sont la restauration du nombre diploïde de chromosomes, moitié provenant du père, moitié provenant de la mère. Ainsi, le zygote comporte une nouvelle combinaison chromosomique, différente de celle de chacun de ses parents. La détermination du sexe du nouvel individu ; un spermatozoïde X produira un embryon de sexe féminin (XX) ; un spermatozoïde Y produira un embryon du sexe masculin (XY). Ainsi, le sexe chromosomique de l'embryon est déterminé au moment de la fécondation et l'amorce de la segmentation. En l'absence de fécondation, l'ovocyte dégénère en 24 heures après l'ovulation (Cayrouse, 2005).

IV. Définition de l'infertilité

Il faut tout d'abord rappeler que les termes fécondité et fertilité ont des définitions bien précises et différentes. En matière de reproduction humaine, on distingue deux concepts.

Un concept d'aptitude ou potentialité. Un individu fertile est un individu qui a la capacité de concevoir donc la fertilité correspond à une potentialité. A l'inverse l'infertilité ou

stérilité qui est toujours involontaire, ne peut être définie que rétrospectivement, en ce sens le terme « stérilité » correspond à une fertilité nulle donc à une incapacité totale à obtenir un enfant. Sauf cause précise telle les lésions tubaires bilatérales et totales pour la femme et les azoospermies définitives pour les hommes, cela ne peut se juger qu'à la fin de la période de reproduction et il s'agit alors d'un état définitif. On utilise parfois le terme d'hypofertilité pour décrire un couple dont l'aptitude à concevoir n'est pas optimale.

Un concept de résultat ou réalité; l'individu fécond est un individu qui a conçu, la fécondité qui est le fait pour un couple d'avoir déjà au moins un enfant correspond à une réalité auquel on oppose l'infécondité ou l'individu infécond définit par la période durant laquelle un couple n'a pas réussi à obtenir l'enfant qu'il désire de manière volontaire ou involontaire (De Mouzon in Blanc et Porcu, 2002 ; Thonneau et Bujan, 1993 ; Hazard et Perlemuter, 2000). Pour l'Organisation mondiale de la santé, l'infertilité est définie par l'absence involontaire de conception et l'incapacité pour un couple d'obtenir une grossesse après au moins 12 mois de rapports sexuels réguliers et non protégés (Schlosser et *al.*, 2007).

On parle d'infertilité primaire quand il y a absence de grossesse après un minimum d'un an de rapports sexuels réguliers non protégés chez une femme qui n'a jamais eu de grossesse et d'infertilité secondaire s'il y a absence de grossesse après un minimum d'un an de rapports sexuels réguliers non protégés chez une femme qui a déjà eu une ou plusieurs grossesses à terme. (Hazard et Perlemuter, 2000)

V. Définitions et étiologies des différentes anomalies spermatiques

V.1. La normospermie

La normospermie représente le sperme dont les paramètres entrent dans les normes des valeurs de références définies par l'OMS :

- Volume d'éjaculat supérieur à 2 ml
- pH de l'éjaculat supérieur ou égal à 7,2
- Absence d'autoagglutinats de spermatozoïdes dans l'éjaculat.
- Concentration des spermatozoïdes supérieure à 20 millions/ml (>40millions/éjaculat).
- Mobilité suffisante des spermatozoïdes, appréciée en quantité et qualité dans la 1^{re} heure. Suivant l'éjaculat, quatre grades de mobilité sont définis selon OMS :
 - (a) mobilité normale, rapide et progressive
 - (b) mobilité diminuée, lente ou faiblement progressive
 - (c) mouvements sur place, non progressifs

(d) spermatozoïdes immobiles

Le sperme doit contenir au moins 50 % de spermatozoïdes à mobilité progressive (a+ b) ou plus de 25 % à mobilité normale (a)

- Vitalité appréciée par des colorants et doit être supérieure à 75 % à la 1^{re} heure.
- Morphologie des spermatozoïdes qui doit être normale dans plus de 30 % des cas. Pour ce paramètre la classification de David (1975) est la plus utilisée, elle précise le pourcentage, la localisation et le type des anomalies morphologiques des spermatozoïdes (tête, pièce intermédiaire ou flagelle), qu'elles soient isolées ou associées entre elles (Schlosser et *al.*, 2007).

V.2. Anomalies liées aux troubles du coit

Les anomalies liées aux troubles du coit sont caractérisées par l'incapacité de mener à terme un rapport sexuel avec une éjaculation intravaginale due a des troubles de rapport sexuel. On distingue deux cas à savoir :

- L'aspermie ou absence d'éjaculation définit par l'absence totale d'émission de sperme ou d'éjaculât. Les causes sont multiples :
 - Impuissance érectile qui se traduit par l'absence ou l'espacement des rapports sexuels d'origine organique ou psychogène.
 - Anéjaculation soit d'origine neurologique, fréquente chez les paraplégique, soit d'origine psychologique et dans ce cas il n'existe aucune anomalie anatomophysiologique génitale, il s'agit des sujets timides ou introvertis.
 - Ejaculation rétrograde affirmée par la présence de spermatozoïdes dans les urines après un rapport sexuel. Elle est liée a un dysfonctionnement du sphincter lisse de l'urètre entraînant une éjaculation partielle ou totale du sperme dans la vessie. Les causes sont soit d'origine neurologique chez les diabétiques ou chirurgicales; pelvienne (rectale,vésico-prostatique) ou haute lombaire (sympathectomie) (Nazza, 2002 ; Hazard et Perlemuter, 2000 ; Pontonnier et Bujan, 1993).
- L'éjaculation extravaginale due soit à des troubles balistiques tels que, l'éjaculation déviée par hypospadias qui sont des abouchements anormaux de l'urètre a la face inférieur du pénis, le plus souvent prés du gland ou par épispadias qui est l'abouchement du méat urétral sur la face dorsale du pénis. Soit par l'éjaculation précoce : souvent d'origine psychologique (Pontonnier et Bujan, 1993).

V.3. Anomalies liées aux spermatozoïdes et plasma séminal

Les anomalies liées aux spermatozoïdes et plasma séminal répertoriées sont de onze types à savoir :

- L'azoospermie qui se définit comme l'absence de spermatozoïde dans le sperme éjaculé lors de la réalisation d'au moins trois spermogrammes pratiqués dans des conditions optimales : ce diagnostic ne peut être affirmé que si on examine avec attention le culot de centrifugation avant et après coloration pour infirmer la présence de spermatozoïdes (Hamamah et *al.*,1993). on peut distinguer 2 types d'azoospermie :

* *Azoospermie excrétoire ou obstructive* : dans ce cas les spermatozoïdes sont correctement produits au niveau des testicules, mais il existe une obstruction des voies excrétrices siégeant entre les testicules et le carrefour uro-génital de telle sorte que les spermatozoïdes n'atteignent pas l'éjaculat. Les causes sont soit congénitales, soit acquises à savoir chirurgicales, infectieuses ou présence d'une dystrophie (Nazza, 2002).

* *Azoospermie sécrétoire non obstructive* : anomalie due à une spermatogenèse incomplète ou impossible qui est le résultat soit d'un défaut de stimulation du testicule par insuffisance de sécrétion des gonadotrophines, ou une atteinte congénitale ou acquise du testicule. On distingue l'hypogonadisme hypergonadotrophique qui est une atteinte testiculaire dont les causes sont congénitale avec anomalie de caryotype (Syndrome de Klinefelter, hermaphrodisme, syndrome de Sohval), ou congénitale sans anomalie de caryotype (Syndrome de La Chapelle (46 XX), Syndrome Del Castillo, cryptorchidie, Anorchidie) ou encore acquise (Infectieuses, traumatiques ou iatrogènes). Tandis que les causes de l'hypogonadisme hypogonadotrophique peuvent être hypothalamique congénitale (Syndrome de Kallman de morsier, syndrome Prader – willi ou syndrome adiposogénital) ou hypothalamo-hypophysaire acquise (Lésions tumorales, maladies infiltratives, lésions infectieuses, traumatismes chirurgicales ou radiotherapiques ou anomalies de réceptivité aux androgènes) (Nazza, 2002 ; Hazard et Perlemuter, 2000).

- La cryptozoospermie est définie par l'absence de spermatozoïdes observé à l'examen microscopique direct d'une goutte de sperme mais à l'opposé de

l'azoospermie, une recherche approfondie permet d'en retrouver quelques uns (moins de 100 000 spermatozoïdes dans la totalité de l'éjaculat).

➤ L'oligozoospermie se définit par la diminution de nombre de spermatozoïdes dans l'éjaculat. Les oligozoospermies inférieures à 1 million de spermatozoïdes peuvent être rattachées aux azoospermies et explorées de la même façon que celles-ci. L'oligozoospermie est rarement isolée et souvent associée avec une asthénozoospermie et/ou une tératozoospermie (Barthélemy et Hammamah, 1997). Selon la concentration des spermatozoïdes on distingue :

* Oligozoospermie modère de 5 à 20 million /ml

* Oligozoospermie sévère de 2 à 5 million /ml

* Oligozoospermie extrême moins de 2 million /ml (Schlosser et al., 2007).

Cette oligozoospermie peut avoir plusieurs étiologies ; origine testiculaire sécrétoire ou excrétoire (obstruction unilatérale sur le tractus). Un problème d'éjaculation (incomplète ou rétrograde), la présence de bactéries d'infection ou d'inflammation du tractus accompagnée ou non de leucospermie, la présence d'auto-anticorps dans le plasma séminal ou sur la membrane plasmique des spermatozoïdes (Barthélemy et Hammamah, 1997) ou encore une varicocèle qui correspond à un élargissement du cordon du réseau veineux du plexus panpiniforme du cordon spermatique surtout fréquente à gauche, avec l'arrêt de la spermatogénèse due à une anomalie de la spermiogénèse liée à une augmentation de la température scrotale que la stase veineuse induit au niveau des testicules. Elle est retrouvée chez 40% des hommes infertiles (Hazard et Perlemuter, 2000).

➤ L'asthénozoospermie se caractérise par une chute de la mobilité des spermatozoïdes à moins de 50 % une heure après l'éjaculation ou une mobilité des spermatozoïdes fléchants inférieure à 25 % ou encore et moins de 30 % de spermatozoïdes mobiles 3 heures après l'éjaculation (Auger et Jouannet, 1993). Une mobilité est considérée comme normale au-delà de 50 %. Certains auteurs distinguent entre l'*asthénozoospermie primaire* quand à la première heures après l'éjaculation moins de 50 % de spermatozoïdes sont mobiles ou dans le cas d'une mobilité de spermatozoïdes fléchants inférieure à 25 % et l'*asthénozoospermie secondaire* quand à la quatrième heure après éjaculation il y a chute de mobilité supérieure à 50 % comparativement à la première heure (Marmor, 2007).

L'asthénospermie est due soit à un phénomène infectieux et/ou une absence de fructose, une auto-immunisation par anticorps, ou encore à une anomalie de plasma

séminal, notamment une hyperviscosité due à des troubles de la liquéfaction (Barthélemy et Hammamah, 1997).

- L'akinetospermie par contre consiste en la présence dans le sperme que de spermatozoïdes immobiles mais vivants. Elle est due à syndrome de dyskinésie ciliaire anomalie congénitales des structures flagellaires de l'axonème ou des structures péri-axonémales mise en évidence par l'étude ultrastructurale du flagelle du spermatozoïde ou une présence de spermatozoïdes immatures (testiculaires ou épидидymaires) (Hammamah., et *al* 1993 ; Marmor, 2007).
- La polyzoospermie représente une numération de spermatozoïdes supérieure à 250 millions/ml, le mécanisme de production est obscure, mais on la rencontre chez des sujets a longue abstinence sexuelle (Schlosser et *al.*, 2007).
- La necrospermie se définit par la baisse de vitalité des spermatozoïdes souvent liée à un problème infectieux ou oxydatif (Schlosser et *al.*, 2007 ; Marmor, 2007).
- La tératospermie est caractérisée par un taux de moins de 50 % ou moins de 30 % pour certains auteurs et l' O.M.S, de spermatozoïdes morphologiquement normaux (Schlosser et *al.*, 2007).
- L'hypospermie on parle d'hypospermie ou d'hypovolémie spermatique lorsque le volume est abaissé à une valeur inférieure à 2 ml sur au moins deux voire trois spermogrammes successifs réalisés dans des conditions optimales de recueil et d'analyse.
L'hypospermie peut être isolée ou associée à d'autres anomalies spermatiques tel que l'oligozoospermie, l'asthénozoospermie, la tératozoospermie et l'azoospermie. Les causes de ce type d'anomalies sont multiples et peuvent être dues à un dysfonctionnement du réflexe éjaculatoire souvent associé à des pathologies neurologiques, iatrogénie chirurgicale ou médicamenteuses ou à des anomalies anatomiques et/ou fonctionnelles des voies et glandes génitales d'origine endocrinienne, embryonnaire, mutationnelle ou autres anomalies anatomiques urogénitales (Robin et *al.*, 2008).
- L'hyperspermie consiste à un volume total de l'éjaculât supérieur à 6 ml. Elle évoque la présence de lésions infectieuses des glandes annexes et en particulier les vésicules séminales. Elle peut être due aussi à une abstinence sexuelle trop longue (Marmor, 2007).
- L'autoimmunisation anti-spermatozoïde se caractérise par la présence d'anticorps antispermatozoïdes L'immunité anti-sperme peut être un facteur d'infertilité

masculine, mais très souvent il n'y a pas d'antécédents pathologiques ni d'anomalies à l'examen génital et seule l'agglutination spontanée des spermatozoïdes dans l'éjaculat évoque une auto-immunisation anti-sperme. L'évaluation du facteur immunologique masculin doit être commencée seulement lorsque les autres facteurs ont été exclus.

L'auto-immunisation peut s'expliquer par le concept d'antigène « exclu ». En effet, les marqueurs antigéniques spécifiques des spermatozoïdes n'apparaissent chez l'homme qu'au moment de la puberté, bien longtemps après le développement de la tolérance à l'égard des "self-antigènes"(Haas et Beer, 1986 in Frydeman, 1994). Les spermatozoïdes sont protégés de l'intervention du système immunitaire par la barrière hémotesticulaire, la rupture de cette barrière, qui entraîne le passage de cellules immunocompétentes vers le tractus séminifère et/ou la transudation d'antigènes spermatiques vers le tissu interstitiel, est rendue responsable des auto-immunisations observées devant toute situation pathologique permettant le passage des antigènes spermatiques dans la circulation et leur mise en contact avec les cellules immunocompétentes. Les anticorps anti-sperme présents chez les hommes et chez les femmes peuvent être de la classe d'IgG, d'IgA ou d'IgM (Kremer, 1992 ; Hjort, 1992 in Frydeman., 1994).

Le facteur déclenchant l'auto-immunisation peut être un traumatisme chirurgical, des anomalies congénitales avec régression unilatérale ou bilatérale (complète ou partielle) du ductu(s) de Wolffian, des antécédents d'infection du tractus génital ou d'autres facteurs tel que les torsions, biopsie d'étude, malignité (Frydeman, 1994).

- La leucospermie est la source d'infertilité chez 5 à 10% des patients. Elle peut être révélatrice soit d'une infection infra-clinique potentiellement à traiter, soit des séquelles de celle-ci. Les leucocytes ont surtout une valeur indicative. Leur présence doit faire soupçonner une infection mais aussi un processus inflammatoire (lithiase prostatique, séquelle d'infection, abstinence trop longue) (Barthélemy et Hammamah., 1997). La leucospermie ne doit être prise en considération que lorsqu'elle dépasse 1 million leucocytes/ml. Il n'a pourtant jamais été démontré que ce seuil soit significatif (Wolf, 2001). De nombreux germes peuvent être en cause : Gram- ,Gram+ et mycoplasmes. Il faut rechercher une cause favorisante tel que les maladies sexuellement transmissibles, foyer urogénital ou antécédent de sondage urinaire (Pontonnier et Bujan, 1993).

- L'hémospérmié est la présence du sang dans le sperme, souvent due a des causes organiques tel que les infections, les traumatismes et les malformations ou idiopathiques dans 33% des cas. Sa cause est généralement bénigne (Hammamah et *al.*, 1993).

V.4. Infertilités idiopathiques

Dans 5 à 10% des cas, aucune cause n'est retrouvée pour expliquer l'infertilité du couple. On peut alors avoir recours a des investigations spécialisées, telles que l'étude des spermatozoïdes en microscopie électronique ou l'analyse de leurs mouvements en microvideo, mais le plus souvent on recours à la fécondation in vitro qui permet de vérifier le pouvoir fécondant du sperme tout en ayant une valeur thérapeutique (Hazard et Perlemuter, 2000).

V.5. Les facteurs de risques

Les facteurs de risques peuvent être d'ordre environnemental et /ou médicamenteux. Les facteurs de risques d'ordre environnemental (Tab. 1) sont liés essentiellement à la pollution et aux expositions professionnelles. D'une manière générale, la spermatogénèse est très sensible à l'environnement mais, sauf dans les lésions irréversibles des lignées germinales, elle semble posséder d'importantes capacités de récupération. Ainsi l'augmentation artificielle, prolongée et modérée de la température scrotale entraîne des anomalies puis un arrêt de la spermatogénèse. De nombreux produits, utilisés en milieu agro-alimentaire et industriel, semble jouer un rôle néfaste sur les fonctions de la reproduction masculine. Malheureusement il s'agit des expositions multifactorielles ou il est difficile de faire la part respective de chaque facteur. Le tableau 1 énumère les principaux produits actuellement incriminés, substances que l'on doit considérer comme des facteurs de risque reconnu ou suspecte d'infertilité masculine. Bien évidemment cette liste n'est pas exhaustive et il convient toujours pour, un praticien examinant un couple infécond, de s'enquérir de façon méthodique et précise des conditions de travail de l'homme et la femme (Thonneau et Bujan, 1993).

Tableau. 1 : Facteurs de risque environnementaux d'infécondité masculine.
(d'après Thonneau et Bujan, 1993)

Métaux lourds	Plomb Cadmium Manganèse Mercure Composés chromés
Produit chimiques	Dibromochloropropane Dibromoéthane Epichlorohydrine Polybromodiphenyles Diaminotoluène Acide paraerliobutylbenzoïque Hydrocarbures Formaldéhydes Éthers de glycol Carbamates Sulfure de carbone Acide borique benzanthrone

En ce qui concerne les facteurs de risques liés aux médicaments , il est reconnu que l'axe hypothalamohypophysaire qui induit et entretient la spermatogénèse est particulièrement sensible à l'effet freinateur de nombreux médicaments (Tab. 2) (Schlosser et *al.*, 2007).

Tableau. 2 : Causes médicamenteuses d'infertilité masculine avec leurs mécanismes.
(Schlosser et al., 2007)

Classe médicamenteuse	Toxicité gonadique	Freinateur de l'axe hypothalamo-hypophysaire	Baisse de libido	Dysérection	Troubles de l'éjaculation	Fertilisant (spermatozoïdes)
Antihypertenseurs						
thiazidiques				+		
Spiro lactone		+	+	+		
propranolol			+	+		
Inhibiteurs calciques						+
α- Méthyl dopa					+	
Psychotropes						
Neuroleptiques		+	+	+		
Antidépresseurs tricycliques		+	+	+		
Antidépresseurs		+	+	+	+	
Antisérotoninergiques						
Inhibiteur monoamine oxydase				+	+	
Sels de Lithium			+	+		
Chimiothérapie						
Alkylants, poisons du fuseau mitotique, antimotabolites	+					
Hormones						
Anobolisants stéroïdes	+	+		+		
Testostérone		+		+		
Antiandrogènes		+	+	+		
Oestrogènes		+	+	+		
Corticoides à haute dose		+	+	+		
Antibiotiques						
Nitrofurantoïne	+	+				
Erythromycine	+					
Tétracyclines						+
Gentamicine	+					
Divers						
Cimétidine		+	+	+		
Colchicine						+
Allopurinol						+
Sulfazaline	+	+				
Métoclopramide	+	+	+	+		
Drogues						
Alcoolisme chronique	+	+	+	+		
Tabagisme	+					
Marijuana	+					
Opiacés		+	+			
cocaïne				+		

VI. Bilan clinique de l'infertilité masculine

L'interrogatoire du couple, l'examen clinique et le spermogramme sont les éléments incontournables du bilan de l'infertilité masculine (Guerin, 2001). L'analyse biologique des spermatozoïdes et du liquide séminal est une étape clé de l'évaluation de la fertilité masculine. Elle permet d'apprécier l'ensemble des événements qui se sont produits dans l'appareil génital masculin depuis le démarrage de la spermatogénèse jusqu'à l'éjaculation, et oriente des examens complémentaires plus spécifiques portant sur l'appréciation des différentes fonctions du spermatozoïde, impliquées dans la traversée des voies génitales féminines et dans les différentes étapes de la fécondation (Grizard et Jiminez, 1997). Les examens permettent d'identifier une ou plusieurs causes d'infertilité, traitées dans la mesure du possible de manière spécifique. Dans le cas contraire, les éléments pronostiques fournis par le bilan permettent de choisir la technique adéquate d'aide médicale à la procréation.

VI.1. Interrogatoire

L'interrogatoire doit être méthodique, éventuellement structuré par l'utilisation d'un questionnaire-type, pour identifier tous les facteurs potentiels d'infertilité. Il précise tout d'abord la nature de l'infertilité primaire ou secondaire en cas de paternité antérieure, sa durée, l'âge de la partenaire et les résultats des explorations et traitements déjà réalisés. Les conditions et la qualité de la sexualité du couple doivent également être étudiées à savoir le contexte psychologique et social, fréquence des rapports sexuels au moment de l'ovulation, présence ou non de troubles érectiles et/ou éjaculatoires, utilisation de lubrifiants potentiellement toxiques pour les spermatozoïdes (Schlosser et *al.*, 2006). Les antécédents du patient pourront apporter des éléments précieux d'orientation ; on recherchera en particulier les antécédents de cryptorchidie, les anomalies du développement pubertaire, les antécédents de traumatisme scrotal, torsion du testicule, chirurgie de hernies inguinales, la notion d'infections génito-urinaires et de maladies sexuellement transmissibles. Les prises médicamenteuses passées et actuelles peuvent modifier la libido, l'éjaculation et la spermatogénèse de manière plus ou moins définitive. Enfin, certaines expositions professionnelles ou toxiques environnementales (tabagisme, intoxication éthylique chronique, exposition à la chaleur, drogues, etc.) sont à risque pour la fertilité masculine (Guerin, 2001).

VI.2. Examen clinique

L'examen clinique est une étape importante du bilan étiologique. On en tire souvent des renseignements permettant d'orienter et d'interpréter les examens complémentaires. L'examen doit évaluer tout l'appareil génital ; verge, testicule, épididyme, déférent, prostate, il comprend en particulier :

- la recherche des signes de carence androgénique et de dysfonction endocrinienne (répartition gynoïde des graisses, raréfaction de la pilosité pubienne et thoracique, gynécomastie, galactorrhée), ainsi que les cicatrices chirurgicales abdominales et inguinales.
- La recherche d'une varicocèle, presque exclusivement gauche, se réalise sur le patient couché puis debout, avec une manoeuvre de Valsalva. Les petites varicocèles (grade I) ne sont palpées que debout, alors que les varicocèles de grade II sont spontanément palpables, celles de grade III visibles sous la forme d'une dilatation du scrotum.
- la mesure du volume testiculaire à l'aide d'un « orchidomètre », une diminution de volume indique toujours un trouble de la spermatogenèse, d'autant plus sévère que l'hypotrophie est importante. Un testicule est dit hypotrophique pour un volume compris entre 6 et 15 ml, atrophique en deçà de 6 ml.
- la palpation de l'épididyme et du canal déférent, bilatérale, qui recherchera en particulier des lésions inflammatoires, nodulaires ou plus étendues. En cas d'azoospermie, on tentera de préciser s'il s'agit d'une obstruction acquise ou d'une agénésie uni- ou bilatérale de déférents et a fortiori de la queue de l'épididyme qui évoque d'emblée une malformation congénitale liée au gène CFTR

l'examen de la prostate au toucher rectal doit être systématique ; une petite prostate peut être due à un déficit androgénique, une induration ou des douleurs à une prostatite chronique (Guerin, 2001 ; Schlosser et *al.*, 2006).

VI.3. Bilan de première intention non orienté

➤ Le spermogramme

Le spermogramme tient la première place dans le bilan d'infertilité du couple et permet d'orienter vers une origine masculine à cette infertilité (Guerin, 2001). Mais cet examen doit être interprété de façon critique. En effet, l'extrême variabilité des paramètres, à la fois inter et intra individuelle, rend difficile l'établissement de critères précis de normalité. Pour un individu donné, les caractéristiques du sperme sont susceptibles d'être influencées par les conditions du recueil, le délai d'abstinence et toute affection étant survenue dans les 3 mois précédant l'examen, comme un simple épisode grippal (Elhamzaoui et Dikoumba, 2005 ; Guerin, 2001). En dehors de l'azoospermie confirmée au moins sur trois prélèvements, il n'est pas possible de conclure de façon définitive quant à la fertilité ou la stérilité d'un patient. Il apparaît ainsi hasardeux de tirer des conclusions définitives sur la base d'un seul examen et il est impératif de le renouveler, quelles que soient les conclusions initiales (Elhamzaoui et Dikoumba, 2005 ; Grizard et Jiminez, 1997 ; Guerin, 2001).

Les critères de normalités établies par l'OMS sont seulement indicatifs pour évaluer le degré de fertilité. Ils ne sont pas des seuils de « normalité », car des grossesses spontanées peuvent être obtenues avec des valeurs inférieures. Pour cela elles font l'objet de réactualisations régulières, ce qui témoigne bien du caractère non absolu de ces normes. Celles-ci présentent l'avantage d'imposer, en principe, un langage commun à tous les praticiens concernés pour définir les caractéristiques d'un sperme. Ainsi, on parlera d'oligozoospermie lorsque la numération est inférieure à 20 millions/ml, mais plusieurs études prospectives récentes indiquent que ce n'est qu'en dessous de 5 millions/ml, que la fécondité chute significativement (Guerin, 2001).

• Recueil du sperme

Les conditions de recueil doivent être soigneusement contrôlées. Il est préférable que le recueil s'effectue au laboratoire, ceci pour éviter au maximum l'influence de facteurs extérieurs pouvant perturber certains paramètres spermatiques. Les artefacts liés au transport par exemple, une température trop basse pendant le transport peut entraîner une chute de la mobilité (Grizard et Jiminez, 1997 ; Schlosser et *al.*, 2006).

L'éjaculat est obtenu par masturbation et émis dans un récipient ayant une ouverture suffisamment large pour éviter les pertes au moment du recueil. Un délai d'abstinence

sexuelle de 3 à 5 jours avant l'examen est conseillé. Si cette durée n'est pas respectée, il est important de connaître le délai exact pour interpréter les résultats puisqu'il s'agit d'un facteur de variation important, notamment en ce qui concerne le volume et le nombre de spermatozoïdes (Grizard et Jiminez, 1997).

- **Les paramètres du spermogramme**

- Immédiatement après liquéfaction du sperme, on doit noter tout aspect anormal, tel que hémospemie, viscosité forte ou liquéfaction prolongée (Grizard et Jiminez, 1997).

- Le pH du sperme est normalement compris entre 7,4 et 8,0. Des valeurs trop faibles peuvent être le reflet d'un défaut de sécrétion des vésicules séminales (normalement alcalines) alors qu'un pH nettement alcalin peut révéler une insuffisance des sécrétions prostatiques (normalement légèrement acides) (Grizard et Jiminez, 1997).

- Le volume traduit essentiellement les capacités sécrétoires des glandes annexes. Une hyperspermie (volume > 6 ml) est généralement le témoin d'une hypersécrétion des vésicules séminales qui normalement forment l'essentiel du volume de l'éjaculat et ne doit pas être considérée comme pathologique. Par contre, lorsqu'il n'existe pas de problème lié au recueil (perte d'une fraction de l'éjaculat), l'hypospermie (volume < 2 ml) peut s'expliquer soit par un trouble de l'éjaculation, soit par une insuffisance sécrétoire de l'une des glandes annexes pouvant être liée à une infection (prostatite, vésiculite) ou à l'absence même de vésicules séminales (Grizard et Jiminez, 1997).

- Le nombre de spermatozoïdes est exprimé en concentration (millions/ml). Si aucun spermatozoïde n'est observé par la technique classique, il est nécessaire de rechercher les spermatozoïdes dans le culot de centrifugation du sperme, avant de conclure ou non à une azoospermie (Grizard et Jiminez, 1997).

- La mobilité appréciée au microscope optique est exprimée en pourcentage de spermatozoïdes mobiles. Une évaluation qualitative est réalisée de façon subjective en différenciant les spermatozoïdes se déplaçant suivant une trajectoire sensiblement linéaire de ceux mobiles sur place ou ne progressant que très faiblement. L'examen est réalisé dans l'heure qui suit la liquéfaction avec un suivi de 4 heures. Des systèmes d'analyse vidéomicrographique assistée par ordinateur (système CASA) permettent une mesure automatique objective. Ils ne doivent pas a priori remplacer le spermogramme

classique mais permettent de mettre en évidence certaines anomalies du mouvement non décelables par l'observation simple (Grizard et Jiminez, 1997).

- La vitalité reflète le pourcentage de spermatozoïdes vivants, elle trouve son intérêt dans les cas où la mobilité est faible (Grizard et Jiminez, 1997). La révélation se fait par le test Coloration vitale basé sur le principe que les cellules mortes ayant des membranes lésées laissent pénétrer certains colorants et le test hypo osmotique "HOS test" qui permet d'étudier l'intégrité physique et fonctionnelle de la membrane cellulaire du spermatozoïde (Auger et Jouannet, 1993). Il est utilisé en ICSI pour distinguer parmi les spermatozoïdes immobiles, ceux vivants et ceux qui sont morts (Schlosser et *al.*, 2006).

- Les cellules épithéliales de l'urètre, les cellules germinales immatures et les leucocytes sont regroupés sous ce terme de «cellules rondes». Dans les cas où ce nombre est élevé, les polynucléaires, témoins d'un foyer infectieux, doivent être précisément recherchés en utilisant des colorations spécifiques basées le plus souvent sur la révélation histochimique de la peroxydase (Grizard et Jiminez, 1997). La coloration de Bryan-Leishman est particulièrement utile pour identifier les cellules germinales immatures et pour les distinguer des leucocytes (Sekhsokh et *al.*, 2001).

- L'agglutination est appréciée au microscope est évoque une cause immunologique. Le degré d'agglutination peut être important, ou présence de nombre réduit de petits agglutinats doit être noté ainsi que le type d'agglutination par exemple, agglutination par la tête, par la pièce intermédiaire ou par le flagelle ou encore mixte (Auger et Jouannet, 1993).

➤ **Le spermocytogramme**

Il consiste à rechercher les atypies morphologiques des spermatozoïdes en microscopie optique sur un frottis après fixation et coloration de Schorr ou de Papanicolaou. Une classification à entrées multiples est nécessaire pour tenir compte de l'existence de plusieurs anomalies sur le même spermatozoïde (David et *al.*, 1975 in Barthélemy et Hamamah, 1997). La plupart des laboratoires utilisent la classification française de David qui répartit les anomalies en 13 groupes différents dont 7 anomalies de la tête, 2 anomalies de la pièce intermédiaire et 4 anomalies flagellaires. Le nombre moyen d'anomalies par spermatozoïde peut être évalué en calculant l'index d'anomalies multiples (IAM). La valeur prédictive de ce paramètre a été démontrée; au-dessus d'une

valeur seuil de 1,6, les chances de survenue d'une grossesse dans les trois ans sont réduites (Grizard et Jiminez, 1997).

VI.4. Examens complémentaires de seconde intention ou orientés

➤ Tests Interaction glaire-sperme

Le comportement des spermatozoïdes dans la glaire cervicale peut être apprécié soit in vivo par le test postcoïtal (TPC) ou test de Huhner, soit in vitro par le test de pénétration croisé.

- Le test post-coïtal (TPC) ou test de Huhner n'est pas réalisé systématiquement et n'a de signification qu'en cas de spermogramme normal. C'est un test simple mais dont les conditions de réalisation doivent être rigoureuses. Il consiste à apprécier, idéalement de 8 à 12 heures après un rapport sexuel, la qualité de la glaire (abondance, filance, transparence, cristallisation), le degré de dilatation du col il permet aussi d'évaluer la qualité de pénétration des spermatozoïdes et leur survie dans l'environnement de la glaire et la possibilité de dysfonctionnement sexuel (troubles érectiles ou éjaculatoires) non évoqués lors de l'interrogatoire du couple (Schlosser et *al.*, 2006 ; Grizard et Jiminez, 1997).

Il doit être réalisé en période ovulatoire immédiate ou sous glaire optimisée par la prise d'oestrogènes, après une abstinence sexuelle de 3 jours.

L'interprétation reste très subjective, elle prend en compte le nombre moyen de spermatozoïdes à mobilité progressive par champ. Le test est considéré comme positif si la glaire est normale et s'il y a au moins cinq spermatozoïdes à mobilité progressive par champ ($\times 400$). Si le test est positif il fournit un pronostic favorable et s'il se révèle négatif ou de mauvaise qualité (spermatozoïdes absents ou peu nombreux, immobiles) il doit être répété et ne pas être considéré comme un test d'infertilité mais comme un examen d'orientation. Ce test demeure encore critiqué par son manque de standardisation et sa difficulté d'interprétation (Schlosser et *al.*, 2006 ; Barthélemy et Hamamah, 1997).

- Les tests de pénétration croisé (interaction sperme-mucus) in vitro consiste à mettre en contact une goutte de sperme et de mucus cervical entre lame et lamelle et en tube

(Kremer ou test croisé) où une extrémité d'un tube capillaire rempli de mucus cervical prélevé en période préovulatoire est placé au contact d'un sperme liquéfié. Si le test s'avère normal, il peut être complété par le test croisé qui est réalisé avec des spermatozoïdes et des mucus témoins pour déterminer la part relative de chaque partenaire dans l'infertilité et éviter les fausses interprétations (Barthélemy et Hamamah, 1997).

L'interprétation du test tient compte de la pénétration des spermatozoïdes, de leur mobilité après 1h et 4h de contact et de leur orientation dans la glaire. Si le test est de mauvaise qualité (pénétration très faible ou absente, immobilisation des spermatozoïdes dans la glaire), la part relative des facteurs masculins et féminins pourra être évaluée en prenant en compte les résultats obtenus avec le sperme et la glaire témoins (Grizard et Jiminez, 1997).

Si un tel test conduit à un déficit fonctionnel des spermatozoïdes, une recherche d'anticorps antispermatozoïdes dans le sperme et/ou dans le mucus cervical sera recommandée.

➤ **Recherche d'une éjaculation rétrograde**

La recherche d'une éjaculation rétrograde se fait par la recherche de spermatozoïdes dans les urines. Cet examen réalisé sur des urines alcalinisées différencie l'anéjaculation de l'éjaculation rétrograde complète en cas d'aspermie. L'éjaculation rétrograde partielle est suspectée dans le cas d'un très faible volume d'éjaculat (hypospermie) dans un contexte clinique évocateur (neuropathie diabétique, intervention chirurgicale pelvienne, etc) ou si le nombre de spermatozoïdes retrouvés dans les urines est supérieur à celui de l'éjaculat (Schlosser et *al.*, 2006 ; Barthélemy et Hamamah, 1997).

➤ **Recherche des anticorps anti-spermatozoïdes**

Des anticorps dirigés contre le spermatozoïde peuvent être présents dans le sang périphérique et/ou dans le tractus génital. Dans le sperme, ils peuvent se trouver à l'état libre dans le liquide séminal et/ou liés aux antigènes de surface sur les spermatozoïdes (Grizard et Jiminez, 1997). L'auto-immunisation est recherchée en cas d'autoagglutinats spontanés du sperme, d'asthénozoospermie, de nécrozoospermie, de stérilité inexpliquée, de test post coïtal négatif ou de mauvaise qualité, d'antécédents de chirurgie urogénitale, d'obstruction congénitale ou acquise, d'infection ou inflammation

génitale, d'échec de fécondation in vitro. (Schlosser et *al.*, 2006). Les deux méthodes les plus couramment employées pour le dépistage des anticorps fixés sur les spermatozoïdes sont :

- La fixation d'immunobilles ou "immunoglobulin binding test" (IBT) qui est une méthode très spécifique et reproductible utilisant des microbilles de polyacrylamide couplées à des anticorps anti-IgA ou anti-IgG. Cette méthode apparaît néanmoins beaucoup plus sensible et spécifique que les techniques d'agglutination et d'immobilisation, tout en étant corrélée à la clinique. Elle différencie le type d'immunoglobulines (A, G ou M) de surface et la partie du spermatozoïde recouverte par les anticorps (Clarke et *al.*, 1985 in Frydeman, 1994).

- Le test d'agglutination mixte anti-immunoglobuline (MAR test) où des globules rouges humains rhésus positif, sensibilisés avec une IgG humaine anti-Rh, sont mélangés avec le sperme à étudier et avec un antisérum de lapin. Dans le cas où il existe des anticorps spécifiques fixés sur les spermatozoïdes; il se forme des agglutinats mixtes, globules rouges-spermatozoïdes, les antiglobulines de lapin servant de pontage. Ce test est très sensible, permet le dépistage de l'auto-immunisation de surface (Jager et *al.*, 1978 in Frydeman., 1994).

Le rôle de l'auto-immunisation dans l'infertilité est probable si plus de 40 % des spermatozoïdes mobiles sont recouverts d'anti-corps sur au moins un échantillon (Schlosser et *al.*, 2006). La présence d'anticorps de type IgA serait de plus mauvais pronostic que celle de la catégorie IgG (Grizard et Jiminez, 1997). Les anticorps antispermatozoïdes cytotoxiques sériques peut être également présente entraînant souvent une asthénozoospermie associée quelquefois à une nécrozoospermie, mais surtout interfèrent avec le transport transcervical ou la migration des spermatozoïdes et/ou compromettent l'interaction avec la zone pellucide de l'ovocyte.

Le facteur limitant la réalisation de ces deux tests est le nombre de spermatozoïdes mobiles dans l'éjaculat dans ce cas le titrage d'anticorps dans le sérum et le liquide séminal doit être envisagé et peut alors être réalisé par le test de fixation d'immunobilles, mais présente moins d'intérêt pour le pronostic de l'infertilité masculine (Schlosser et *al.*, 2006).

➤ **Spermoculture**

La spermoculture doit être demandée en cas, de leucospermie (>1 million de leucocytes/ml, en particulier des polynucléaires), de pH basique, d'hyperspermie d'asthéo-térato-zoospermie. De même, un contexte clinique évocateur d'une infection uro-génitale doit conduire à la prescription d'une spermoculture par recherche complète de germes (germes aérobies, mycoplasmes, exceptionnellement germes anaérobies, clamydiae, gonocoque...) (Schlosser et *al.*, 2006 ; Guerin, 2001 ; Grizard et Jiminez, 1997). La spermoculture est de réalisation et d'interprétation délicates. L'examen nécessite un lavage des mains, de la verge et du prépuce, ainsi qu'une miction avant le recueil dans un récipient stérile (Schlosser et *al.*, 2006), des germes peuvent être introduits au cours de ce recueil, qui vont faussement positiver la spermoculture. Il est donc très important que le bactériologiste puisse faire la distinction entre germes dits de contamination externe et endogène. D'autre part, une spermoculture négative ne signe pas de manière absolue l'absence d'infection (Guerin, 2001). Le seuil de positivité est variable, une spermoculture peut être considérée comme positive pour une concentration comprise entre 10^3 et 10^4 germes/ml, associée à une leucospermie et/ou en présence de germes pathogènes spécifiques quelle que soit leur concentration (Grizard et Jiminez, 1997). Cet examen peut être complété par la recherche de Chlamydiae urinaires ou spermatiques par PCR (polymerase chain reaction) (Schlosser et *al.*, 2006)..

➤ **Biochimie du liquide séminal**

Des marqueurs biochimiques spécifiques peuvent être dosés dans le liquide séminal pour apprécier la contribution des différentes glandes dans la formation de l'éjaculat. Les plus couramment mesurés sont l'alpha glucosidase et la L-carnitine pour l'épididyme, l'acide citrique, les phosphatases acides ou le zinc pour la prostate et le fructose pour les vésicules séminales (Tab. 3).

Tableau. 3 : Marqueurs de chaque compartiment et leur concentrations.
(d'après Cohen-Bacrie et *al.*, 2002)

Compartiment	marqueur	concentration
Vésicules séminales	Fructose	4,7 – 20 µM/ml
Prostate	Phosphatase acide	7,5 – 40,5 .10 ³ U/ml
	Citrate	10 ;9 – 39 µM/ml
Epididyme	Carnitine libre	100 – 455 mM/ml
	alphaglucosidase	>50 UI/éjaculat

La mesure de ces marqueurs apporte des renseignements importants dans les azoospermies puisqu'elle permet dans certains cas d'en préciser l'origine sécrétoire ou excrétoire et éventuellement de localiser le niveau de l'occlusion. C'est ainsi que la réduction des taux d'alpha glucosidase ou de carnitine traduit une occlusion au niveau de l'épididyme. Une baisse du fructose associée à un pH acide est le signe d'une agénésie des vésicules séminales ou d'une obstruction des canaux éjaculateurs. Une chute des taux des marqueurs épидидymaires avec absence de fructose le plus souvent associée à de fortes concentrations de marqueurs prostatiques est caractéristique d'une agénésie épидидymo-déférentielle. En dehors des azoospermies, ces marqueurs spécifiques permettent aussi d'apprécier l'activité fonctionnelle des différentes glandes et peuvent participer au diagnostic d'un processus inflammatoire (Grizard et Jiminez, 1997).

➤ **Bilan endocrinien**

Le bilan endocrinien est réalisé en cas d'azoospermie ou d'oligoasthénozoospermie sévère (< 5 millions/ml), de troubles érectiles avec baisse de la libido ou de signes cliniques d'endocrinopathie. Les dosages de la testostéronémie matinale et de la (FSH) plasmatique permettent de classer en première intention les oligozoospermies et les azoospermies en hypogonadotrophiques (diminution de la FSH, diminution de la testostérone), normogonadotrophiques et hypergonadotrophiques (augmentation de la FSH, diminution de la testostérone) (Schlosser et *al.*, 2006). Une azoospermie ou une oligozoospermie très sévère, avec FSH élevée, signe une altération grave de la lignée germinale (observation d'une hypotrophie testiculaire à l'examen clinique). Il existe néanmoins certaines situations « pièges » où la spermatogénèse est très perturbée en dépit

d'une valeur normale ou à peine augmentée de la FSH. Il s'agit en général d'un blocage au stade méiotique (Guerin, 2001).

Les dosages de (LH) et de la prolactinémie sont indiqués en cas de baisse de la testostéronémie avec une FSH normale ou diminuée. Elle fait rechercher une cause médicamenteuse, une hypothyroïdie et une anomalie morphologique de l'axe pituitaire. Le dosage de l'inhibine B, corrélé à la spermatogenèse intratesticulaire, a essentiellement une valeur pronostique avant biopsie testiculaire pour évaluer les possibilités d'extraction de spermatozoïdes (Schlosser et *al.*, 2006).

Le dosage de la testostérone explore la fonction endocrine du testicule. Une diminution conjointe de la testostérone et des gonadotrophines, (FSH et LH) est en faveur d'une insuffisance gonadotrope (l'hypogonadisme, avec impubérisme ou de troubles de la virilisation.). Une diminution de la testostérone avec augmentation des gonadotrophines signe une résistance périphérique aux gonadotrophines (Guerin, 2001).

L'androgénorésistance par anomalie du récepteur aux androgènes se traduit par une augmentation de l'oestradiolémie, régulant négativement la LH et la testostéronémie. L'androgénorésistance par mutation de la 5 α -réductase associe une élévation modérée de la testostéronémie à une ambiguïté sexuelle (Schlosser et *al.*, 2006) .

➤ **Bilan génétique**

L'intérêt du bilan génétique est diagnostique mais également pronostique. Ce dernier permet d'établir un conseil génétique, lorsqu'on envisage une ICSI (Schlosser et *al.*, 2006).

Dans un premier temps, on demandera la réalisation d'un caryotype sur leucocytes périphériques (Demoulin, 2003), Il est indiqué en cas d'oligozoospermie sévère (< 10 millions/ml) ou de signes cliniques évoquant une anomalie chromosomique. Le caryotype est en général normal en cas d'altérations peu sévères de la spermatogénèse (>99% des cas). En revanche, on trouve des anomalies du caryotype dans 20% des cas d'azoospermie sécrétoire et dans 5 à 6% des cas d'oligozoospermie moyenne ou sévère (<10 millions/ml) (Guerin., 2001). Les caryotypes anormaux les plus fréquents sont le syndrome de Klinefelter (47, XXY) dans 7 à 13 % des azoospermies, le syndrome du double Y (47, XYY) et les anomalies de structure dont la plus fréquente est la translocation robertsonienne équilibrée (Schlosser et *al.*, 2006).

Des études cytogénétiques permettent aussi de mesurer des microdélétions au niveau du chromosome Y. Le dépistage des microdélétions se fait par amplification de la région spécifique du chromosome. Cet examen est positif dans 8.2 % des infertilités avec diminution du nombre de spermatozoïdes (< 2 millions/ml). Elle se localise au niveau de la région Yq11, il s'agit de AZFa, AZFb et AZFc (Demoulin., 2003).

L'étude du gène CFTR est indiquée en cas d'agénésie congénitale bilatérale ou unilatérale des déférents, d'azoospermie obstructive inexpliquée et avant ICSI pour un conseil génétique. L'étude du gène CFTR porte sur ses mutations et sur le polymorphisme de l'intron 8, site accepteur d'épissage. Une trentaine de mutations sur plus de 1 000 connues sont explorées en routine. La mutation $\Delta F508$ est considérée comme sévère et représente 70 % des mutations du CFTR (Schlosser et *al.*, 2006).

➤ **Biopsies testiculaires**

Au début des années 80, avec la généralisation de l'exploration hormonale (FSH plasmatique) et des marqueurs épидидymaires, la biopsie avait perdu de son intérêt et n'était presque plus pratiquée (Guerin, 2001).

À l'heure de l'ICSI, les biopsies testiculaires ne sont plus simplement un acte diagnostique ou pronostique, mais également un geste thérapeutique. Sur le plan diagnostique, l'indication de la biopsie testiculaire doit surtout être réservée aux azoospermies de mécanisme incertain et de recours programmé à une ICSI, sans contre-indication d'ordre génétique (Schlosser et *al.*, 2006). La biopsie d'un fragment de parenchyme testiculaire permet de reconnaître histologiquement les troubles primitifs de la spermatogénèse, dont on distingue plusieurs aspects selon que les tubes séminifères sont atrophiques (scléro-hyalinose), les cellules germinales sont absentes (aplasie germinale focale ou complète (syndrome de Del Castillo), ou en nombre diminué, ou arrêt de maturation de la spermatogénèse (blocage au niveau de la méiose ou de la spermiogénèse) (Guerin, 2001). La recherche de carcinome in situ est réalisée en cas de facteur de risque. Tandis qu'au plan thérapeutique, les indications sont plus larges car cet examen permet d'évaluer le capital et la qualité d'un spermatozoïde ou d'un spermatozoïde rond ou allongé, obtenu par ponction intra testiculaire en vue d'une ICSI quelle que soit l'étiologie de l'infertilité.

Cette ponction devra toujours être associée à une cryopréservation du tissu restant en cas d'échec et de la réalisation d'une nouvelle tentative de FIV ce qui implique au préalable

un bilan génétique (Demoulin, 2003). Le fixateur de Davidson modifié (mélange de formaldéhyde, éthanol, acide acétique et eau distillée) permet une meilleure analyse histologique et immunohistochimique des biopsies testiculaires que le liquide de Bouin ou le formol qui n'est pas recommandé (Schlosser et *al.*, 2006).

VI.5. Les autres explorations spécialisées

Les tests sont de réalisation longue et délicate, d'interprétation pas toujours aisée, et qu'ils ne peuvent et doivent être pratiqués qu'au sein d'équipes spécialisées, dans certaines situations particulières. Ces tests fonctionnels trouvent leur place dans la prise de décision lorsqu'on hésite entre différentes techniques d'AMP (IAC, FIV ou ICSI), il peuvent alors se révéler d'une grande utilité (Guerin, 2001).

➤ **Evaluation du pouvoir fécondant du spermatozoïde**

Sur la base d'une série de tests de l'évaluation des différentes fonctions spermatiques on pourrait définir biologiquement les aptitudes fécondantes du spermatozoïde.

En pratique, on utilise depuis quelques années une série de tests permettant d'explorer le pouvoir fécondant du sperme. Cependant, la plupart de ces tests qui évaluent une ou plusieurs fonctions spermatiques ne sont pas forcément prédictifs et seule la fécondation *in vitro* reste un moyen diagnostique fiable et répétitif d'apprécier la capacité fécondante d'un sperme (Barthélemy et Hamamah, 1997).

- Le test de la reconnaissance et de la fixation sur la zone pellucide « héli zona assay ».

Comme la fixation de spermatozoïdes sur la zone pellucide est un processus " spécifique " non réversible, il est donc nécessaire pour la réalisation de ce test, de disposer de zones pellucides humaines. Un " héli zona assay " a été utilisé pour comparer la capacité de fixation d'une population étudiée à une population témoin. Un faible taux de fixation des spermatozoïdes sur la zone pellucide pourrait évoquer la présence d'anticorps à la surface de la membrane plasmique du spermatozoïde. Aussi, il semble exister une corrélation entre le nombre de spermatozoïdes fixés sur la zone pellucide et les succès de FIV (Barthélemy et Hamamah, 1997).

- L'évaluation du statut acrosomique ou test de la réaction acrosomique. Plusieurs méthodes directes et indirectes sont utilisées pour visualiser à la fois la présence et l'absence de l'acrosome, et la réaction acrosomique. La réaction acrosomique peut être mise en évidence aussi bien en microscopie électronique qu'en microscopie à contraste

de phase à l'aide de colorants cytologiques (colorants de Talbot, lectines marquées et anticorps monoclonaux) (Barthélemy et Hamamah., 1997). Normalement le taux de réaction acrosomique (RA) spontanée au moment de l'éjaculation est faible (<10%). A cette mesure statique, on peut associer une exploration dynamique permettant d'apprécier la population de spermatozoïdes susceptibles d'effectuer leur RA en présence de divers inducteurs physiologiques ou non (ionophores calciques). Selon la technique utilisée la population inductible représentée par la différence entre le taux de RA induite et le taux de RA spontanée varie de 10% à 40%. Il existe une variabilité importante dans la réalisation et l'interprétation de ces tests; cependant un pourcentage de RA spontanée trop élevé ou un faible taux de RA inductible est de mauvais pronostic pour l'activité fécondante du sperme (Grizard et Jiminez, 1997).

- L'investigation de la fonction fusiogène du spermatozoïde ou Hamster test. Les spermatozoïdes humains capables peuvent se lier et pénétrer des ovocytes dépellucidés de hamster puis décondenser leur noyau pour former des pronoyaux mâles. Cette propriété a été utilisée pour développer un test fonctionnel (hamster-test) permettant d'appréhender le pouvoir fécondant du spermatozoïde (capacité à effectuer sa RA, à fusionner avec l'ovocyte et à décondenser sa chromatine). En pratique, le hamster test permet d'évaluer le nombre de spermatozoïdes fixés sur la membrane de l'ovocyte traduisant la fonction fusiogénique du spermatozoïde, d'évaluer le pourcentage d'ovocytes ayant au moins une tête spermatique décondensée, ainsi que le nombre moyen de têtes décondensées par ovocyte. Un test est considéré comme négatif si aucune tête spermatique décondensée n'est retrouvée.

Ce test a une forte valeur prédictive vis-à-vis des résultats obtenus en FIV, notamment lorsque le test est négatif les chances de succès en FIV sont extrêmement réduites . Par contre, un hamster-test positif associé à des échecs de FIV peut traduire une anomalie au niveau de la fixation et/ou de la pénétration de la zone pellucide puisque ce test ne fournit pas d'indication sur cette étape. Celle-ci peut être appréciée par des test spécifiques (hemi zona assay); l'utilisation de ceux-ci reste toutefois limitée (Barthélemy et Hamamah, 1997 ; Grizard et Jiminez, 1997).

- Le test de qualité du matériel nucléaire. Au cours de l'éjaculation la stabilité de la chromatine, qui est le reflet de la maturation nucléaire est assurée par le plasma séminal et surtout la sécrétion prostatique riche en Zinc protégeant le noyau du spermatozoïde d'une décondensation prématurée. Des techniques permettent d'apprécier la fonction

nucléaire et mettre en évidence les modifications du contenu nucléaire en rapport avec l'expression du pouvoir fécondant des spermatozoïdes humains, ces techniques sont le test au bleu d'aniline qui révèle la condensation chromatinienne, la révélation de l'ADN dénaturé au test à l'acridine orange qui est un colorant fluorescent, provoquant une fluorescence verte lorsque l'ADN est bicaténaire, jaune-orangé quand l'ADN est monocaténaire et la révélation de l'ADN fragmenté à la technique TUNEL, COMET, et autres (Barthélemy et Hamamah, 1997; Guerin, 2001).

- Les tests de migration-survie sont réalisés en cas d'oligo-asthéo-tératozoospermie. Ils permettent la sélection des spermatozoïdes mobiles et viables qui pourront être utilisés en assistance médicale à la procréation. Les deux principales méthodes de sélection sont la centrifugation sur gradient de densité et la migration ascendante (swim-up) avec ou sans centrifugation. La survie à 24 heures des spermatozoïdes sélectionnés est un facteur pronostique favorable pour la fécondance du sperme (Schlosser et *al.*, 2006).

➤ **Etude ultra structurale des spermatozoïdes**

Une étude ultrastructurale de la cellule spermatique peut être envisagée en cas de dyskinésies flagellaires une anomalie systématisée de l'axonème, de tératozoospermies isolées de type microcéphalie, macrocéphalie ou anomalie acrosomique, d'asthénozoospermies isolées sévères ou encore dans le cas d'échecs de fécondation in vitro pour lesquels le diagnostic d'infertilité masculine n'a pas été établi de manière évidente par les spermogrammes classiques (Schlosser et *al.*, 2006). Toutefois ce test très spécialisé réservé à certains centres spécialisés nécessitant une qualification importante et un matériel coûteux. L'interprétation en est souvent difficile due à la très grande hétérogénéité de structures à l'intérieur d'une même population spermatique (Barthélemy et Hamamah, 1997).

➤ **Etude vidéographique assistée par ordinateur des spermatozoïdes « système CASA »**

Cette dernière permet l'étude du mouvement et le diagnostic de certaines dyskinésies. Elle étudie, outre la concentration en spermatozoïdes, leur vitesse de déplacement, la forme des trajectoires, l'amplitude de débattement latéral de la tête. Leur principe est basé sur l'étude des trajectoires de la tête du gamète qui sont un bon reflet de l'activité

flagellaire. Le CASA est proposé dans deux indications ; discordance des résultats des examens spermioologiques de base ou échecs inexplicués d'insémination intra-utérine (IIU) ou de fécondation in vitro (FIV) avec ovocyte mature. L'analyse de la cinétique des spermatozoïdes peut aider à la décision entre FIV classique et FIV avec micromanipulation (ICSI). (Schlosser et *al.*, 2006 ; Grizard et Jiminez, 1997).

Chapitre. 2 :

Matériel et Méthodes

I - Aspect de la population cible

Notre étude prospective de type descriptif a été réalisée à l'Unité de la Biologie de Reproduction, Laboratoire d'Histologie Embryologie CHU de Constantine et au Laboratoire de Biologie Moléculaire et cellulaire, Université Mentouri de Constantine. Cette dernière s'est étalée sur une période de huit mois (Octobre 2007 - Mai 2008) et a porté sur une population de 120 sujets de sexe masculin.

Les sujets qui ont fait l'objet de cette étude sont des patients orientés par des médecins gynécologues ou médecins urologues dans le cadre d'investigation d'une stérilité du couple, soit pour un bilan lors d'une atteinte de l'appareil génital male, soit pour un examen de contrôle .

II - Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé dans notre étude est le volume spermatique entier recueilli chez des sujets soupçonnés infertiles ou stériles.

III - Techniques d'examen du sperme

III.1. Spermogramme

Le spermogramme est l'examen clé qui permet une appréciation quantitative et qualitative du sperme. Il permet une double analyse ; l'évaluation de l'activité sécrétoire à travers la mesure du volume, de pH et de la viscosité et la production gamétique à travers la numération, mobilité et la vitalité du sperme.

III.1.1. Condition de recueil du sperme

Le patient reçoit un certain nombre d'informations et d'instructions en ce qui concerne les conditions de recueil de son sperme de manière claire pour assurer le bon déroulement et la précision de l'analyse par la suite à savoir :

- une abstinence sexuelle de 03 jours pour éviter le recueil d'un volume diminué d'éjaculat due a un délai d'abstinence plus court ou un volume contenant un dédoublement de numération avec un pourcentage élevé de spermatozoïdes morts due a une abstinence trop longue.

- le sujet doit être informé sur l'importance de la totalité de l'éjaculat , car une fraction n'est pas représentative de l'ensemble de l'éjaculat.
- le recueil se fait sur place, dans une chambre au laboratoire, destinée au prélèvement afin de limiter les risques de perte d'une partie de l'éjaculat.
- le recueil s'effectue par masturbation dans un réceptacle, à usage unique, stérile avec couvercle.

III.1.2. Examen macroscopique

L'examen macroscopique permet d'évaluer un certain nombre de paramètres selon le protocole suivant :

- **Liquéfaction**

Dès sa réception, l'échantillon de sperme est déposé dans une étuve à 37° C pendant 30 min pour assurer sa liquéfaction. Au terme de celle-ci, l'examen est réalisé. Une liquéfaction prolongée doit être notée si l'éjaculat ne se liquéfie pas après ce délai .

- **Couleur**

L'observation de la couleur est faite a l'œil nu , Un sperme normal a un aspect homogène gris opalescent, et peut prendre une couleur brune en cas hémospemie ou jaunâtre qui témoigne une probable infection.

- **Odeur**

On utilise notre propre odorat pour déterminer ce paramètre. A l'état normale le sperme a une odeur caractéristique chlorée, alors qu'en cas d'infection l'odeur du sperme peut devenir fétide.

- **viscosité**

Elle est évaluée en plongeant une pipette pasteur dans le sperme, en notant la façon dont le sperme s'écoule. Un sperme d'une viscosité normale, s'écoule sous forme de gouttes bien séparées alors qu'un sperme de forte viscosité forme des filaments de plus de 2 cm entre chaque goutte.

- **Volume**

Il est estimé à l'aide d'une éprouvette graduée, la mesure est faite a 0,1 ml près. Un volume normale se situe entre 2 à 6 ml, au dessous de 2 ml on note une hypospermie et en

dessus de 6 ml on parle d'une hyperspermie. En cas d'absence totale d'éjaculat on note une aspermie.

- **pH**

Une goutte de sperme est déposée sur une bandelette de papier pH, la couleur de la zone imprégnée est comparée à une échelle de lecture. Le pH est mesuré dans l'heure qui suit l'éjaculation, il est normalement compris entre 7,2 et 8.

III.1.3. Analyse microscopique

L'analyse microscopique est réalisée, après préparation des échantillons en fonction du paramètre à apprécier, grâce à une observation sous un microscope photonique de type Leika, aux grossissements 40x.

- **Mobilité et qualité du mouvement**

Une goutte de sperme (20ul) bien homogénéisée est déposée entre lame et lamelle, plusieurs champs sont par la suite observés au grossissement 40x et le mouvement de chaque spermatozoïde rencontré est analysé puis classé selon 03 formes (Jouannet., 1977) :

- Les spermatozoïdes traversant le champ microscopique suivant un trajet régulier, rapide et progressif sont considérés comme forme à mobilité normale.
- Les spermatozoïdes ondulant sur place ou traversant lentement le champ ou présentant un trajet irrégulier sont considérés comme formes à mobilité diminuée.
- Si aucun mouvement n'est observé, les spermatozoïdes sont considérés comme formes immobiles.

Quatre à six champs sont parcourus pour classer 100 spermatozoïdes consécutifs et calculer leur pourcentage respectif dans chacune des formes. Selon les normes plus de 50% de spermatozoïdes doivent présenter une progression rapide rectiligne. en dessous de cette valeur on parlera d'une asthénospermie.

- **Appréciation de l'agglutination**

Sur la même lame préparée pour la mobilité et la qualité du mouvement, plusieurs champs microscopiques consécutifs sont parcourus pour apprécier la présence ou non d'agglutinats spontanés de spermatozoïdes entre eux par la tête, la pièce intermédiaire, le flagelle, ou de manière mixte.

En fonction de l'appréciation, l'autoagglutination est notée à l'aide de croix, (+) Nombre réduit, (++) plus ou moins importante et (+++) autoagglutination importante. Un sperme normale ne contient pas d'agglutinats spontanées de spermatozoïdes.

- **Numération des spermatozoïdes**

La numération des spermatozoïdes est évaluée en nombre de spermatozoïdes par ml compté dans un hémodécomètre après immobilisation.

Une lamelle calibrée est fixée sur le support de la cellule de Thoma. Dans un tube à hémolyse le sperme est diluée au 1/10 (0.1 ml de sperme / 0.9 ml de solution de Ringer formolé). La solution est par la suite homogénéisée puis introduite par capillarité à l'aide d'une pipette pasteur dans le compartiment de la cellule.

Après 10 minutes de repos, la lecture est réalisée par comptage des spermatozoïdes sur chaque grille, sous un microscope photonique au grossissement 40x.

Le calcul de la concentration des spermatozoïdes, exprimée en millions/ml est obtenu par la formule suivante :

$$C = N \times Di \times V \times 1000$$

C : concentration millions /ml

N : nombre de spermatozoïdes comptés sur la totalité de la cellule .

Di: dilution = 10

V : volume =10

1000 : conversion de cm³ en ml.

A partir de la concentration calculée lors de la numération, le sperme est classé en :

Polyzoospermie : >200 millions /ml

Normospermie : 20 à 200 millions /ml.

Oligozoospermie modéré : de 5 à 20 millions /ml.

Oligozoospermie sévère : <5 millions /ml.

Azoospermie : absence de spermatozoïdes

- **Concentration des cellules rondes**

La concentration des cellules rondes est mesurée à l'état frais à l'aide d'un hémodécomètre cellule de Thoma. La concentration en cellules rondes d'un éjaculat normal n'excède pas 10⁶ cellules/ml (inférieure à 5 % de la concentration totale des spermatozoïdes).

- **Test de vitalité**

Le test de vitalité est évalué par un colorant vitale l'Eosine-Nigrosine (Annexe I). Ce test permet d'estimer la nécrospermie par la recherche du nombre des spermatozoïdes morts et vivants.

Pour la préparation des frottis, une goutte de sperme est mélangée à 2 gouttes d'Eosine à 1% dans un tube à hémolyse. Après 30 secondes d'incubation on ajoute 2 gouttes de Nigrosine à 10%. Le frottis est préparé à partir d'une goutte du mélange sur une lame, puis laisser séché à l'air libre.

La lecture se fait sous un microscope photonique, au grossissement 40x. Ainsi, les spermatozoïdes morts apparaissent colorés en rose, alors que les spermatozoïdes vivants sont incolores. Les spermatozoïdes représentant une bordure post acrosomial colorée en rose sont considérés comme cellules mortes, même si le reste de la cellule est incolore. 100 spermatozoïdes sont comptés sur plusieurs champs consécutifs et le pourcentage des spermatozoïdes morts ainsi le pourcentage des spermatozoïdes vivants sont déterminés.

Un sperme normal contient plus de 75% de formes vivantes. Au dessous de 50% de cellules vivantes on parle d'une nécrospermie.

III.2. Spermocytogramme

Le spermocytogramme est une analyse morphologique des spermatozoïdes. La coloration se fait selon la méthode de Papanicolaou qui donne une meilleure observation de la tête, de la pièce intermédiaire et du flagelle (Annexe II).

Le pourcentage des formes typiques et atypiques est dénombré selon la classification de David (1975). Un spermocytogramme est considéré normal quand il comporte plus de 50% de spermatozoïdes normaux, en dessous de cette valeur on parle d'une tératozoospermie.

Pour la préparation des frottis, on met 10 µl de sperme liquéfié et homogénéisé sur une lame propre, puis on tire la goutte de sperme à l'aide d'une autre lame et on laisse les frottis sécher délicatement dans l'air. Par la suite on fixe les frottis dans l'alcool éther (v/v) pendant 5 à 15 minutes et on les laisse sécher à nouveau à l'air.

Ainsi séchés, les frottis sont passés dans la batterie de coloration de Papanicolaou, ensuite on procède à monter les lamelles sur les lames colorées par la baume de Canada. Par la suite on laisse sécher les frottis 24 heures.

La lecture de la morphologie est effectuée sur 100 spermatozoïdes au grossissement à l'immersion 100x. Nous avons utilisé la classification de David (1975) (Tab. 4) qui recense :

- des spermatozoïdes morphologiquement normaux :

Un spermatozoïde normal présente une tête ovale (vue de face) et légèrement allongée (vue de profil), sa longueur est de 4-5 μm et sa largeur de 2.5 - 3.5 μm avec un acrosome bien délimité. La pièce intermédiaire doit avoir une largeur qui ne dépasse pas la moitié de la largeur de la tête, et doit être implantée dans l'axe longitudinal de la tête et ne peut présenter des angulations aiguës.

- les polymalformations des spermatozoïdes qui comptent :

- Anomalies de la tête :

- Allongée : longueur $>6\mu\text{m}$ le rapport longueur/largeur $>2\mu\text{m}$, peuvent être simple à base amincie, en battant de cloche, affilées.
- Amincie : largeur nulle et longueur diminuée.
- Microcéphale: tête soit ronde, irrégulière avec anomalies fréquentes de l'acrosome
- Macrocéphale : tête volumineuse.
- Irrégulière : déformation plus ou moins importante de l'ensemble de la tête avec irrégularité de l'acrosome.
- Dupliquée : bicéphale ou binuclées.
- En lyse : hétérogénéité de coloration.









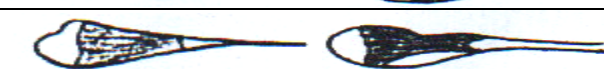

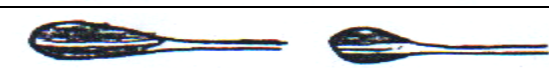

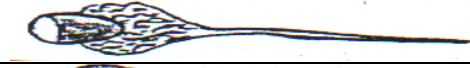



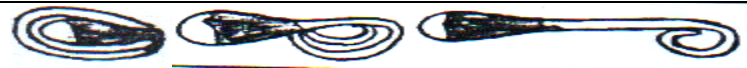

- Anomalies de la pièce intermédiaire :

- Reste cytoplasmique : sa surface doit être supérieure au moins la moitié de la tête.
- Angulée : l'axe de la pièce intermédiaire et l'axe de la tête forment un angle net ou encore le flagelle n'est pas implanté dans l'axe de la tête.

- Anomalies du flagelle:

- Absent.
- Court : le flagelle est significativement écourté (<5 fois la longueur de la tête) avec généralement un épaississement et un contour plus ou moins régulier.
- Enroulé : le flagelle est enroulé autour de la tête ou en dehors de la tête.
- Double : il y a plus d'un flagelle par spermatozoïde, la pièce intermédiaire étant commune ou multiple.

Tableau. 4 : Classification de David 1975 des anomalies morphologiques des spermatozoïdes (d'après Mansat et Bennet., 1986)

<ul style="list-style-type: none"> • Les anomalies de la tête. 		
FORMES ALLONGEES	Simple	
	Base amincie	
	Battant de cloche	
	Effilés	
FORMES AMINCIES		
MICROCEPHALES		
MACROCEPHALES		
DUPLIQUEES		
FORMES IRRÉGULIERS	Contour irrégulier	
	Acrosome mal formé	
	Sans acrosome	
FORME EN LYE		
<ul style="list-style-type: none"> • Les anomalies de la pièce intermédiaire 		
RESTES CYTOPLASMIQUES		
ANGULATION		
<ul style="list-style-type: none"> • Les anomalies du flagelle 		
FLAGELLES ABSENTS		
FLAGELLES COURTS		
FLAGELLES ENROULES		
FLAGELLES DOUBLES		
Autres <ul style="list-style-type: none"> • Flagelles isolés • Présence cellules de la lignée spermatique • Des éléments à signaler. 		

IV. Dosage des protéines totales

La concentration en protéines contenues dans le plasma séminal est estimée par la méthode de Lowry (1951) qui combine le réactif de biuret et celui de Folin – Ciocalteu (Annexe III). Elle est basée sur la réduction du Cu^{++} en Cu^+ .

Dans la méthode de Lowry, le Cu^+ est utilisé pour réduire le réactif de Folin une solution phénolique contenant l'acide phosphotungstomolybdique dont la couleur vire du jaune au bleu. L'absorbance des solutions, mesurée à une longueur d'onde comprise 500 nm et 750 nm, est proportionnelle à la concentration des protéines présentes dans les échantillons. La grande sensibilité de la méthode de Lowry est sa principale qualité (Deutscher., 1990)

IV. 1. Matériel biologique utilise

Le dosage de protéines totales a porté sur 62 échantillons de plasma séminal prélevés sur les 120 sujets étudiés. Les échantillons sont pris au hasard et sont répartis comme suit :

pathologie	Nombre de cas
Normospermie	4
Tératospermie	6
Azoospermie	10
Oligotératospermie	1
Oligotératospermie sévère	2
Asthenozoospermie	3
Asthénotératospermie	18
Oligoasthénospermie	2
Oligoasthénotératospermie	12
Polyasthénospermie	1
Polyasthénotératospermie	4
total	62

Les échantillons du sperme sont liquifiés pendant 30 minutes. Après centrifugation à 3000 tours/minute pendant 15 minutes, le surnageant qui forme le plasma séminal est gardé dans un tube sec, hermétiquement fermé, conservé à - 20°C jusqu'au jour du dosage.

IV. 2. Méthode de dosage

Les échantillons de plasma séminal sont dilués 100 fois à l'aide d'eau distillée (0.1 ml liquide séminal + 9.9 ml H₂O), de manière à ce que leur concentration en protéines soit comprise entre les points extrêmes de la courbe étalon. Le traçage de la courbe d'étalonnage se fait par préparation de la gamme étalon à partir d'une solution de sérum albumine bovine (BSA) 1mg/ml avec des points de courbe à 0.1 ; 0.2 ; 0.3 ; 0.4 et 0.5mg.

On procède ensuite au dosage des échantillons par la lecture de l'absorbance des étalons contre le blanc réactif.

Tubes	Blanc	Concentration étalon					Echantillon à doser
		0.1 mg	0.2 mg	0.3 mg	0.4 mg	0.5 mg	
Réactifs							
Liquide séminal dilué							0.3 ml
BSA 1mg/ml		0.1 ml	0.2 ml	0.3 ml	0.4 ml	0.5 ml	
H ₂ O	2 ml	1.9 ml	1.8 ml	1.7 ml	1.6 ml	1.5 ml	1.7 ml
Réactif de Lowry	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Laisser reposer les tubes 10 minutes							
Folin	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml

La lecture se fait à une longueur d'onde de 720 nm après 30 minutes dans l'obscurité. Les densités optiques ou l'absorbance des échantillons étudiés sont portées sur la courbe d'étalon et les concentrations correspondantes sont déterminées.

V. Electrophorèse des protéines par SDS-PAGE

Après extraction, les fractions protéiques sont séparées par électrophorèse discontinu monodimensionnelle en présence du sodium Dodécyl-Sulfate sur gel polyacrylamide (SDS-PAGE) selon la méthode de Laemmli (1970). Les protéines sont dénaturées par chauffage dans un tampon contenant du β -mercaptoéthanol et du Dodécyl-sulfate de sodium (SDS).

Le SDS qui est un détergent anionique dénature les protéines en enveloppant la chaîne polypeptidique selon un ratio de masse de 1,4 pour 1. Il confère aux protéines une charge négative proportionnelle à leur longueur. Les polypeptides deviennent donc des chapelets de charges négatives partageant une même densité de charge par unité de longueur.

Le β -mercaptoethanol, un agent réducteur, en combinaison avec la chaleur brise les ponts disulfures internes des protéines par dénaturation ainsi que les éventuels ponts disulfures inter protéiques.

Les protéines ainsi dépliées, uniformément chargées en fonction de leur masse, peuvent dès lors être séparées par électrophorèse de la cathode (-) vers l'anode (+). Leur vitesse de migration sur gel sera proportionnelle à leur seule masse, les petites protéines étant les plus rapides.

V.1. Extraction des protéines totales

L'extraction des protéines totales du liquide séminal a été réalisé selon deux procédés à savoir :

- Une extraction dans une solution stock en présence d'un réducteur (0.75 ml de β -mercaptoethanol) (Annexe IV). Après l'extraction la solution est laissée pendant 2 heures à 65°C puis centrifugée à 10000g pendant 10 minutes à 4°C.
- Une extraction dans une solution stock sans réducteur (Annexe IV). Après extraction la solution est laissée pendant 2 heures à température ambiante puis centrifugée à 10000g pendant 10 minutes à 4°C.

V.2. Préparation des gels

Deux types de gel sont préparés pour chacune des extractions, avec et sans réducteur. Un gel de préparation (running gel) qui permet de fractionner les différentes protéines et les sous unités protéiques selon leurs poids moléculaires, et un gel de concentration (stacking gel) permettant de retenir les impuretés et de tasser les protéines (Annexe V).

Le gel de séparation est coulé doucement entre les cassettes aux dimensions de 180 x 160 x 1,5 mm, nettoyées à l'éthanol et montées auparavant, jusqu'au niveau délimité par la plaque à 4 cm de l'encoche. Une fine couche de butanol est coulé sur le gel pour égaliser la surface du gel et assurer une meilleure polymérisation. Après 30 à 45 min le gel polymérisé est débarrassé du butanol et la surface est rincée à l'eau distillée. Le gel de concentration est par la suite coulé sur la couche de séparation. Les peignes sont insérés au centre, entre les cassettes pour former les puits des dépôts dans la partie supérieure du gel, ensuite retirés soigneusement pour éviter de casser les puits.

V.3. Analyse électrophorétique

20 µl de protéines, extraites des différents échantillons, sont déposés délicatement dans les puits correspondants dans la partie supérieure du gel. La séparation électrophorétique des différentes fractions protéiques a lieu dans un tampon de migration SDS (41% de glycine, 0.3% de Tris et 0.1% de SDS) (Annexe VI) à température ambiante, sous une tension continue constante de 99 V et puissance de l'ordre de 80 mA jusqu'à la sortie du front de migration (coloré en bleu).

V.4. Fixation et coloration des gels

A l'issue de l'électrophorèse, les gels sont démoulés, fixés puis colorés au bleu de Coomassie R 250 (Annexe VII) pendant 24 heures sous agitation pour éviter le dépôt de colorant. Les gels sont par la suite décolorés dans un bain d'acide acétique à 10 %.

V.5. Analyse des gels

L'analyse des profils des protéines générales, obtenus après séparation par électrophorèse sur gel polyacrylamide (SDS-page), a été réalisée sur la base de la présence ou l'absence de bande après révélation et observation des gels séchés sur une table lumineuse.

Chapitre. 3 :

Résultats et Discussion

I. l'aspect général de la population étudiée

Notre étude a porté sur un échantillon d'une population de 120 patients soupçonnés d'infertilité masculine, dont l'âge moyen est compris entre 30 et 40 ans. Selon le motif de consultation nous avons recensé 29 individus célibataires et 91 individus mariés soit des proportions respectives de 24,16 % et 75,84 % de la population étudié. Sur l'ensemble de la population, 68 individus présentaient une infertilité primaire et 23 individus présentaient une infertilité secondaire (Tab. 5), soit des pourcentages respectifs de 74,73 % et 25,27 % (Fig. 6).

Tableau. 5 : Répartition des sujets selon le type d'infertilité.

sujets	Effectif	%			
célibataires	29	24,16%	type d'infertilité	Effectif	%
mariés	91	75,84%	infertilité primaire	68	74,73%
			infertilité secondaire	23	25,27%
total	120	100%	total	91	100%

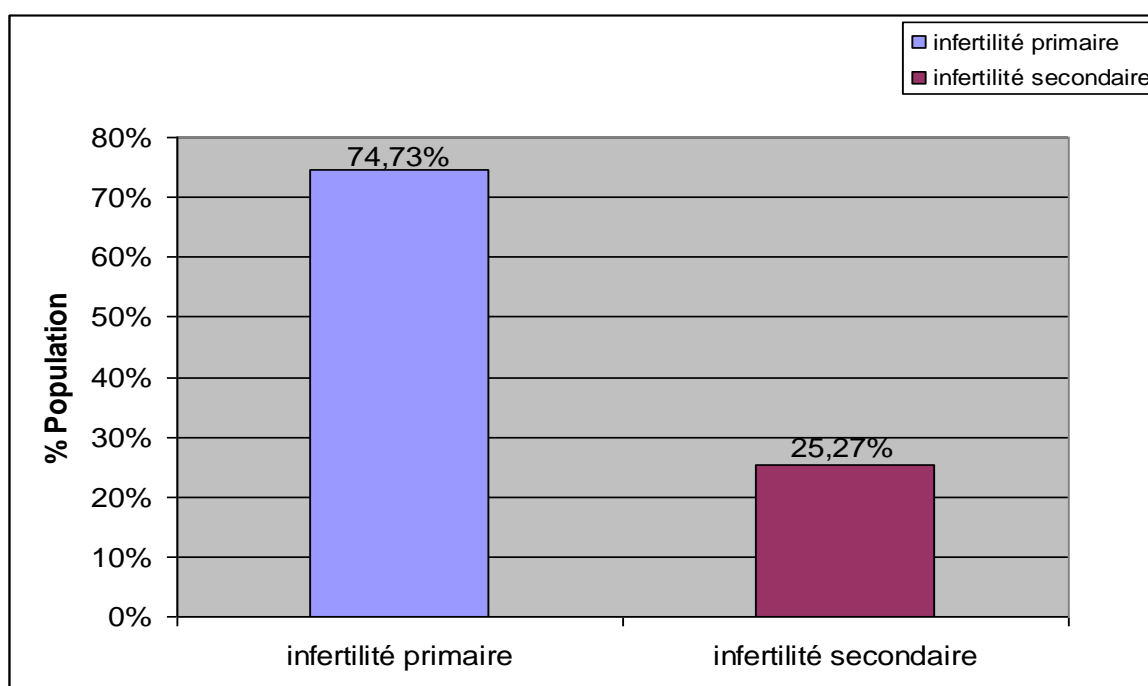


Figure 6 : Répartition de type d'infertilité chez les sujets mariés.

Des études menées en Algérie, dans la région de Annaba, indiquent des taux d'infertilité primaire de 73,48 % et d'infertilité secondaire de 26,52 % (Daroui, 2001). Dans une autre étude menée par Nazzal en 2002, dans la même région, les taux respectifs signalés sont de 87% et 13%.

Par ailleurs, en France, les travaux de Thonneau et *al.* (1991) révèlent des taux d'infertilité primaire et secondaire de 67 % et 33 % respectivement.

II. Résultats du spermogramme et le spermocytogramme

Sur la base des résultats du spermogramme et spermocytogramme nous avons recensé parmi les 120 cas étudiés, 108 présentaient des anomalies spermatiques et sont considérés comme cas pathologiques, tandis que 12 sont des cas normaux (Tab. 6), soit des taux de 90 % et 10 % respectivement (Fig. 7). En Algérie, nos résultats concordent avec ceux obtenus lors des études similaires effectuées dans la région d'Annaba où il a été enregistré dans une première étude 85,20 % de cas pathologiques et 14,80 % de cas normaux (Daroui, 2001), et dans une autre étude 87,92 % de cas pathologiques et 12,07 % de cas normaux (Nazzal, 2002).

Tableau 6 : Répartition des sujets selon les cas normaux et cas pathologiques.

Résultat de l'analyse spermatique	Effectif	%
cas normaux	12	10%
cas pathologiques	108	90%
Total	120	100%

De plus, l'étude menée en France en 1991 par Thonneau et *al.* sur 1467 hommes inféconds indique 61 % de cas pathologiques et 39 % de cas normaux ce qui est comparativement

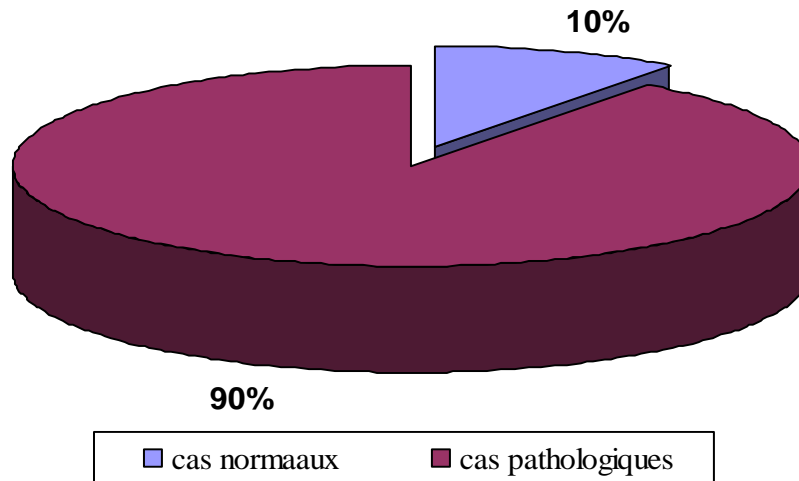


Figure 7 : Répartition en pourcentage des cas normaux et pathologiques.

différent à nos résultats ainsi qu'à ceux obtenus dans d'autres régions en Algérie où les cas normaux sont nettement inférieurs.

III. Fréquence des anomalies spermatiques

Parmi les 108 cas pathologiques que nous avons recensés, deux anomalies majeures sont observées (Fig. 8). Il s'agit de l'asthéo-tératospermie (ATS) avec 33,33 % des cas et de l'oligo-asthéo-tératospermie (OATS) dans 20,37 %, suivies respectivement par l'azoospermie (AZ) 17,59 %, la tératospermie (TS) 13,89 %. Des anomalies à moindre fréquence sont aussi observées, tels que la poly-asthéo-tératospermie (PATS) 4,63 % et l'asthénospermie (AS) 3,70 %. Par ailleurs, des proportions identiques sont enregistrées dans le cas de l'oligo-tératospermie sévère (OTS), l'oligo-asthénospermie (OAS) et la poly-asthénospermie (PAS), ils sont de l'ordre de 1,85 %. Enfin un cas isolé d'oligo-tératospermie (OTS) est noté, il représente 0,93 % des cas étudiés (Tab. 7).

Comparant aux résultats obtenus par Daroui (2001), qui a exclu le spermocytogramme, nous notons une similitude dans les cas d'asthénospermie (36,62 %), l'azoospermie (17,37 %) et l'oligospermie (0,94 %), ce qui n'est pas le cas pour les oligo-asthénospermies qui ne concordent pas avec nos résultats.

Nazzal (2002) a trouvé des valeurs analogues, dans le cas des asthénospermies (35%), mais il a signalé des taux assez élevés de la fréquence de l'oligospermie et un faible taux dans le cas de l'azoospermie (8 %).

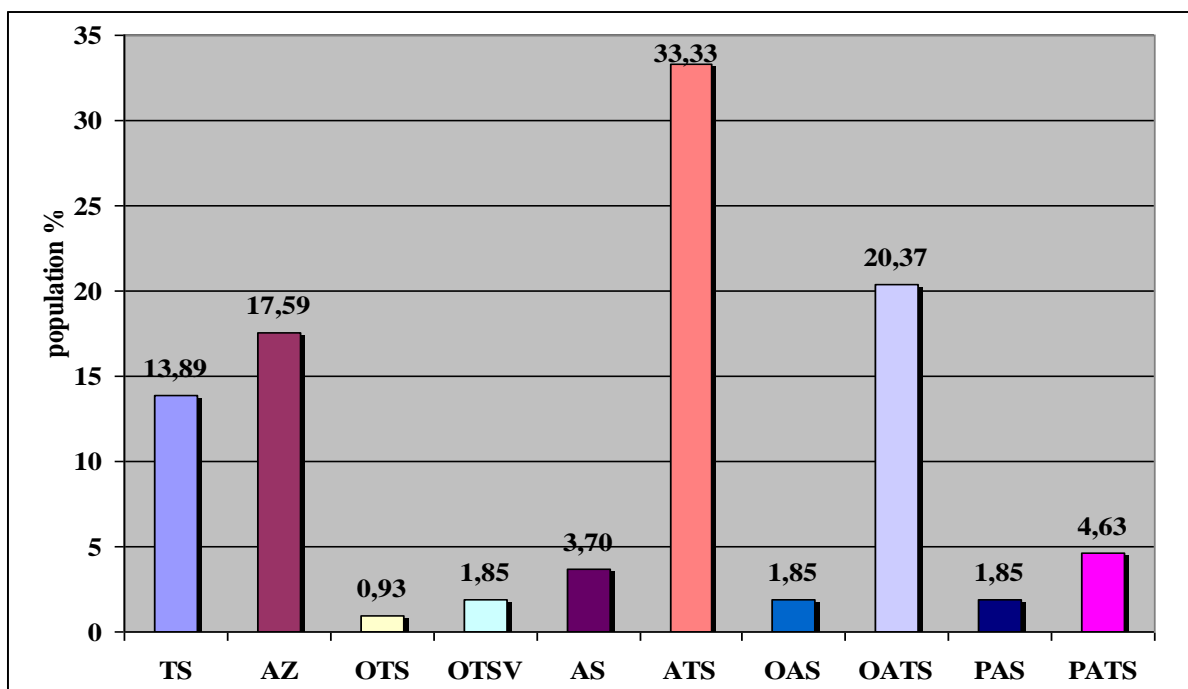


Figure 8 : Distribution de la fréquence des anomalies spermatiques.

Par ailleurs, Thonneau et ses collaborateurs (1991) ont signalé des fréquences de l'ordre de 10 % de tératospermie en France. Cette dernière semble relativement faible à celle observée dans notre étude (13,89 %).

Tableau 7 : Répartition de la fréquence des cas pathologiques.

pathologie	fréquence	%
Tératospermie	15	13,89
Azoospermie	19	17,59
Oligotératospermie	1	0,93
Oligotératospermie sévère	2	1,85
Asthénospermie	4	3,70
Asthénotératospermie	36	33,33
Oligoasthénospermie	2	1,85
Oligoasthénotératospermie	22	20,37
Polyasthénospermie	2	1,85
Polyasthénotératospermie	5	4,63
Total	108	100

La répartition des types d'infertilités selon la pathologie, consignée dans le tableau 8, l'asthéo-téatospermie et l'oligo-asthéo-téatospermie semblent être les causes principales de l'infertilité primaire avec respectivement 20 et 16 cas sur 68 détectés, suivi de l'azoospermie (12 cas), la téatospermie (10 cas), la normospermie (5 cas) et l'asthénospermie (2 cas). Des cas isolés sont notés pour l'oligotéatospermie, l'oligo-téatospermie sévère et la poly-asthéo-téatospermie avec 1 cas chacun sur les 68 représentant une infertilité primaire. Concernant l'infertilité secondaire, l'asthéo-téatospermie apparaît comme étant la première cause avec une prévalence de 8 cas sur les 23 patients recensés suivi de la téatospermie et la normospermie avec 3 cas chacune, l'azoospermie (2 cas) l'oligo-asthéo-téatospermie (2 cas) et la poly-asthénotéatospermie (2 cas). Des cas isolés sont à noter pour l'oligo-téatospermie sévère, l'asthénospermie et l'oligo-asthénospermie (1 cas pour chaque pathologie sur 23). Dans le groupe des célibataires l'asthéo-téatospermie constitue la première cause d'infertilité avec 8 cas/29 suivi de l'azoospermie (5 cas), l'oligo-asthéo-téatospermie et la normospermie (4 cas chacun), la téatospermie, la poly-asthéo-téatospermie et la poly-asthénospermie (2 cas chacun) et deux cas isolés pour l'asthénospermie et l'oligo-asthénospermie.

Pathologie	NS	TS	AZ	OTS	OTSV	AS	ATS	OAS	OATS	PAS	PATS	Total
Infertilité primaire	5	10	12	1	1	2	20	0	16	0	1	68
Infertilité secondaire	3	3	2	0	1	1	8	1	2	0	2	23
Célibataires	4	2	5	0	0	1	8	1	4	2	2	29
Total	12	15	19	1	2	4	36	2	22	2	5	120

Tableau 8 : Répartition de type d'infertilité selon les pathologies.

IV. Distribution des pathologies selon l'âge

La distribution des pathologies selon l'âge des patients, rapportée par la figure 9 et le tableau 9, montre que la tranche d'âge la plus affectée est celle des 31 – 35 ans avec une fréquence de 38 cas sur 120 individus formant l'échantillon d'étude, soit un taux de 31,67 %. Les principales pathologies misent en cause semblent être l'asthénotératospermie et l'oligoasthénotératospermie avec respectivement 11 et 10 cas sur les 38 cas rencontrés. La normospermie est notée dans 6 cas, la tératospermie dans 4 cas, ainsi pour azoospermie, la polyasthénotératospermie 2 cas et enfin un cas isolé de l'oligotératospermie.

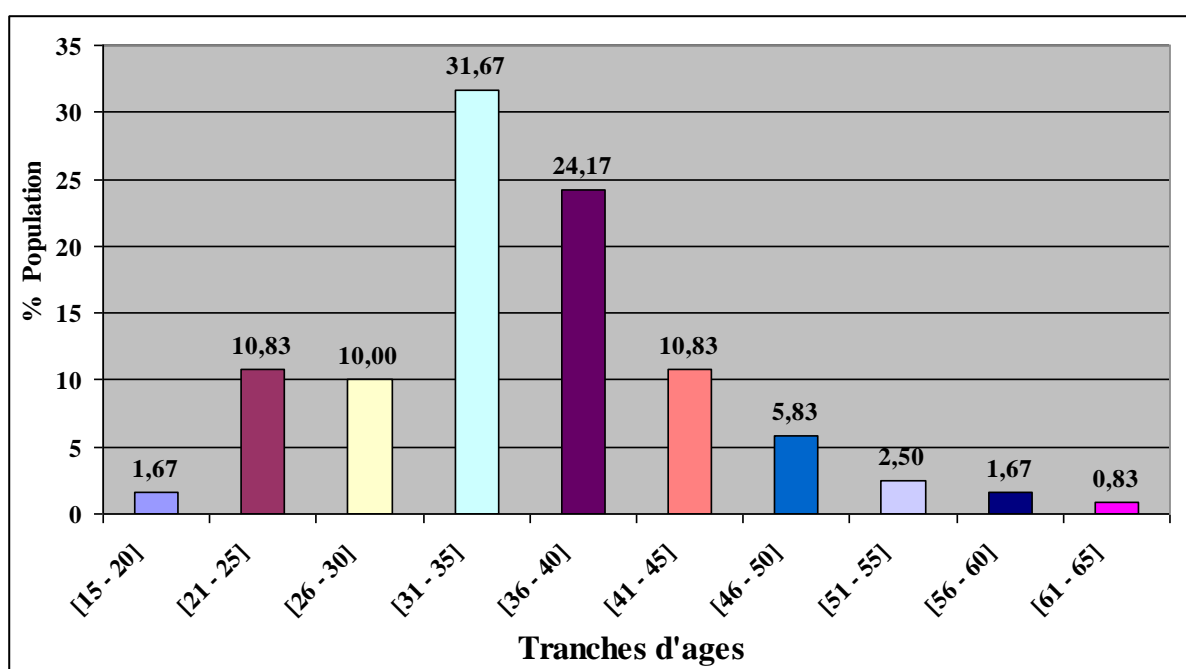


Figure 9 : Répartition de la population effectuée selon la tranche d'âge.

La tranche d'âge 36 – 40 ans représente une prévalence relativement élevée, elle est de l'ordre de 24,17 %. Les anomalies spermatiques suspectées sont principalement l'asthénotératospermie (9 cas/29), la tératospermie (6 cas /29), l'azoospermie (6 cas /29), l'asthénospermie (3 cas /29), oligoasthénotératospermie et la normospermie avec 2 cas chacune et enfin un cas isolé de l'oligotératospermie sévère.

Les tranches d'âge les moins affectées sont les jeunes âgés de moins de 20 ans et les patients âgés au-delà de 50 ans avec des taux respectifs de 1,67% pour la tranche d'âge 15 - 20 ans, 2,5% pour les 51-55 ans, 1,67% pour les 56-60 ans et seulement 0,83% pour la tranche d'âge 61 – 65 ans.

Tranches d'âges	NS	TS	AZ	OTS	OTSV	AS	ATS	OAS	OATS	PAS	PATS	Total	%
[15 - 20]	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	2	1,67
[21 - 25]	3	1	1	0	0	1	3	0	1	2	1	13	10,83
[26 - 30]	0	2	3	0	0	0	5	0	1	0	1	12	10
[31 - 35]	6	4	4	1	0	0	11	0	10	0	2	38	31,67
[36 - 40]	2	6	6	0	1	3	9	0	2	0	0	29	24,17
[41 - 45]	0	1	3	0	0	0	3	2	4	0	0	13	10,83
[46 - 50]	0	0	0	0	1	0	4	0	1	0	1	7	5,83
[51 - 55]	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	3	2,5
[56 - 60]	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1,67
[61 - 65]	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0,83
Total	12	15	19	1	2	4	36	2	22	2	5	120	100

Tableau 9 : Distribution des cas en fonction de la tranche d'âge et les anomalies spermatiques.

V. Distribution des pathologies selon l'activité professionnelle

La répartition des patients selon l'activité professionnelle, consignée dans le tableau.10, fait ressortir que 24,17 % ne possèdent aucune profession. Parmi la population en activité les fonctionnaires administratifs représentent la proportion la plus élevée, elle est de l'ordre de 22,50 %, suivi des commerçants et des ouvriers avec des taux respectifs de 12,50 % et 9,17 %. La proportion la moins élevée est celle des enseignants, des entrepreneurs et des retraités avec des pourcentages équivalents (1,67 %).

Tableau 10 : distribution de nombre de consultation selon secteurs d'activités.

Profession	Fréquence	%
sans profession	29	24,17
fonctionnaires administratifs	27	22,50
fonctionnaires de la santé	4	3,33
Agents de sécurité	8	6,67
Ouvriers	11	9,17
Chauffeurs	7	5,83
Boulangers	1	0,83
Soudeurs	4	3,33
Agriculteurs	3	2,50
Enseignants	2	1,67
Etudiants	3	2,50
Commerçants	15	12,50
Entrepreneurs	2	1,67
Retraités	2	1,67
Divers	2	1,67
Total	120	100

D'après les résultats de notre étude (Fig. 10), la population active semble être la plus affecté par les anomalies spermatiques où la prévalence est de 68,33 % contre 21,67 % pour les sans profession.

Les fonctionnaires administratifs représentent la catégorie professionnelle la plus touchée avec 20,80 % suivi des commerçant (10,80 %), les ouvriers (8,33%), les agents de sécurité et les chauffeurs avec des taux équivalents (5%), les fonctionnaire de la santé et les soudeurs (3,33%), les agriculteurs et les étudiants (2,5%), les enseignants, les entrepreneurs et les retraités avec 1,67% et enfin les boulangers et fonctions divers (0,83 %) (Tab.11).

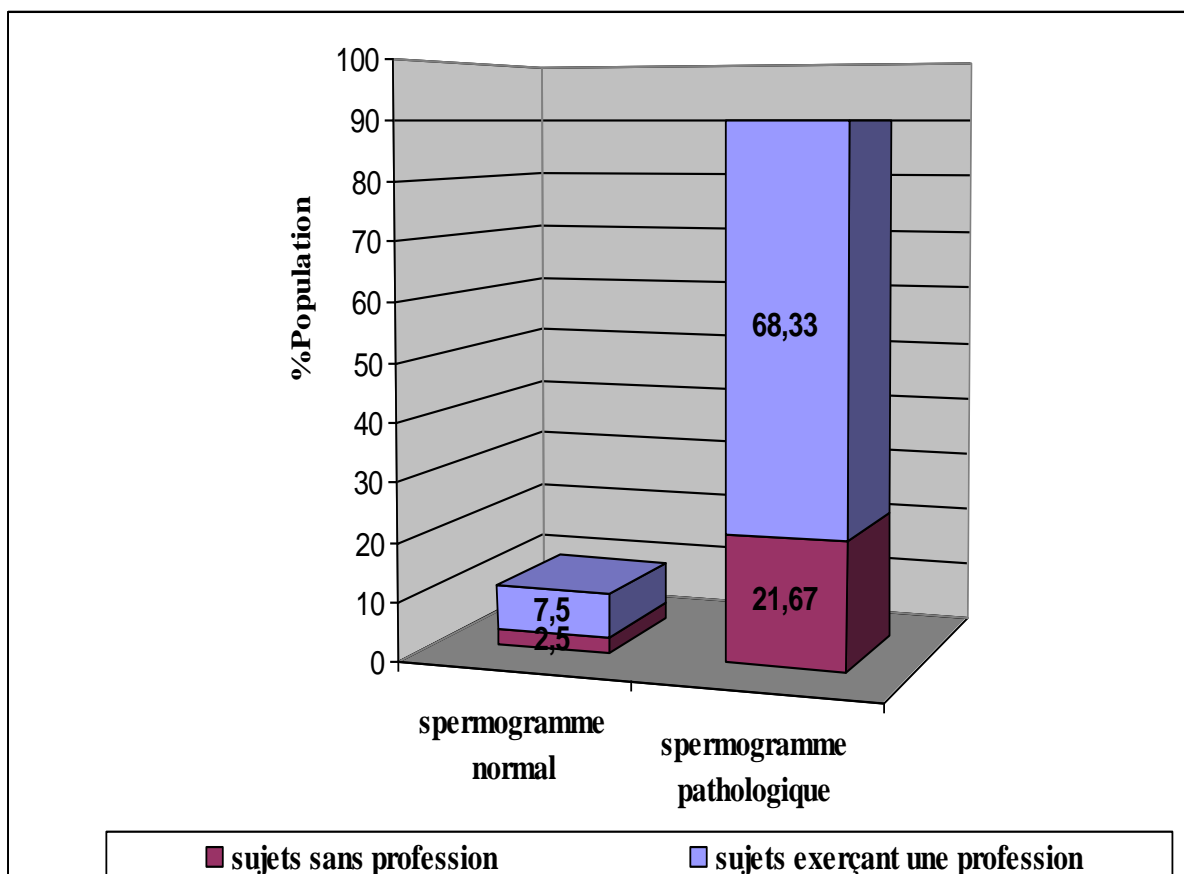


Figure 10 : répartition de sujets avec ou sans profession selon la nature du spermogramme

L'analyse de la distribution des différentes anomalies spermatiques selon les secteurs d'activités reportée dans le tableau 11, indique une prédominance de l'asthéo-tératospermie, l'oligo-asthéo-tératospermie, l'azoospermie et la tératospermie avec des fréquences respectives de 36 ; 22 ; 19 et 15 cas sur un effectif total de 108 patients affectés.

VI. Antécédents urogénitaux

Sur les 120 patients, que nous avons recensé au cours de cette étude, un peu plus de la moitié, à savoir 51,67 % d'individus, ne présentent pas d'antécédents uro-génital. Par contre pour le reste de la population, les infections, la varicocèle et ectopie/cryptorchidie apparaissent comme principal antécédent, lors de l'interrogatoire et l'examen clinique, avec respectivement des taux de 11,67 %, 10,83 % et 10 %. Des antécédents combinés sont aussi notés avec des taux relativement faible comme le montre le tableau 12.

Profession	Normaux		Pathologiques											
	Effectif	%	TS	AZ	OTS	OTSV	AS	ATS	OAS	OATS	PAS	PATS	Effectif	%
sans profession	3	2,5	3	4	0	0	2	7	1	5	1	3	26	21,7
fonctionnaires administratifs	2	1,67	0	6	0	0	1	10	1	7	0	0	25	20,8
fonctionnaires de la santé	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	1	4	3,33
Agents de sécurité	2	1,67	1	1	1	1	0	2	0	0	0	0	6	5
Ouvriers	1	0,83	0	2	0	1	1	5	0	1	0	0	10	8,33
Chauffeurs	1	0,83	2	2	0	0	0	1	0	1	0	0	6	5
Boulangers	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,83
Soudeurs	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	4	3,33
Agriculteurs	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	3	2,5
Enseignants	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	1,67
Etudiants	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	3	2,5
Commerçants	2	1,67	4	1	0	0	0	4	0	3	0	1	13	10,8
Entrepreneurs	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	1,67
Retraités	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	2	1,67
Divers	1	0,83	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0,83
Total	12	10	15	19	1	2	4	36	2	22	2	5	108	90

Tableau 11 : Distribution des cas normaux et pathologiques selon la profession.

Antécédent urogénital	NS	TS	AZ	OTS	OTSV	AS	ATS	OAS	OATS	PAS	PATS	effectif	%
Sans antécédent	7	12	6	1	1	0	20	1	12	0	2	62	51,67
Ectopie/ Cryptorchidie	2	0	7	0	0	2	0	0	1	0	0	12	10,00
infection	0	1	1	0	0	1	7	0	4	0	0	14	11,67
Traumatisme	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	0	3	2,50
Varicocèle	1	2	3	0	0	0	2	1	1	1	2	13	10,83
Infection et varicocèle	0	0	0	0	1	0	2	0	1	0	0	4	3,33
Traumatisme et varicocèle	2	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	5	4,17
Traumatisme et infection	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	3	2,50
Hydrocèle	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	2	1,67
Radiation	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	2	1,67
Total	12	15	19	1	2	4	36	2	22	2	5	120	100

Tableau 12 : Répartition des patients selon les antécédents urogénitaux et les anomalies spermatiques.

VII. Distribution en fonction du mode de vie

Au cours de l'interrogatoire sur le mode de vie des patients atteint d'anomalies spermatiques nous avons recensé un taux très élevé non fumeurs prenant des bains chauds modérément et sans excès, il est de 61,70 %. Le taux des fumeurs est de 21,70 %, celui des fumeurs prenant des bains chauds régulièrement est de l'ordre de 8,33 %. Les patients non fumeurs prenant des bains chauds régulièrement représentent un taux de 7,5 %, le tabac combiné à l'alcool apparaît avec une proportion relativement très faible, elle est de l'ordre de 0,83 % (Tab. 13).

VIII. Anomalies macroscopiques du spermogramme

Les résultats obtenus consignés dans le tableau 14, ont montré que 69 cas parmi les 120 sujets ont un volume d'éjaculat normal, ils représentent 57,5 % des patients. 40 % des cas se sont révélés hypospermique et uniquement 2,5 % des cas hyperspermique.

Concernant la viscosité nous avons recensé 61,67 % de cas de viscosité normale, 21,67 % de faible viscosité et 16,67 % représentant une forte viscosité.

Pour le pH on note 96,67 % d'éjaculats de pH normal compris entre 7 et 8 et seulement 2,5% de pH alcalin supérieur à 8. un seul cas de pH acide a été enregistré, il représente un taux de 0,83 % .

Mode de vie	NS	TS	AZ	OTS	OTSV	AS	ATS	OAS	OATS	PAS	PATS	effectif	%
R.A.S*	9	7	11	0	2	3	21	2	12	2	5	74	61,7
Tabac	2	4	3	0	0	1	10	0	6	0	0	26	21,7
Bains	1	3	2	1	0	0	1	0	1	0	0	9	7,5
Tabac/Bains	0	1	3	0	0	0	3	0	3	0	0	10	8,33
Tabac/Alcool	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0,83
Total	12	15	19	1	2	4	36	2	22	2	5	120	100

* R.A.S : patients non fumeurs prenant des bains chauds modérément et sans excès.

Tableau 13 : Répartition des sujets selon le mode de vie et les anomalies spermatiques.

Tableau 14 : Fréquence des anomalies macroscopiques du spermogramme.

Volume	Fréquence	%	Viscosité	Fréquence	%	pH	Fréquence	%
< 2	48	40	Normale	74	61,67	< 7	1	0,83
[2 - 6]	69	57,5	Faible	26	21,67	7 - 8	116	96,67
> 6	3	2,5	Forte	20	16,67	>8	3	2,5
Total	120	100	Total	120	100	Total	120	100

IX. Anomalies microscopiques du spermogramme

IX.1. L'agglutinat

les résultats relatifs à l'appréciation de l'agglutinat, tableau 15, montre que ce dernier est absent dans 66,33 % d'échantillons analysés. Cependant, 15,85 % représentent un agglutinat faible, 9,90 % dévoilent une agglutinat modéré et 7,92 % un très fort agglutinat.

Tableau 15 : Fréquence de l'estimation des agglutinats .

Agglutinats	Fréquence	%
0	67	66,33
+	16	15,85
++	10	9,90
+++	8	7,92
Total	101	100

IX. 2. La vitalité

La nécrospérmié est révélée chez 6 patients, comme l'indique le tableau 16, ce qui représente un taux de 5 % sur la totalité de l'échantillon.

La répartition selon les pathologies indique 3 cas de l'oligo-asthéo-tératospérmié et 1cas d'asthéo-tératospérmié, de poly-asthénospérmié de même pour la poly-asthéo-tératospérmié.

Tableau 16 : Répartition de la nécrospermie selon les cas pathologiques.

Pathologie	Nécrospermie
Normospermie	0
Tératospermie	0
Azoospermie	0
Oligotératospermie	0
Oligo-tératospermie sévère	0
Asthénospermie	0
Asthéno-tératospermie	1
Oligo-asthénospermie	0
Oligo-asthéno-tératospermie	3
Poly-asthénospermie	1
Poly-asthéno-tératospermie	1
Total	6

IX. 3. La concentration des spermatozoïdes

Les résultats de la concentration des spermatozoïdes de 120 patients exprimés en moyenne \pm déviation standard sont regroupés dans le tableau 17.

La concentration en spermatozoïdes des éjaculats prélevés à partir des patients étudiés varie sensiblement selon les cas pathologiques. D'après les résultats rapportés dans le tableau 17, pour les normospermies, donc des cas normaux ne représentant aucune pathologie, la concentration moyenne est de l'ordre de 69 millions de spermatozoïdes /ml d'éjaculat. Dans les cas pathologiques cette dernière varie de moins d'un million /ml pour les oligo-tératospermies sévères à plus de 250 millions /ml pour les poly-asthénospermies et les poly-asthéno-tératospermies.

Tableau 17 : la moyenne de la concentration de spermatozoïdes des patients étudiés.

Pathologie	Nombre de cas	Concentration \pm DS ($\times 10^6$ /ml)
Normospermie	12	69,57 \pm 28,44
Tératospermie	15	88 \pm 56,40
Azoospermie	19	0
Oligo-tératospermie	1	9
Oligo-tératospermie sévère	2	0,65 \pm 0,49
Asthénospermie	4	61,45 \pm 27,22
Asthéno-tératospermie	36	74,40 \pm 45,07
Oligo-asthénospermie	2	8,80 \pm 7,92
Oligo-asthéno-tératospermie	22	9,77 \pm 5,99
Poly-asthénospermie	2	248,5 \pm 12,02
Poly-asthéno-tératospermie	5	260,8 \pm 40,97

IX. 4. La concentration des cellules rondes

Les résultats relatifs à la concentration des cellules rondes consignés dans le tableau 18, montrent que 47 cas parmi les 101 sujets étudiés ont une concentration élevée de cellules rondes, ils représentent 46,43 % des patients. Les asthénotératospermies et les oligoasthénotératospermies qui représentent les pathologies les plus rencontrées dans notre étude, ont des taux pathologiques des cellules rondes dans 30,55 % et 95,45 % des cas respectivement. Tandis que 16,66 % des cas est trouvé chez les normospermies et 40 % chez les teratospermies. Tous les cas de l'oligotératospermie et de l'oligoasthénospermie ont des concentrations pathologiques de cellules rondes, alors que ces dernières sont rencontrées dans la moitié des cas de l'oligoteratospermie sévère et la polyasthénospermie, chez 25% des cas de l'asthenozoospermies et chez 20 % des cas de la polyasthénotératospermie.

Tableau 18 : Fréquence de la concentration anormale des cellules rondes selon les cas pathologiques

Pathologie	Nombre de cas	Concentration des cellules rondes > 5%	%
Normospermie	12	2	16,66
Tératospermie	15	6	40
Oligotératospermie	1	1	100
Oligotératospermie sévère	2	1	50
Asthenozoospermie	4	1	25
Asthénotératospermie	36	11	30,55
Oligoasthénospermie	2	2	100
Oligoasthénotératospermie	22	21	95,45
Polyasthénospermie	2	1	50
Polyasthénotératospermie	5	1	20
Total	101	47	46,43

IX.4. Estimation de la mobilité

Les résultats de l'estimation de la mobilité normale des spermatozoïdes de 120 patients examinés sont rapportés en moyenne \pm déviation standard et regroupés dans le tableau 19 :

Tableau 19 : La moyenne de la mobilité normale des cas normaux et cas pathologiques.

Pathologie	Nombre de cas	Mobilité \pm DS
Normospermie	12	60,83 \pm 14,65
Tératospermie	15	63,00 \pm 24,44
Azoospermie	19	0
Oligo-tératospermie	1	52
Oligo-tératospermie sévère	2	64 \pm 14,14
Asthénospermie	4	29,75 \pm 16,63
Asthéno-tératospermie	36	40,06 \pm 16,86
Oligo-asthénospermie	2	38,5 \pm 12,02
Oligo-asthéno-tératospermie	22	32,77 \pm 16,38
Poly-asthénospermie	2	30 \pm 21,21
Poly-asthéno-tératospermie	5	25,40 \pm 16,42

Les résultats obtenus ont montré que chez les cas normaux la mobilité moyenne des spermatozoïdes est de 60,83 %. La plus grande proportion des formes mobiles est enregistrée chez les patients présentant une oligo-tératospermies sévères, elle est en moyenne de 64 %. La plus faible proportion est notée chez les polyasthénospermies, elle est de 25,40 % en moyenne. Dans le cas des oligo-tératospermies la mobilité moyenne est de l'ordre de 52%, elle est légèrement supérieure à 30% chez les individus présentant une oligo-asthénospermie et une oligo-astheno-tératospermie. La mobilité est par contre plus élevée en moyenne dans le cas des astheno-tératospermies par rapport aux asthénospermies, elle est respectivement de 40,06 % et 29,75 %.

X. Spermocytogramme

L'étude cytologique sur la morphologie des spermatozoïdes des éjaculats analysés, à l'exception des azoospermies nous a permis de recenser 81 spermocytogrammes anormaux représentant 80,20 % des spermocytogrammes réalisés. Le reste des échantillons est composés des cas normaux, ils représentent 19,80% (Tab. 20)

Tableau 20 : Fréquence et pourcentage des différents types de spermocytogramme.

Type de spermocytogramme	fréquence	%
Spermocytogramme normal	20	19,80
Spermocytogramme pathologique	81	80,20
Total	101	100,00

La répartition des spermocytogrammes normaux illustrée par la figure 11, indique que la normospermie compose 60% du total des spermocytogrammes suivie de l'asthénospermie avec un taux de 20% et 10% d'oligoasthénospermie de meme pour les polyasthénospermies. Aucun cas d'oligospermie et d'oligospermie sévère n'est rencontré.

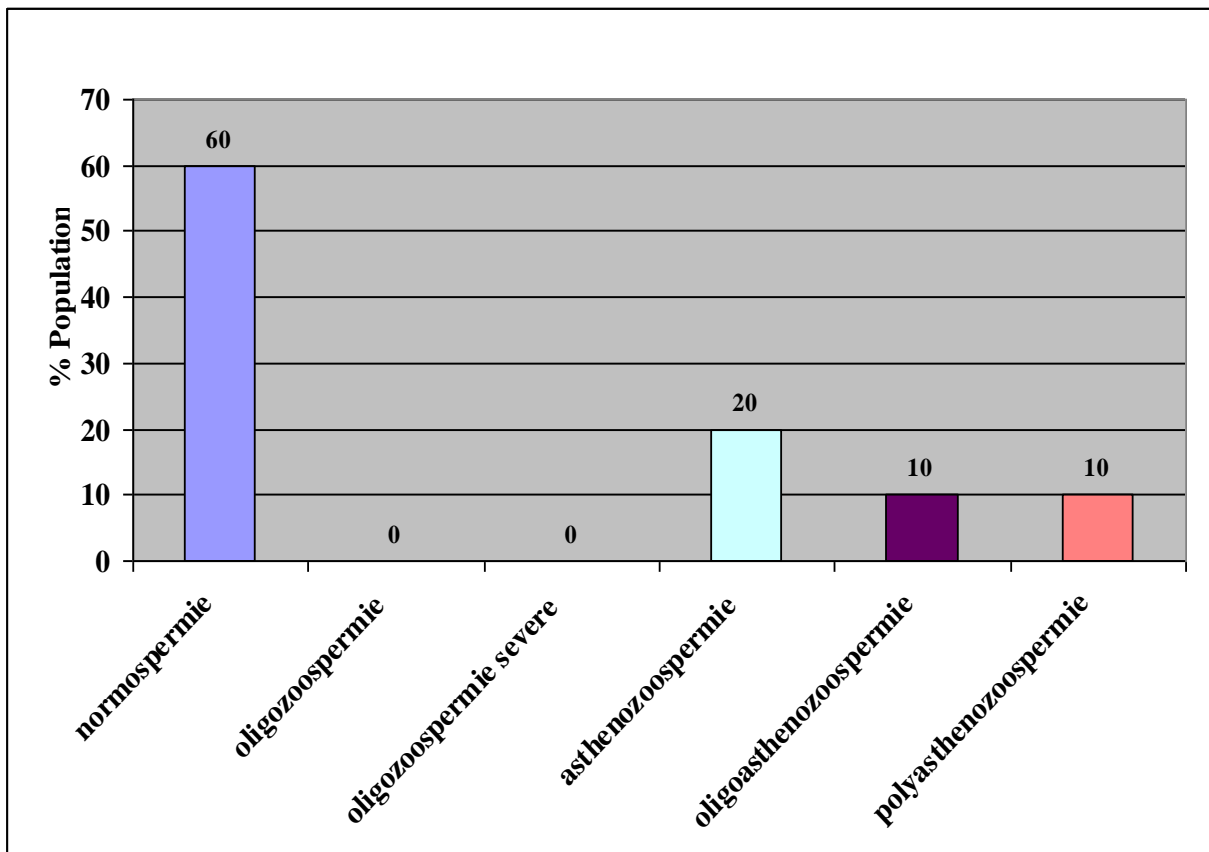


Figure 11 : Répartition des spermogrammes normaux selon les pathologies.

Concernant les spermotocytogrammes anormaux, dont les résultats sont consignés dans le tableau 21 et illustrés par la figure 12, l'asthénotératospermie semble être la pathologie prédominante avec une prévalence de 44,44 %. Par ailleurs, 27,16 % des spermotocytogrammes correspondent à des oligoasthénotératospermies, et 18,52% à des tératospermie. La polyasthénotératospermie, l'oligotératospermie sévère représentent des prévalence relativement plus faibles, elles sont respectivement de 6,17 %, 2,47% et 1,23 %.

L'analyse des fréquences des formes typiques et des formes atypiques des spermatozoïdes, rapportée par l'histogramme figure 13, montre que dans le cas des normospermies les moyennes sont de 56,33 % de formes typiques contre 43,67% de formes atypiques. Tandis que dans le cas des spermocytogrammes anormaux, les oligoasthénotératospermies représentent une moyenne de 75,27 % de formes atypiques, les oligotératospermies avec 71%, l'oligotératospermie sévère 70 %, l'asthénotératospermie 68,91 %, la tératospermie 64,73 % et la polyasthénospermie 62 % de formes atypiques.

Tableau 21 : Fréquence des différents cas pathologiques composant les spermocytogrammes anormaux.

Spermocytogramme tératospermique	fréquence	%
Tératospermie	15	18,52
Oligotératospermie	1	1,23
Oligotératospermie sévère	2	2,47
Asthénotératospermie	36	44,44
Oligoasthénotératospermie	22	27,16
Polyasthénotératospermie	5	6,17
Total	81	100,00

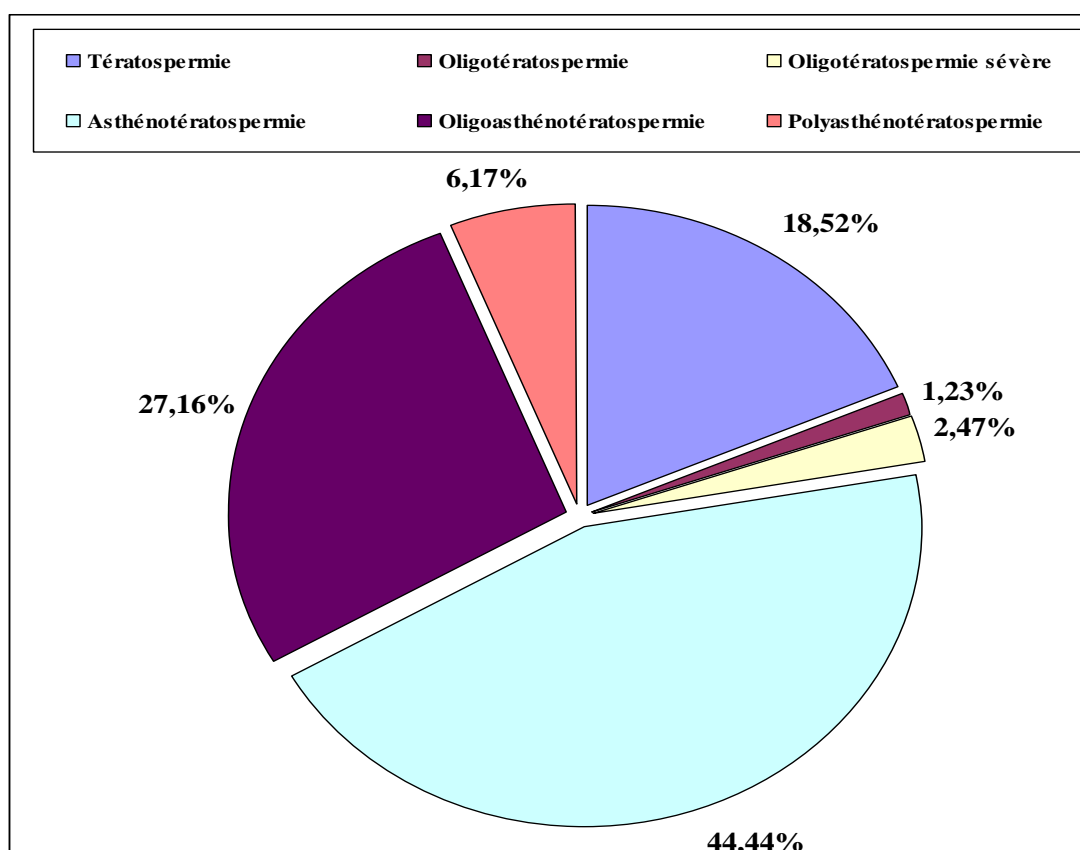


Figure 12 : Répartition des spermocytogrammes anormaux selon les cas pathologiques .

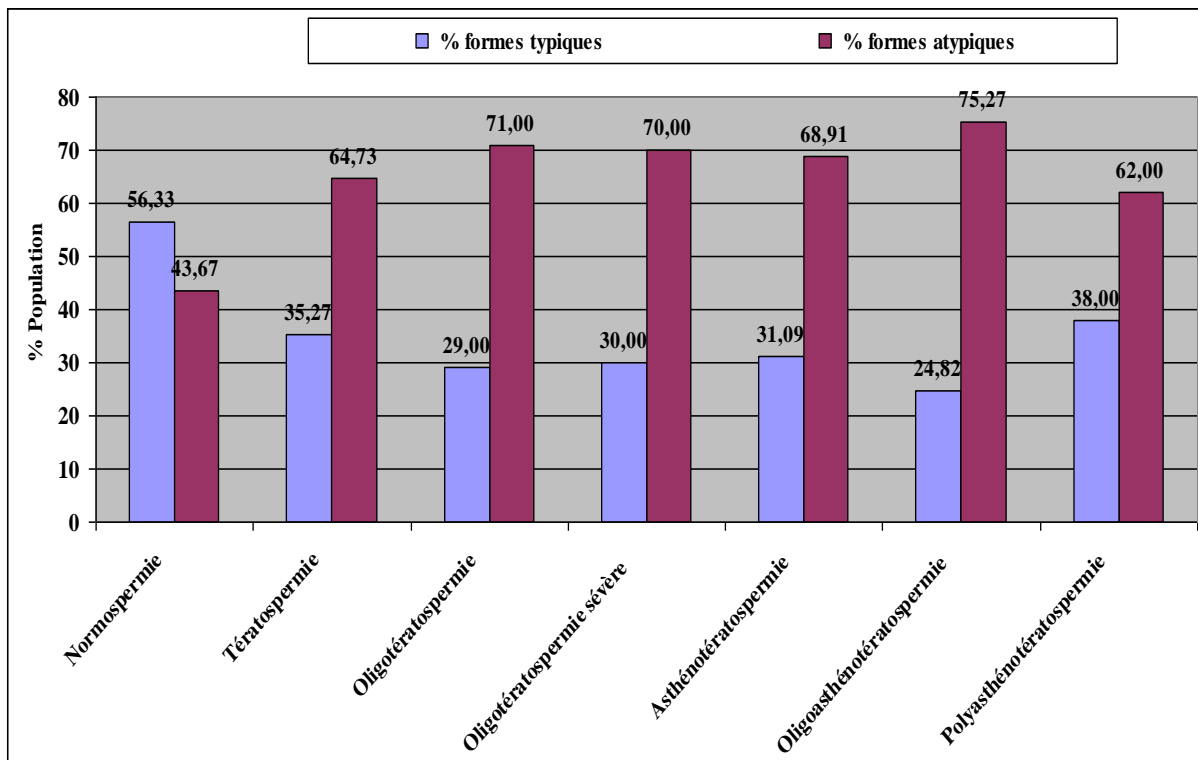


Figure 13 : Moyennes des formes typiques et atypiques selon les cas pathologiques.

Les fréquences relatives aux spermioctogrammes anormaux semblent donc relativement supérieures aux normospermies et ce quelque soit la pathologie associée.

Des moyennes des différentes atypies morphologiques des spermatozoïdes selon les cas pathologiques rencontrés ont été établies. Elles sont rapportées par la figure 14. Les atypies de la pièce intermédiaire semblent être majoritairement présentes dans tous les cas tératospermiques en particulier l'anomalie du reste cytoplasmique (Planche.1), suivie des anomalies de la tête (Planche. 2) et les anomalies du flagelle (Planche. 3).

Les oligoasthénotératospermies et les asthénotératospermies sont les pathologies qui représentent des prévalences les plus élevées des atypies de la pièce intermédiaire, elles sont en moyenne de 16,34 et 14,77. Dans le cas des autres pathologies, les prévalences sont respectivement en moyenne de 13,27 pour les tératospermies, 13 pour les polyasthénotératospermies, 9,5 pour les oligotératospermies sévère et 9 dans le cas des oligotératospermies.

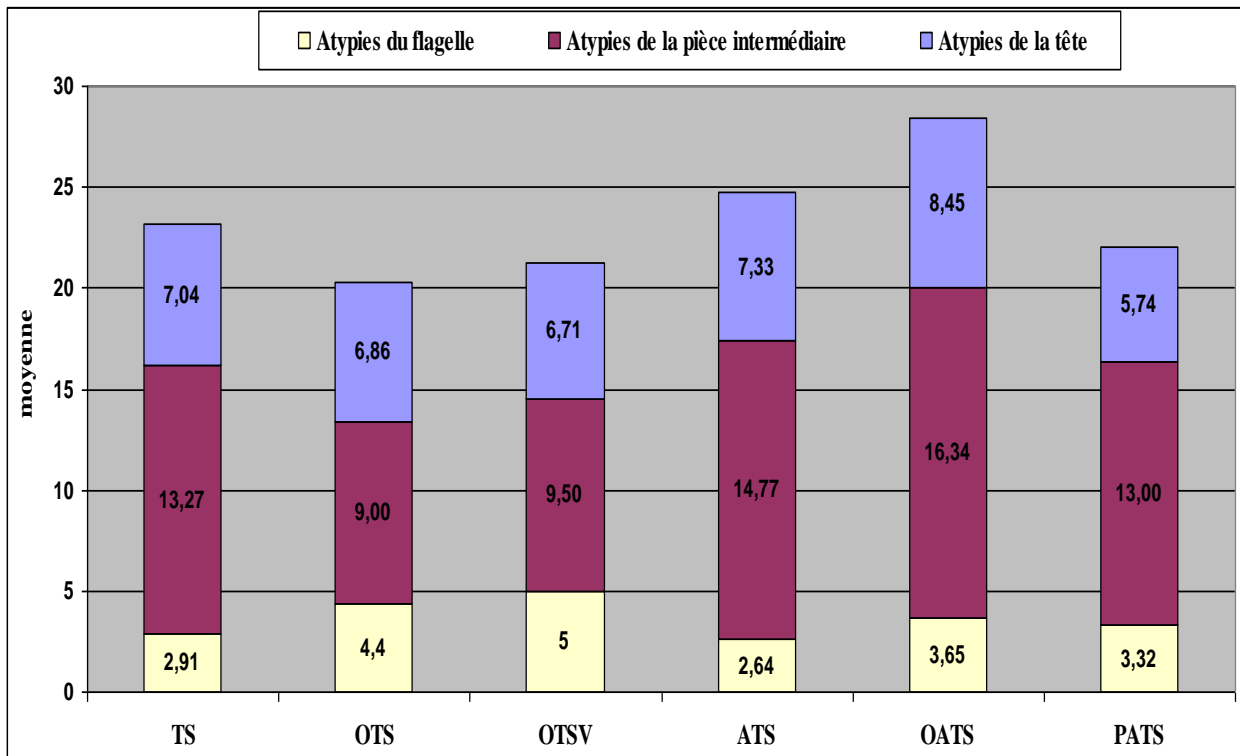


Figure 14 : Moyennes des différentes atypies morphologiques des spermatozoïdes selon les cas pathologiques.

L'analyse de la distribution des fréquences des différentes anomalies des cas atypiques, consignés dans le tableau 22, montre que dans le cas des atypies de la tête l'anomalie de la tête irrégulière est la plus rencontrée avec des moyennes comprises entre 13 et 23 selon les cas pathologiques recensés. Des anomalies de tête amincies et de tête allongée sont aussi enregistrées avec des taux relativement importants, ils sont en moyenne respectivement de 15,85 et 11,41. Tandis que les formes macrocéphales, microcéphales, dupliquées et en lyse représentent des moyennes relativement plus faibles, elles sont en moyenne de 2,80 ; 0,75 et 0,29%.

Par ailleurs, les atypies du flagelle ont dominées par la forme enroulée avec une fréquence moyenne de 15,65. Les moyennes des autres formes sont relativement très faibles, 1,43 de flagelle absent et seulement 0,53 et 0,65 en moyenne de cas de flagelle court et de flagelle dupliqué.

Il est à noter que les oligoasthénotérospermies, les asthénotérospermies et les térospermies sont caractérisées dans les atypies de la tête par, la prédominance des têtes amincies, des têtes irrégulières et des têtes allongées. En plus d'une prévalence importante

enregistrée des atypies de la pièce intermédiaire avec une prédominance de la forme reste cytoplasmique par rapport à l'angulation. Il est à noter aussi le taux moyen appréciable de forme flagelle enroulé. Cependant, les oligotératospermies et les oligotératospermies sévères sont caractérisés par une prévalence relativement plus importante des formes irrégulières dans les atypies de la tête par rapport à celle observée dans autre cas pathologiques, elle est respectivement en moyenne de 23 et 20. Dans les atypies de la pièce intermédiaire la prévalence de l'angulation semble plus importante que celle du reste cytoplasmique. Alors que dans les atypies du flagelle la forme du flagelle enroulé semble la prédominante avec un taux moyen de fréquence respectifs de 21 et 23,50.

Concernant les cas des polyasthénotératospermies, la forme tête irrégulière est celle prédominante dans les atypies de la tête, de même pour la forme reste cytoplasmique dans les atypies de la pièce intermédiaire et enfin la forme du flagelle enroulé dans les atypies du flagelle.

XI. Concentration des protéines totales

Les résultats du dosage de la concentration des protéines totales du plasma séminale des 62 patients exprimés en moyenne \pm déviation standard sont regroupés dans le tableau 23. Ces derniers montre que la teneur en protéines totales du liquide séminale dans le cas des normospermies est en moyenne de l'ordre de 25,33g/l. cette teneur moyenne semble très proche de celle de certains cas pathologiques à savoir la tératospermie avec une concentration moyenne de $24,03 \pm 3,72$ g/l, l'azoospermie dont la teneur moyenne est de $24,25 \pm 4,64$ g/l et l'asthénotératospermie avec une concentration moyenne de $23,69 \pm 4,49$ g/l. Dans les autres cas pathologiques la concentration en protéines totales du plasma séminal semble relativement plus faible surtout dans les cas des polyasthénospermies et des oligotératospermies avec des teneurs respectives de 19,50 g/l et 18,50 g/l.

Par ailleurs, une comparaison intra-pathologique révèle que le taux des protéines totales du plasma séminal, semble légèrement plus élevé quand la tératospermie est présente, à l'exception des oligoasthénotératospermies par rapport aux oligoasthénospermies où note pas de différence remarquable dans les teneurs.

Le traitement statistique grâce au logiciel Statistica. V6, dont le résultats sont illustrés en figure 15. L'analyse de la variance au niveau $\alpha = 0,05$ révèle que les différences dans la teneurs en protéines totales de l'ensemble des cas étudiés sont non significative ($p = 0,193$).

Comme nous n'avons trouvé aucune corrélation significative ente le taux en protéines totales et les concentrations en spermatozoïdes.

Anomalie		TS	OTS	OTSV	ATS	OATS	PATS	Moyenne
Atypies de la tête	Allongée	14,67	8,00	6,50	15,46	15,05	8,80	11,41
	Amincie	15,20	16,00	18,00	17,02	21,27	7,60	15,85
	Macrocéphale	1,80	1,00	2,50	2,54	3,14	5,80	2,80
	Microcéphale	1,33	0,00	0,00	2,24	0,91	0,00	0,75
	Irrégulière	15,33	23,00	20,00	13,46	17,86	16,80	17,74
	Dupliquée	0,27	0,00	0,00	0,35	0,73	0,40	0,29
	en lyse	0,40	0,00	0,00	0,22	0,18	0,80	0,27
Atypies de la pièce intermédiaire	reste cytoplasmique	17,20	5,00	8,50	15,80	18,00	13,80	13,05
	angulation	9,33	13,00	10,50	13,74	14,68	12,20	12,24
Atypies du flagelle	absent	1,47	1,00	0,50	1,43	2,18	2,00	1,43
	court	0,53	0,00	1,00	0,67	0,59	0,40	0,53
	enroulé	11,27	21,00	23,50	11,00	12,91	14,20	15,65
	Dupliquée	1,27	0,00	0,00	0,11	2,55	0,00	0,65

Tableau 22 : Distribution de fréquences des différentes anomalies des formes atypiques.

Tableau 23 : Concentration moyenne en protéines totales du liquide séminal des cas étudiés.

pathologie	Nombre de cas	Concentration \pm DS g/l
Normospermie	4	25,33 \pm 2,60
Tératospermie	6	24,03 \pm 3,72
Azoospermie	10	24,25 \pm 4,64
Oligotératospermie	1	18,50
Oligotératospermie sévère	2	21,25 \pm 1,77
Asthénozoospermie	3	20,27 \pm 0,46
Asthénotératospermie	18	23,69 \pm 4,49
Oligoasthéno spermie	2	20,50 \pm 2,12
Oligoasthénotératospermie	12	20,89 \pm 2,07
Polyasthéno spermie	1	19,50
Polyasthénotératospermie	4	21,05 \pm 2,02

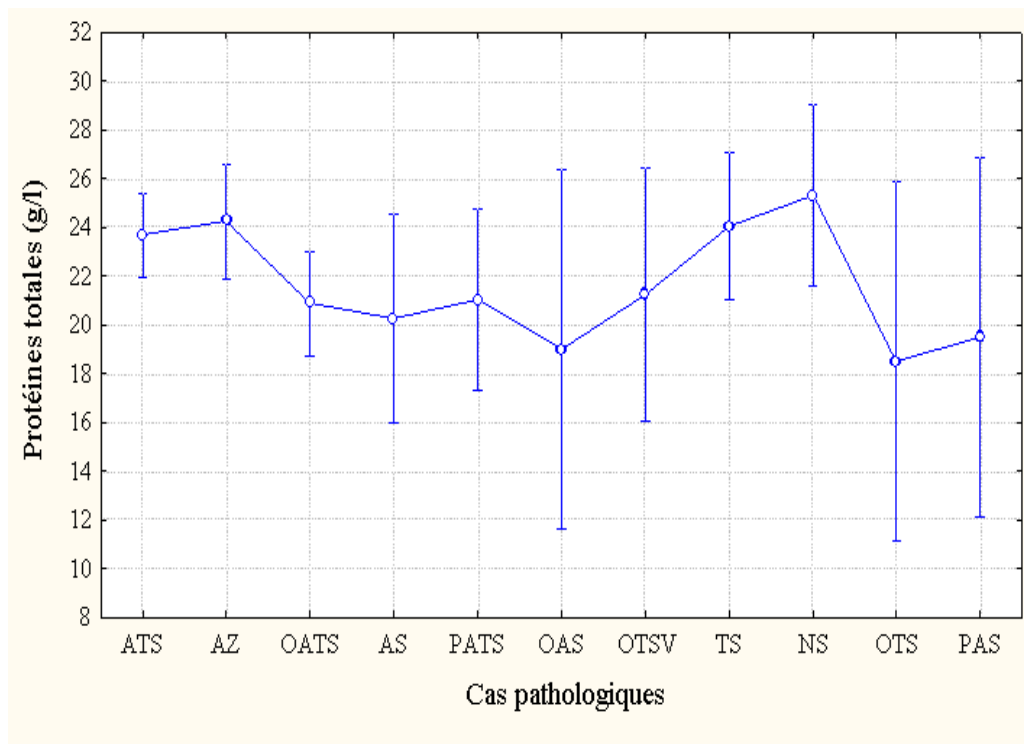


Figure 15 : Analyse de la variance de taux des protéines totales entre les cas pathologiques.

Effet courant : Test Fischer $F(10, 51) = 1,4325$. probabilité de signification $p = 0,19317$.

Décomposition de l'hypothèse efficace

Les barres verticales représentent les intervalles de confiance à 0,95

XII. Electrophorèse des protéines du liquide séminal sur gel polyacrylamide

Les profils électrophorétiques des protéines totales du liquide séminal, réalisés sur l'ensemble des échantillons étudiés en présence et absence d'un réducteur, sont rapportés en figure 16.A et 16.B. Aussi, vu la viscosité élevée de certains échantillons, nous avons retenu les profils obtenus en présence du réducteur (Fig. 16.B) qui donnent de meilleurs migration des fractions protéiques et une meilleur séparation des bandes, permettant ainsi de meilleurs interprétation des résultats.

L'établissement d'un patron général recensant la totalité des bandes visibles de l'ensemble des profils électrophorétiques obtenus à partir des échantillons analysés, nous a permis de détecter 41 bandes numérotées dans un ordre croissant selon le sens de la migration. Dans le cas des normospermies le profil électrophorétique révèle la présence de 38 bandes sur les 41 bandes recensées.

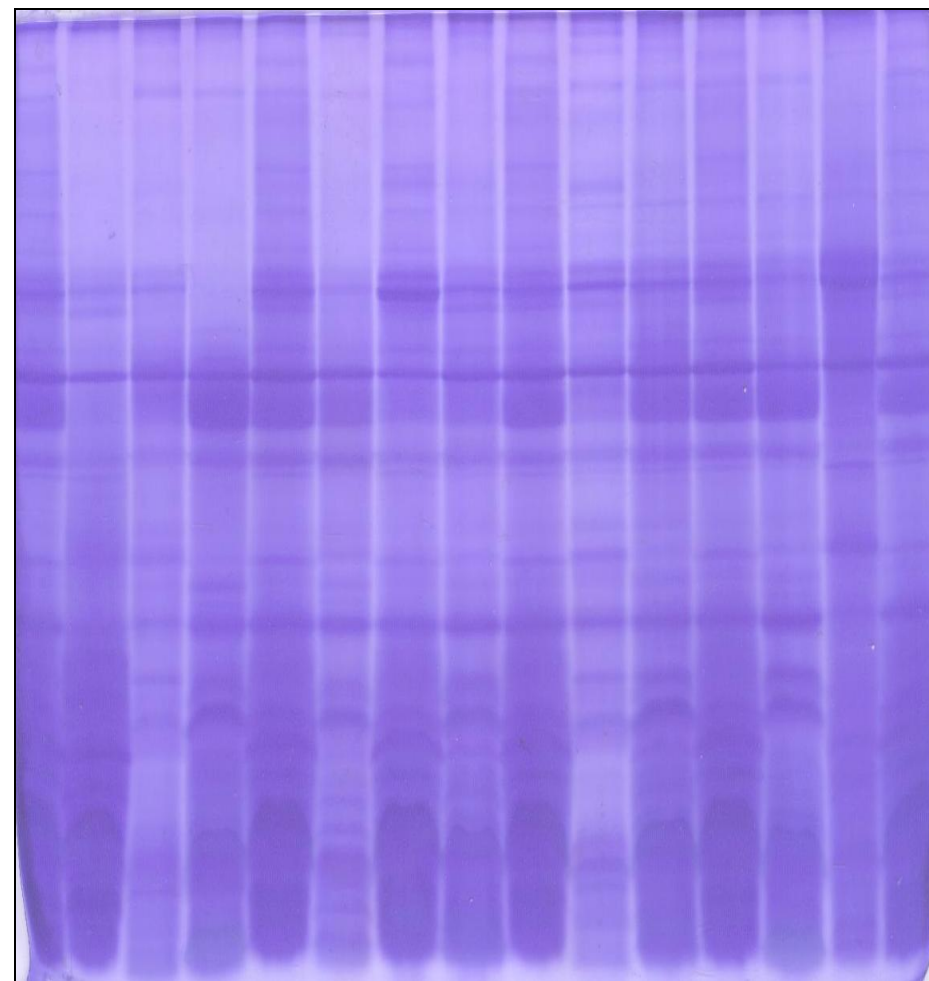
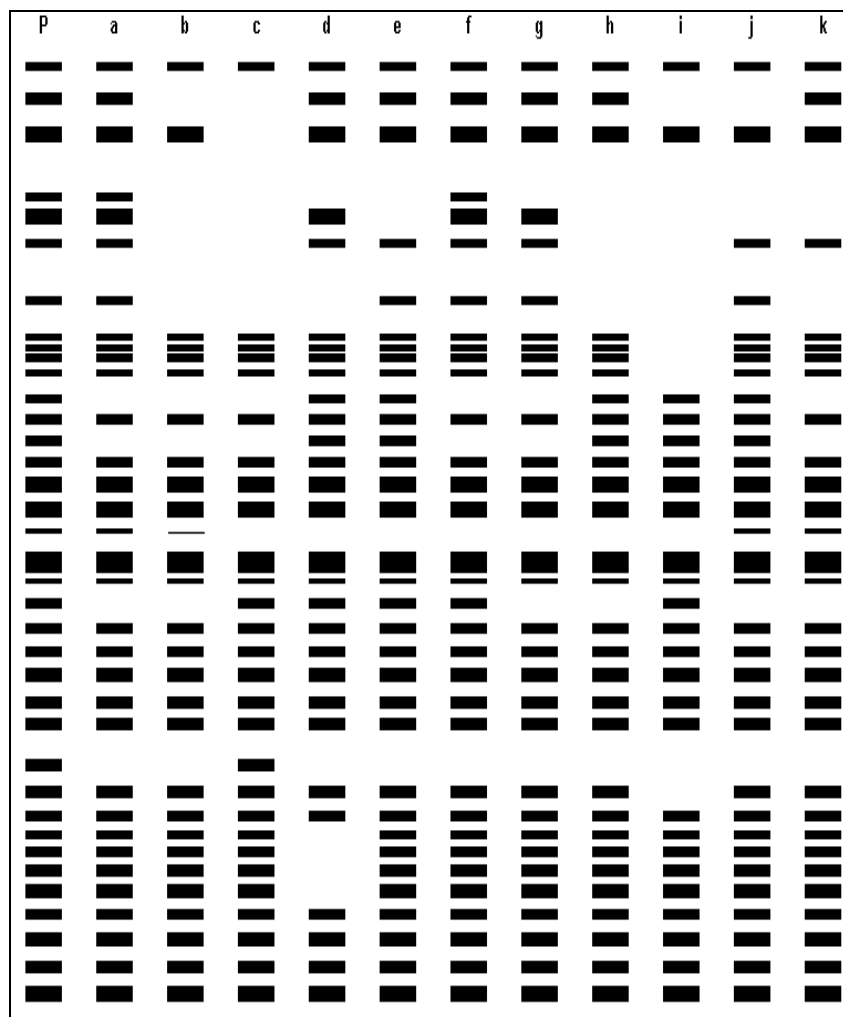
Les patrons correspondant aux cas d'oligoasthénospermie et polyasthénotératospermie semblent représenter des patrons identiques à celui de la normospermie avec le même type et le même nombre de bandes à savoir 38 bandes sur 41 bandes correspondant au patron général. Par ailleurs, concernant les autres cas pathologiques, les résultats montrent que ces derniers sont caractérisés par la présence et/ou l'absence de bandes caractéristiques, comparés au patron électrophorétique relatif à la normospermie. Ainsi, les cas d'oligotératospermie, l'oligo-asthénotératospermie et la polyasthénospermie présentent le même profil électrophorétique avec l'absence de la bande n° 2.

L'asthénospermie et oligo-tératospermie sévère présentent le même profil avec l'absence commune des bandes n° 9 et n° 10.

Dans le cas de l'asthénotératospermie on note aussi l'absence de deux bandes dont l'une est différente que dans les cas pathologiques précédents, il s'agit des bandes numero 5 et 9.

Pour la tératospermie on note l'absence de trois bandes à savoir la bande n° 5, la bande n°8 et la bande n° 9.

En plus de l'absence des bandes 5, 8, 9 et 10, dans le cas de l'azoospermie, cette dernière est caractérisée par l'absence des bandes 1 et 6 et la présence de bandes exclusives à ce cas pathologique. Il s'agit des bandes portant les numéros 23, 24 et 25.



Sens de migration
↓

Figure 16. A : SDS PAGE sans réduction des protéines du liquide séminal.

P : Patron général. a : Normospermie ; b : Tératospermie ; c : Azoospermie ; d: Oligotératospermie ;
 e : Oligotératospermie sévère ; f: Asthénospermie ; g : Asthénotératospermie ; h : Oligoasthénospermie ;
 i : Oligoasthénotératospermie ; j : Polyasthénospermie ; k : Polyasthénotératospermie.

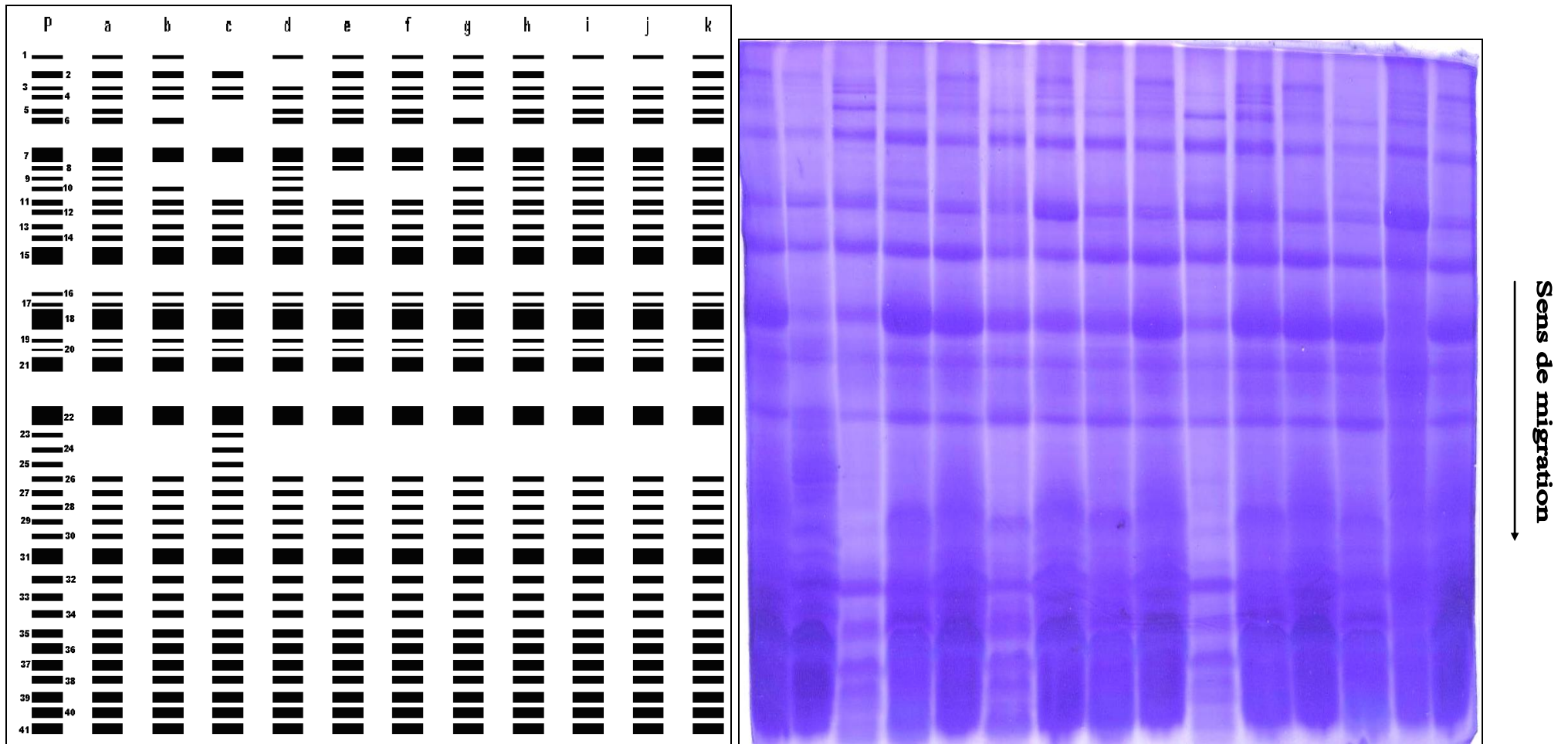


Figure 16. B : SDS PAGE avec réduction des protéines du liquide séminal.

P : Patron général ; a : Normospermie ; b : Tératospermie ; c : Azoospermie ; d : Oligotératospermie ;
 e : Oligotératospermie sévère ; f : Asthénospermie ; g : Asthénotératospermie ; h : Oligoasthénospermie ;
 i : Oligoasthénotératospermie ; j : Polyasthénospermie ; k : Polyasthénotératospermie.

DISCUSSION GENERALE
CONCLUSION

L'aspect général de la population étudiée indique que le taux élevé des cas consultants pour une infertilité primaire par rapport au taux des infertilités secondaires peut s'expliquer par le contexte social et la tendance qu'auraient les couples n'ayant pas d'enfant à consulter plus souvent que les autres pour traiter leur infertilité.

Les résultats relatifs aux normes du spermogramme et du spermocytogramme nous ont permis de révéler l'importante proportion des cas pathologiques (90 %) par rapport aux cas normaux (10 %) dans l'échantillon étudié. Ce qui indique une importante prévalence de l'infertilité masculine dans le Constantinois, comme ailleurs dans différentes régions en Algérie où d'autres études similaires ont été effectuées. La différence constatée entre nos résultats et les résultats d'autres études rapportées par la littérature, pourrait s'expliquer d'une part, par les critères de diagnostic des anomalies spermatiques qui ne sont pas les mêmes. Dans l'étude menée par Thonneau et *al* (1991) l'auteur considérait que la fécondité était comme normale si la numération des spermatozoïdes était supérieure à 5 millions /ml, la mobilité supérieure à 40 % à la première heure et le pourcentage de formes normales supérieure à 40 % ce qui est différent aux normes et aux critères de classification adoptés par notre laboratoire et aussi avec ceux établies par l'OMS. D'autre part par la variabilité et la fluctuation considérable de la concentration, la mobilité et la morphologie des spermatozoïdes à la fois intra et inter-individuelle. En plus l'évaluation des paramètres spermatiques peut être très subjective et sujette aussi à des variabilités intra et inter-laboratoire, ce qui a été confirmé par plusieurs études qui ont montré des variations notables dans la détermination des caractéristiques spermatiques inter et intra laboratoires liées à la diversité des moyens utilisés (Fédération CECOS, 1997 in Attias et *al.*, 2002). Par ailleurs, le pouvoir prédictif des valeurs seuils et normales du sperme n'est pas absolu, car il y a un certain degré de chevauchement entre les populations des hommes fertiles et infertiles (Aziz et Agarwal, 2008).

Auger et *al* (1997) ont rapporté que dans certaines études, les méthodologies employées, les paramètres inclus et les techniques d'analyses, auraient pu être des facteurs déterminants dans les résultats observés. Dans la plupart des études, les populations ne sont pas bien définies. L'homogénéité de groupes d'études, le mode de recrutement et le statut de fertilité ne sont pas détaillés. Des facteurs importants pouvant influencer les caractéristiques spermatiques et moduler la concentration n'étaient pas pris en compte comme covariables. Essentiellement, l'âge du donneur, la durée d'abstinence sexuelle avant le recueil, étaient pris en compte différemment d'une étude à l'autre.

une étude effectuée à Paris et réalisée par Auger et *al.* en 1995 a indiqué une diminution annuelle de 2,6% dans les spermatozoïdes des hommes fertiles au cours des 20 dernières années et une baisse de 0,3% dans la motilité et de 0,7% en morphologie normale. Toutefois, les résultats dans le département de Toulouse (France) signalés par Bujan et *al.* en 1996 n'ont démontré aucun changement de la concentration des spermatozoïdes. Cela pourrait s'expliquer par des différences dans l'environnement et le mode de vie parce que la pollution industrielle devrait être plus élevée à Paris qu'à Toulouse. Plusieurs causes ont été signalées comme facteurs d'infertilité masculine. Toutefois, la plupart restent peu concluantes. Cela pourrait s'expliquer par des différences dans les définitions de l'infertilité et par les différentes méthodes d'analyse utilisées pour l'étude du sperme. Ainsi dans une discutable méta-analyse, Carlsen et *al.* en 1992 a observé un déclin dans le monde entier en spermatozoïdes au cours des 50 dernières années. Les critiques de cette méta-analyse portent, en plus des biais de sélection qui se produisent dans les 61 études analysées, sur les différences dans la durée d'abstinence, les différences démographiques, les différences d'échantillon de la collecte, le traitement du sperme, et les analyses utilisées dans ces études.

Les résultats liés à l'âge de la population étudiée indiquent que les tranches d'âges (30 - 35) et (36 - 40) ans constituent à eux seuls plus de la moitié de l'échantillon (55,84 % des cas), alors que nous avons enregistré de faible taux de consultation au-delà de 45 ans. Ceci peut s'expliquer par le début de l'âge de la ménopause du conjoint, et d'autre part, la préférence des couples de concevoir des enfants avant cet âge. De plus avec l'âge le comportement se modifie, le rythme et la qualité des rapports diminuent et parfois des facteurs de mode de vie ou d'environnement interfèrent avec les paramètres précédents (Humeau, 1995).

Dans la littérature on rapporte plusieurs arguments qui expliquent le déclin de la fertilité avec l'âge, ainsi la production testiculaire des spermatozoïdes est très basse chez les hommes de 16 à 18 ans et atteint un maximum entre 20 et 30 ans (Jouannet, 1984). Une étude réalisée par le même auteur en 1983 sur 64 hommes de plus de 50 ans comparés à un effectif très important d'hommes de moins de 50 ans, montre les différences dans le pourcentage de spermatozoïdes mobiles (55% avant 50 ans contre 32% après 50 ans), dans le pourcentage de formes normales (47% contre 31%), mais aussi dans la concentration (70 millions contre 46 millions), différences qui sont également significatives (Humeau, 1995). L'homme vieillissant est confronté à une diminution progressive de sa fonction testiculaire exocrine et endocrine ayant pour conséquence une baisse de sa fertilité. Le vieillissement masculin est marqué par des altérations de l'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire. Indépendamment de phénomènes pathologiques, on observe une diminution très progressive de la testostérone

plasmatique. Si cette baisse est principalement due à une atteinte testiculaire périphérique, il existe aussi un dysfonctionnement de l'axe gonadotrope comme le prouvent la diminution de la réponse à l'HCG et la diminution de la sécrétion pulsatile de LH (Wagner., 2004). Le vieillissement s'accompagne également d'une hypotrophie testiculaire (Hermann et *al.*, 2000) et une diminution du nombre des cellules de Leydig et les cellules de Sertoli, ce qui réduit la sécrétion de testostérone et la production des spermatozoïdes (Vermeulen et *al.*, 1995).

La spermatogenèse augmente au cours de la puberté et atteint une phase de plateau à l'âge de 55 ans, et décroît ensuite (Junqueira et *al.*, 1989) ce qui a été confirmé par Levitas et *al.*(2007) qui ont conclu après l'étude du sperme de 6022 hommes qu'il y a une relation inverse entre le volume et la qualité du sperme avec l'âge du patient, et que les paramètres spermatiques étaient au optimum entre 30 et supérieur à 35 ans cependant, il y a un fort déclin significatif après 55 ans.

Le vieillissement masculin semble globalement responsable d'un déclin de la fertilité. Cependant, comme pour le déficit androgénique, la dégradation de la fertilité n'est pas un phénomène obligatoire et certains patients conservent pendant très longtemps une fertilité normale (Wagner, 2004) .

La relation entre les pathologies recensée dans notre étude et l'activité professionnelle met en évidence une prédominance de l'asthéo-tératospermie, l'oligo-asthéo-tératospermie l'azoospermie et la tératospermie chez certaines classes professionnelles. Ce qui nous laisse suggérer qu'il y a un lien entre l'existence de l'anomalie spermatique et la profession donc la présence d'un facteur de risque professionnel.

Il a été démontré à travers plusieurs études qu'il existe une forte corrélation entre la température scrotale et la durée de la position sédentaire d'une profession (Hjollund et *al.*, 2002) ce qui nous conduit à dire que les fonctionnaires administratifs, catégorie professionnelle la plus touchée par les perturbations spermatiques dans notre étude, sont exposés à un facteur de risque significatif de manière constante et permanente due à la chaleur causé par la position assise prolongée. Ainsi Il a été rapporté que deux heures de conduite élèvent la température scrotale de 1,7 °C à 2,2 °C, les chauffeurs peuvent être à ce titre exposés à un retentissement sur la fertilité (Bujan, 2000). Dans une étude rétrospective menée par Thonneau et *al.*(1997) sur 402 couple fertiles a rapporté que le temps requis pour achever une grossesse est significativement augmenté de 4,5 mois pour un groupe de conducteurs professionnels (> 3 heures /jour) contre 2,8 mois pour des hommes non exposés.

D'autres auteurs notent que chez les hommes exposés à de hautes températures, il y a une plus grande proportion de couples sans enfant, de plus grandes difficultés à concevoir et sur le

plan biologique, une diminution de la mobilité des spermatozoïdes. Par ailleurs, une autre étude en France a montré, chez des hommes consultant pour infécondité, un pourcentage important d'hyperthermie scrotale associée à des altérations de la spermatogenèse (Thonneau et Bujan, 1993 ; Bujan *et al.*, 1988).

les agriculteurs et les travailleurs du domaine agro-alimentaire risquent aussi d'avoir leur fertilité diminuée à cause de l'exposition et l'utilisation des pesticides, plusieurs auteurs ont montré l'atteinte spécifique du 1, 2- dibromo-3-chloropropane (DBCP) au niveau des tubes séminifères. (Attias *et al.*, 2002). De Celis *et al.*, 2000 a trouvé chez des hommes exposés à des composés hydrocarbonés tels que l'éthylbenzène, benzène, toluène, et xylène une augmentation des anomalies spermatiques comprenant les altérations de la viscosité, la capacité de liquéfaction, nombre des spermatozoïdes, la mobilité et la proportion des spermatozoïdes morphologiquement normaux. Ses altérations sont corrélés avec le nombre d'années d'expositions aux composés hydrocarbonés. De plus l'exposition professionnelle à des métaux lourds comme le plomb et le cadmium sont connues pour être spermatotoxique (Tas *et al.*, 1996). Chez le rat, l'administration à long terme du cadmium dans l'alimentation induit des altérations pathologiques dans les testicules avec une perte de la capacité de reproduction (Saxena *et al.*, 1989 ; Saygi *et al.*, 1991). Hsu *et al.*(1997) a conclu que l'exposition au plomb affecte probablement la fonction du sperme par l'activation d'une des voies de la génération des espèces réactives de l'oxygène (ROS).

Les résultats liés aux antécédents urogénitaux dévoilent une fréquence élevée des antécédents d'origine infectieuse, de cryptorchidie et de la varicocèle et leur relation avec des perturbations observées dans les paramètres du spermogramme et spermocytogramme. En effet, les infections sont la source d'infertilité chez 10% à 20% des patients (Aziz *et al.*, 2004a) où nombreux germes peuvent être en cause (Gram -, Gram + et mycoplasmes) en plus des causes favorisantes, tels que les maladies sexuellement transmissibles ou antécédent de sondage urinaire (Pontonnier et Bujan., 1993). Elle sont suspectées devant une leucospermie (Aziz *et al.*, 2004a) qui peut être le reflet d'un processus inflammatoire (lithiase prostatique, séquelle d'infection) (Barthélemy et Hammamah., 1997) ou d'une abstinence trop longue qui provoque un chimiotactisme sur les leucocytes engendré par le vieillissement des spermatozoïdes (Wolff, 1995). Le mode d'action des leucocytes sur les germes se fait par la sécrétion de leurs granules, est de produire des radicaux libres nécrosant les agents pathogènes. Les radicaux libres extrêmement instables sont particulièrement toxiques par les processus oxydatifs qu'ils entraînent (Iwasahi et Gagnon, 1992 ; Aitken *et al.*, 1991).

Les leucocytes sont présentes tout au long de l'appareil reproducteur mâle et on les retrouve dans presque tous les éjaculats de l'homme (El-Dimiry et *al.*, 1987). Physiologiquement, la plupart des leucocytes semblent provenir de l'épididyme (Wolff, 1995) et on pense qu'elles jouent un rôle important dans l'immunosurveillance (Pudney et Anderson, 1993 ; Kiessling et *al.*, 1995) et la phagocytose par l'élimination des spermatozoïdes anormaux (Tomlinson et *al.*, 1992). Les granulocytes sont les leucocytes les plus abondantes dans le sperme (50% à 60%), suivis par les macrophages (20% à 30%) et les lymphocytes T (2% à 5%) (Aziz et *al.*, 2004a).

Le rôle de leucospermie dans la pathogenèse de l'infertilité masculine reste controversé malgré son incidence relativement élevée. Parmi les études effectuées qui montrent une aggravation des paramètres spermatiques par les leucocytes est celle de Wolff et *al.* (1990) qui ont constaté que la leucospermie a été corrélée avec une baisse importante du nombre total de spermatozoïdes (- 41%), du pourcentage des spermatozoïdes mobiles (- 22%), de la vitesse des spermatozoïdes (- 12%) ainsi que le nombre total des spermatozoïdes mobiles (- 66%) ou encore la détérioration de la morphologie normale des spermatozoïdes (Berger, 1982 ; Menkveld et *al.*, 1998). Toutefois dans d'autres études, il n'a pas été trouvé de corrélation entre les taux de leucocytes, la qualité du sperme et la présence de microorganismes (Wong et *al.*, 2000). D'autre part il a été rapporté que des sujets présentant une leucospermie peuvent être fertiles (Tomlinson et *al.*, 1993). Une association entre la leucospermie et une proportion plus élevée de la morphologie normale des spermatozoïdes dans le sperme provoquée par l'élimination des spermatozoïdes anormales par les phagocytes a été signalée (Kiessling et *al.*, 1995 ; Tomlinson et *al.*, 1992). Enfin, certains chercheurs ont indiqué que les patients avec grande leucospermie ($> 2 \cdot 10^6/\text{mL}$) ont montré une amélioration dans le sperme la mobilité (Aziz et *al.* 2004a).

La cryptorchidie est la cause chez 10 % des sujets consultant pour infertilité. Il s'agit des sujets traités de façon tardive ou encore de tentatives d'abaissement chirurgical ayant échoué (Hazard et Perlemuter, 2000). L'infécondité chez les patients ayant un antécédent de cryptorchidie a été étudiée par rapport à des témoins. Elle est deux fois plus fréquente en cas d'antécédent de cryptorchidie unilatérale et multipliée par 6 en cas de bilatéralité. La spermatogenèse est abolie si les testicules ne sont pas en position scrotale au moment de la puberté et la disparition des spermatogonies est liée à la température plus élevée à laquelle les testicules sont soumis. Tous les cas de testicules non palpables bilatéraux s'accompagnent d'une azoospermie (Blanc et Porcu 2002). Expérimentalement Absalan et *al.* (2008) en étudiant l'effet de la température abdominale sur des souris cryptorchidiques ont trouvé que les hautes températures causent une dégradation dans tous les paramètres due probablement à

l'apoptose se manifestant par l'arrêt de la spermatogenèse, la diminution du poids testiculaire, le diamètre des tubules séminifères et les paramètres du sperme épидидymaire. Cette dégradation augmente significativement chez les souris atteintes de cryptorchidie bilatérale par rapport à la cryptorchidie unilatérale. L'étiologie exacte de la cryptorchidie est inconnue mais on suggère que les anomalies de l'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire peuvent être mises en cause (Wong *et al.*, 2000).

La varicocèle est présente dans 5% à 15% de la population générale et dans 30% à 40% des hommes infertiles (Mazumdar et Levine., 1998), son incidence dans l'infertilité secondaire est de 70 % à 80 %. Une altération de la spermatogenèse, traduite par une oligo-asthénotéatospermie avec spermatozoïdes de forme allongée et amincie avec de nombreuses cellules germinales, est présente chez 60 % des porteurs de varicocèles (Izarín et Jardin, 1993 ; Hazard et Perlemuter, 2000). Il a été rapporté que les patients avec une varicocèle ont un nombre réduit de spermatozoïdes fonctionnels, une faible mobilité et vitalité, une faible intégrité de la membrane et de l'acrosome. Ces anomalies ne sont pas liées au grade de la varicocèle, du volume testiculaire ou de la concentration sérique de FSH (Villanueva-Díaz *et al.*, 1999). La varicocèle compromet le système de régulation thermique du testicule. Elle est caractérisée par une stase veineuse, un stress thermique, hypoxie et l'accumulation des métabolites toxiques dans les testicules qui conduisent à l'élévation de production de molécules réactives d'oxygène et l'apoptose durant les stades spécifiques de la spermatogenèse. (Gwo-Jang Wu *et al.*, 2009).

Le traumatisme chirurgical est responsable de la présence des anticorps anti-spermatozoïdes dans 50 à 70 % des hommes vasectomisés (Alexander, 1977).

De plus, la chimiothérapie antiméiotique et la radiothérapie peuvent provoquer une stérilité par leur effet létal sur les cellules germinales, et des mutations génétiques potentiellement responsables de problèmes de reproduction. Ces effets secondaires ne se manifestent parfois que de nombreuses années après le traitement chez l'homme, Elle peut également provoquer parfois une stérilité transitoire ou définitive, l'atteinte dépendant de la dose reçue par les gonades : les cellules qui se divisent souvent sont les plus sensibles, mais de fortes doses d'irradiation peuvent détruire également les spermatogonies souches. Mais la sensibilité individuelle semble variable et on observe des récupérations parfois très tardives de la spermatogenèse, et des grossesses spontanées malgré une oligospermie sévère. Le risque gonadique est nul après une radiothérapie sus-diaphragmatique (la dose reçue par les testicules est < 0,1%), le problème se pose surtout pour des irradiations sous-diaphragmatiques et surtout pelviennes (Marmor, 2001).

Concernant le mode de vie, les différentes études menées sur les répercussions du tabac sur la fertilité masculine mettent en évidence une diminution de la qualité du sperme chez les fumeurs. (Sepaniak *et al.*, 2005 ; et 2006). Selon une méta-analyse de 27 études portant notamment sur l'association entre le tabagisme et la qualité du sperme, il a été signalé chez les fumeurs une réduction moyenne de la concentration de spermatozoïdes de 13%, de la motilité des spermatozoïdes de 10% et de spermatozoïdes morphologiquement normaux de 3% (Pasqualotto, 2008). En effet, les composants de la fumée de cigarette passent la barrière hémotesticulaire et entraînent de ce fait une altération des paramètres spermioles et de la qualité du noyau des spermatozoïdes. Les mécanismes physiopathologiques en cause ne sont pas encore clairement établis, mais il semble que le stress oxydatif généré par le tabac soit une des hypothèses les plus probables. Il en résulte essentiellement une fragmentation de l'ADN qui compromet les chances de grossesse (Sepaniak *et al.*, 2005 ; et 2006). En effet, des études menées chez le rat ont montré qu'une exposition chronique à la nicotine entraîne une atrophie testiculaire (diminution du volume testiculaire, atrophie des tubes séminifères) et altère la spermatogenèse (Weisberg., 1985). Une étude en microscopie électronique des spermatozoïdes chez 29 fumeurs et 15 non-fumeurs a montré que le tabac provoquait des anomalies structurales du flagelle, essentiellement au niveau de l'axonème. Chez les fumeurs, l'anomalie la plus fréquemment isolée est la disparition d'un ou plusieurs doublets périphériques de microtubules, ou du doublet central, entraînant une diminution de la mobilité, voire une immobilité totale (Zavos, 1998).

le tabac entraîne une augmentation de la tératospermie, portant plus particulièrement sur la tête des spermatozoïdes. De telles anomalies sont associées à une augmentation des risques d'infertilité (Sepaniak *et al.*, 2005).

Ainsi les prévalences remarquables des atteintes spermiques chez les patients prenant des bains chauds régulièrement et particulièrement chez les fumeurs représentant la catégorie (tabac /bains), notés dans notre étude, corroborent celles rapportées dans plusieurs travaux.

Thonneau et Bujan (1993) ont rapporté que l'augmentation artificielle prolongée et modérée, quelques degrés, de la température scrotal entraîne des anomalies puis un arrêt de la spermatogenèse. Carlsen *et al* (2003) en analysant l'effet des antécédents d'un état fébrile sur la qualité du sperme de 15 hommes qui ont vécu un ou plusieurs épisodes fébriles a trouvé que la concentration des spermatozoïdes, la morphologie et la motilité ont été sensiblement affectés par la fièvre, en particulier pendant la période de la spermiogenèse. Mieusset et Bujan. (1995) suggèrent que la température affecte l'activité de plusieurs enzymes et modifie la composition lipidique de la membrane.

les résultats liés aux anomalies macroscopiques des spermogrammes indiquent que sur un total de 120 patients 40 % présentent une hypospermie et 2,5 % une hyperspermie. Le taux de patients révélant une faible viscosité est de 21,67 % alors que 16,67 % présentent une forte viscosité. Par ailleurs, un pH alcalin est noté chez 2,5 % des patients, tandis que 0,83 % présentent un pH acide.

Un volume insuffisant peut être en soi la cause d'une infertilité même si les autres paramètres sont normaux (Olivier, 1974). Les cas d'hypospermie sont peut être due soit à une perte d'une partie de l'éjaculat (Girod et Czyba, 1977) ou d'une éjaculation incomplète due à un dysfonctionnement du réflexe éjaculatoire (Jouannet, 1979 ; Robin *et al.*, 2008), ou bien à l'insuffisance des sécrétions de l'une ou l'autre des glandes annexes (situation pouvant correspondre à une prostatite ou à une vésiculite), ou exclusion des vésicules séminales (congénitale ou acquise) où on sera en présence d'une azoospermie et le volume sera généralement inférieure à 1 ml (Guérin, 1993).

Tandis que hyperspermie évoque la présence de lésions infectieuses des glandes annexes et en particulier les vésicules séminales ; elle peut être due aussi à une abstinence sexuelle trop longue (Marmor, 2007). Alors que Guerin (1993) ne voyait pas l'hyperspermie comme une pathologie, mais témoigne seulement d'une hypersécrétion des vésicules séminales. Elle est néanmoins susceptible d'entraîner une oligospermie fictive dite de dilution alors que le nombre des spermatozoïdes n'est pas anormalement abaissé.

Les cas de forte viscosité sont peut être le résultat d'un trouble de la sécrétion prostatique (Olivier, 1974) c'est en effet à ce niveau que sont secrétées les enzymes protéolytiques qui vont liquéfier le plasma séminal (Jouannet, 1979), alors que la diminution de la viscosité se voit souvent dans les spermés de densité diminuée (oligospermie) (Olivier, 1974). Caprino et Siciliano (1998) ont observé une mobilité très basse des éjaculats hypervisqueux de tous les patients même les normospermiques et les oligospermiques.

La majorité de notre série présentait un pH dans l'intervalle de la normalité, les cas hors de cette intervalle sont pathologique, ainsi si le pH est plus basique c'est le reflet d'une atteinte ou insuffisance prostatique, alors qu'un pH acide il évoque une insuffisance ou atteinte des vésicules séminales (Olivier., 1974 ; Jouannet., 1979).

Concernant les anomalies liées aux aspects microscopiques des spermogrammes des patients faisant l'objet de notre étude, nous avons noté la présence des agglutinats dans près de 35 % des cas, avec 6 cas de nécrospermie soit un taux de 5 % et des concentrations en spermatozoïdes des éjaculats qui varient en moyenne selon les cas pathologiques enregistrés.

La présence d'agglutinats avec des titres élevés semblent en corrélation avec la présence des anticorps antispermatozoïdes (Olivier, 1974). Les anticorps antispermatozoïdes réduisent la fécondité en provoquant l'agglutination des spermatozoïdes par la concentration des IgA sur leur surface (Ford, 2001) et interfèrent avec le transport des spermatozoïdes dans la glaire cervicale, bloquent la capacitation et nuisent à la pénétration des spermatozoïdes dans la zone pellucide d'ovocytes (Newton et *al.*, 1988 ; Kay et *al.*, 1993) due au blocage des antigènes spécifiques de surface (Ford, 2001).

Les organismes qui causent les maladies sexuellement transmissibles peuvent servir comme initiateurs d'anticorps antispermatozoïdes par le biais de la formation des processus inflammatoires et des mécanismes auto-immunes. De nombreuses études ont démontré que diverses particules bactériennes, virales, fongiques et de peuvent s'attacher à la membrane externe des spermatozoïdes et incitent une réponse immunitaire (Mazumdar et Levine, 1998). Toutefois Wolff et *al.* (1990), n'a pas pu démontrer une association entre la présence d'anticorps antispermatozoïdes et la leucospermie. La présence d'anticorps entraîne souvent une asthénospermie associée quelquefois à une nécrospermie (anticorps cytotoxiques) (Barthélemy et Hamamah., 1997). Il y a plusieurs hypothèses pour expliquer la formation des anticorps antispermatozoïdes chez les hommes. Mazumdar et Levine, (1998) rapportent que la barrière hémato-testiculaire peut être rompu par une variété de mécanismes conduisant à l'exposition des antigènes immunogènes du sperme au système immunitaire qui pourrait engager une réponse immunitaire, ce qui entraîne une réaction inflammatoire et la formation des anticorps antispermatozoïdes. L'obstruction mécanique des voies génitales peut avoir lieu à la suite d'anomalie congénitale, la vasectomie, ou un traumatisme. On évoque aussi l'impact de la varicocèle dans la production des anticorps antispermatozoïdes . Ainsi Il a été démontré la présence des immunoglobulines liés au spermatozoïdes dans 32% des hommes stériles avec varicocèle palpable. Gilbert et *al.* (1989) suggèrent qu'une altération de drainage veineux du testicule peut entraîner des dommages pour les tubes séminifères et conduit à la production des anticorps antispermatozoïdes.

Avec une incidence rapportée dans la littérature de 0,2% à 0,4% , la necrospermie est encore mal documentée comme cause d'infertilité masculine (Chavez-Badiola et *al.*, 2008). La nécrospermie est souvent liée à un problème infectieux (Marmor, 2007) ou oxydatif à cause de l'excès des espèces réactive de l'oxygène dans le plasma séminal qui conduit à l'inhibition de la fonction et la viabilité des spermatozoïdes en raison de la peroxydation des acides gras polyinsaturés de la membrane. Cela génère la perte de la fluidité membranaire des spermatozoïdes qui est nécessaire pour l'adhésion et la fusion avec l'ovule (Aziz et *al.*,

2004.b). Elle peut être aussi liée à la présence d'un facteur toxique (Jacqmin, 2005), une abstinence prolongée ou à la présence d'auto-anticorps anti-spermatozoïdes (anticorps cytotoxiques) (Jouannet, 1979).

Dans l'une des premières études épidémiologiques sur l'infertilité Mc Leod avait trouvé une concentration moyenne de 107 millions de spermatozoïdes /ml chez 100 hommes féconds. Par la suite d'autres équipes ont trouvé des valeurs moyennes se situant entre 48 et 79 millions/ml. En France des valeurs différentes ont été trouvées dans différentes régions (Jouannet, 1984).

D'après les résultats obtenus nous constatons que la concentration moyenne de spermatozoïdes chez les cas normaux est de $69,57.10^6$ /ml. Daroui (2001) et sans tenir compte de la tératospermie incluse dans notre étude, a trouvé une moyenne assez proche de la notre avec une concentration de $81,6.10^6$ /ml dans la normospermie, $68,13.10^6$ /ml dans le cas de l'asthénospermie mais une concentration élevée a été enregistrée dans le cas des oligo-asthénospermie $22,71.10^6$ /ml contre $8,80.10^6$ /ml dans notre résultats.

Dans notre étude la concentration relativement élevée en spermatozoïdes notée chez les tératospermiques par rapport à leur pathologies correspondante nous laisse supposer que la morphologie des spermatozoïdes est indépendante de leur concentration ce qui a été constaté aussi par Cavallini et al (2008) qui signalent l'absence d'une relation significative entre le pourcentage des formes typiques et la concentration en spermatozoïdes.

Par ailleurs, les différences de mode de recrutement ou les conditions de recueil du sperme ont été évoquées pour expliquer les variations des concentrations moyennes en spermatozoïdes, en plus chez un individu les caractéristiques du sperme sont susceptibles d'être influencées par toute affection étant survenue dans les 3 mois précédents l'examen (Attias et al., 2002).

L'oligozoospermie peut avoir plusieurs étiologies d'origine testiculaire sécrétoire ou excrétoire (obstruction unilatérale sur le tractus). Un problème d'éjaculation (incomplète ou rétrograde), les infections et les inflammations du tractus accompagnées ou non de leucospermie, la présence d'auto-anticorps dans le plasma séminal ou sur la membrane plasmique des spermatozoïdes (Barthélemy et Hammamah, 1997). Un faible nombre de spermatozoïdes est peut-être dû aussi à une exposition prolongée de l'épithélium séminifère à des niveaux élevés des espèces réactives de l'oxygène ce qui pourrait endommager les tubes séminifères et conduit à une atrophie testiculaire et réduit la production des spermatozoïdes. Ceci est cohérent avec les données démontrant que la varicocèle est associée à la fois à des niveaux élevés de production des espèces réactives de l'oxygène et une atrophie testiculaire progressive (Aziz et al., 2004.b).

L'asthénospermie est due soit à un phénomène infectieux et/ou une absence de fructose (Barthélemy et Hammamah., 1997). Soufir (1985) a rapporté que l'absence du fructose avec un nombre normal de spermatozoïdes est associée à certaines asthénospermies. Cavallini et *al* (2008) a trouvé une relation significative et positive entre la concentration et la mobilité. Par ailleurs il n'a pas trouvé de relation significative entre la morphologie et la mobilité ce qu' a été noté aussi par Cranz et *al* (1981) ou il a conclu d'une part que la mobilité est fortement réduite dans les spermatozoïdes à forte teratospermie et à oligospermie importante c'est-à-dire chaque fois qu'on est en présence d'une perturbation de la fonction testiculaire, et d'autre part cette baisse est corrélée avec les troubles prostatiques.

les asthénospermies sont liées aussi à une auto-immunisation par anticorps, ou à une anomalie de plasma séminal, notamment une hyperviscosité due à des troubles de la liquéfaction ou encore dans les cas d'asthénospermies à moins de 10 % de mobilité normale les dyskynésies flagellaires de l'axonème ou des structures péri-axonémales mises en évidence par l'étude ultrastructurale du flagelle du spermatozoïde sont des causes possibles de cette diminution de la mobilité (Barthélemy et Hammamah, 1997).

Les radicaux libres entraînent une diminution du pourcentage des spermatozoïdes mobiles et une peroxydation des lipides membranaires en cascade qui détériore la membrane. Cela entraîne un enroulement des flagelles qui contrairement à l'enroulement constitutionnel n'est pas associé à un résidu cytoplasmique. Cet enroulement flagellaire retentit sur la mobilité (Wolff, 2001).

Les espèces réactives à l'oxygène peuvent affecter la mobilité du spermatozoïde par deux mécanismes, le premier par endommagement de l'axonème du spermatozoïde (de Lamirande et Gagnon, 1992) et le deuxième par peroxydation de la membrane plasmique des spermatozoïdes qui contiennent des proportions élevées d'acides gras insaturés et oxyde les protéines sulfhydryles comme glyceraldéhyde 3-phosphate déshydrogénase. L'oxydation de cette déshydrogénase inhibe la glycolyse et réduit la production de l'ATP support énergétique de la mobilité des spermatozoïdes (Ford, 2001).

Il a été rapporté l'impact des espèces réactives de l'oxygène dans la survenue des anomalies des spermatozoïdes dans 30 à 80% des cas (Tremellen., 2008 ; Kao et *al.*, 2008).

La différence entre la production des espèces réactives de l'oxygène dans le sperme et la capacité anti-oxydante du plasma séminal est plus prédictive sur la faible fertilité (Ford, 2001) une production excessive des espèces réactives de l'oxygène et la génération des radicaux libres a été identifiées dans le plasma séminal et le sperme des hommes stériles et infertiles (Kao et *al.*, 2008)

L'augmentation de la production des espèces réactive de l'oxygène est corrélée aux données du spermogramme : une corrélation positive a été retrouvée entre la production des espèces réactive de l'oxygène dans l'éjaculat et une faible concentration, une faible mobilité et une morphologie anormale des spermatozoïdes (Marchetti et Marchetti, 2005).

Bien que, dans environ 40% à 60% des cas une cause de diminution de la qualité du sperme peut être déterminée, dans la plupart des infertilités masculines est considérées comme idiopathiques. Les désordres génétiques tels que les anomalies chromosomiques (par exemple, syndrome de Klinefelter) et la délétion du chromosome Y sont impliqués dans environ 20% des cas d'infertilités masculines idiopathiques. La fréquence des aberrations chromosomiques qui est de 6 % chez les hommes avec oligozoospermie et de 15% chez les hommes azoospermiques est inversement corrélée avec le sperme. L'incidence du syndrome de Klinefelter (47, XXY) chez les patients infertiles est d'environ 5% à 7%, et ces hommes sont généralement stériles à cause de l'azoospermie ou oligoteratozoospermie sévère (Wong et al., 2000).

Les résultats relatifs aux spermocytogrammes nous ont permis de recenser 81 cas anormaux soit un peu plus de 80 % des cas étudiés avec 44,44 % d'asthénotératospermie, 27,16 % d'oligoasthénotératospermie, 18,52 % de tératospermie. La polyasthénotératospermie, l'oligotératospermie sévère et l'oligotératospermie représentent des prévalences relativement plus faibles avec des taux respectifs de 6,17 %, 2,47 % et 1,23 %.

Il a été montré que les spermatozoïdes morphologiquement anormaux manifestent une diminution de leur capacité de se lier à la zone pellucide (Liu et Baker, 1994; Liu et al., 2004). Il existe des relations significatives entre la fréquence des anomalies de gamètes et les anomalies de certains tests fonctionnels : la mobilité, le test de pénétration dans la glaire, le test de fixation sur la zone pellucide de l'ovocyte. Le taux de clivage en fécondation in vitro est nettement plus faible en cas de tératozoospermie sévère. La tératozoospermie est l'un des facteurs déterminants dans l'expression du pouvoir fécondant du sperme (Barthélemy et Hammamah, 1997).

Une association a été trouvée entre la morphologie des spermatozoïdes et le taux de fertilisation in vitro (Kruger et Coetzee, 1999). Il a été montré aussi la diminution de la capacité du spermatozoïde morphologiquement anormal d'initier une réaction acrosomique succédant sa liaison à la zone pellucide. (Liu et Baker, 1994; Liu et al., 2004). L'augmentation du Ca^{++} induit par le progestérone semble être réduit dans les spermatozoïdes morphologiquement anormal ainsi leur capacité d'initier une réaction acrosomique en réponse à l'influx des canaux calciques (Liu and Baker, 1998).

Les causes de la tératospermie sont variées. Il a été démontré l'évidente sensibilité des fonctions testiculaire et épидидymaire à la chaleur (Bedford, 1991). Les anomalies notées dans la morphologie des spermatozoïdes ont été observées après un état fébrile (Carlson et al., 2003), une exposition exogène de chaleur (Thonneau et al., 1998) ainsi qu'une association avec la varicocèle (Marmar, 2001; Templeton, 2003). Le tabac a été aussi associé aux anomalies morphologiques et la mobilité des spermatozoïdes (Vine, 1996; Zitzmann et al., 2003), il est possible que les composants que contient le tabac serait à l'origine d'une augmentation de la production des espèces réactive de l'oxygène (Saleh et al., 2002). Des spermatozoïdes morphologiquement anormaux ont été aussi observés chez un groupe d'hommes exposé à des substances phényliques (Hsu et al., 2003)

Bronson et al (2007) ont trouvé que la majorités des spermatozoïdes montrent des têtes irrégulières, et la deuxième plus commune anomalie sont les microcéphales où il a trouvé 3,5% de tête allongée, 52,6% tête irrégulière, 0,3 % macrocéphale, 22,8 % microcéphale, 2,5% anomalies d'acrosome, 4,5 % pièce intermédiaire et 4,4% anomalies de flagelle. Ces résultats concordent avec ceux obtenus dans notre étude par la prédominance des têtes irrégulières, mais il sont différents dans les autres anomalies dû certainement de la classification adoptée par cette équipe où les stricts critères de Tygerberg introduits par la Kruger et ses collègues en 1986 ont été utilisés pour évaluer la morphologie des spermatozoïdes (Wong et al., 2000) qui diffère de la classification adoptée par notre laboratoire qui est celle de David (1975).

Jouannet (1993) a rapporté que les irrégularités de la tête des spermatozoïdes sont très fréquentes chez les hommes, elles correspondent le plus souvent à des acrosomes malformés. L'absence de l'acrosome est due à une perturbation de la spermiogénèse, empêchant la fécondation, elle se caractérise par des spermatozoïdes microcéphales à têtes rondes et denses.

Tandis que dans les atypies du flagelle un pourcentage notable de flagelles courts et/ou absents est associé à une asthénospermie importante par défaut de structure flagellaire résultant de l'absence des bras de dynéine au niveau du complexe axonémal des flagelles. Tandis que les allongements de la tête associés à des anomalies de la pièce intermédiaire sont fréquemment observées en cas de varicocèle.

Thomas et al (1997) suggère le rôle des polynucléaires neutrophiles dans l'augmentation des spermatozoïdes atypiques particulièrement ceux avec des anomalies de la pièce intermédiaire par des mécanismes non encore connus (Thomas et al., 1997) ce qui explique la moyenne particulièrement élevé des atypies de la pièce intermédiaire.

Plusieurs études suggèrent que les restes cytoplasmiques retenus dans la pièce du spermatozoïde est une cause d'infertilité (Laudat et *al.*, 1998). Les spermatozoïdes avec restes cytoplasmiques, souvent dénommés spermatozoïdes immatures ont été associés à l'inefficacité de la spermiogenèse qui implique moins d'étapes conduisant à un contrôle moins rigoureux de la qualité. L'excès de la présence de résidus cytoplasmiques dans les spermatozoïdes des hommes stériles suggère que le contrôle de la spermiogenèse est encore moins efficace que celle observée dans des conditions normales (Aziz et *al.*, 2004.b)

Aziz et *al.* (2004.a) ont trouvé que la leucospermie est positivement corrélée avec le pourcentage des spermatozoïdes avec les atypies d'acrosome, restes cytoplasmiques, de la queue et la pièce intermédiaire. Il ont suggéré que les défauts de structure des spermatozoïdes avec leucospermie pourrait être due à la présence de médiateurs pro-inflammatoire (les cytokines) qui interfèrent avec la fonction des cellules de Sertoli conduisant à spermiogenèse anormale et à des changements dans le processus de maturation que les spermatozoïdes subissent ultérieurement lors de leur passage transitoire dans l'épididyme.

L'excès de rétention de résidus cytoplasmique par des spermatozoïdes différenciés semble être aussi lié à un stress oxydatif, par le biais de l'exposition chronique des spermatozoïdes aux espèces réactives de l'oxygène (Laudat et *al.*, 1998) ce qui a été cité par Aziz et *al.* (2004.b) qui a constaté une corrélation significative entre la production d'espèces réactives de l'oxygène et la proportion de spermatozoïdes avec des restes cytoplasmiques.

La tératospermie peut être le résultat d'un trouble androgénique. Il est bien connu que la synthèse de testostérone par les cellules de Leydig agit sur les cellules de Sertoli pour le contrôle de la spermiogenèse et la fin de la phase de spermiation. D'une part la testostérone joue un rôle dans la stimulation des cellules de Sertoli dans l'élimination des restes cytoplasmique et d'autre part, lors du passage dans l'épididyme, la testostérone est en partie impliquée dans la maturation des spermatozoïdes (Laudat et *al.*, 1998). Les mêmes auteurs ont conclu l'implication d'une augmentation de la concentration de testostérone séminale intratesticulaire dans la présence d'un pourcentage élevé de spermatozoïdes avec une reste cytoplasmique dans la pièce intermédiaire qui pourrait provenir, en partie, d'un échec dans l'élimination des restes cytoplasmiques par quelques cellules de Sertoli.

Concernant la concentration des protéines totales, les données bibliographiques indiquent que le sperme humain contient différents types de protéines qui sont nécessaires pour le fonctionnement et la survie des spermatozoïdes qui reflètent l'état des glandes annexes (Edwards et *al.*, 1981). Les études électrophorétiques ont permis d'étudier plusieurs fractions protéiques tels l'albumine, globulines, mucoprotéines, glucoprotéines et autres. Parmi les

constituants protéiques on retrouve de nombreuses enzymes tels que fibrinolyse et fibronogénase, aminopeptidase, diverses phosphatases. Ces protéines interviennent vraisemblablement dans le maintien de l'intégrité morphologique et fonctionnelle des spermatozoïdes (Girod et Czyba., 1969). L'analyse protéomique profonde du liquide séminale humain a révélé plus de 900 protéines dont les fonctions prédominantes sont la formation du coagulum et la liquéfaction, protection et support métabolique pour les spermatozoïdes, et aussi des fonctions immunologiques importantes jugées par le nombre important des protéines liées à ces fonctions. Cette analyse a révélé aussi qu'un nombre important des protéines extracellulaires incluant plusieurs protéases représentent les deux tiers du protéome du liquide séminal (Pilch et Mann, 2006).

la majeure partie des protéines provient des vésicules séminales bien que l'albumine et essentiellement d'origine prostatique (Hirsch et *al.*, 1991) et constitue le un tiers de la contenance séminale en protéines (Keil et *al.*, 1979; Frohlich et *al.*, 1980). Alors que Elzanaty et *al.* (2007) suggère l'origine testiculaire, épидидymaire et prostatique de l'albumine dans le plasma séminale en plus de la contribution du sang. Certaines protéines du plasma séminale humain sont identiques aux protéines du sang tels que l'albumine, glycoprotéines, globuline, inhibiteur de l'acrosine et transferrine et que d'autres protéines peuvent s'infiltrer dans le plasma séminale par leur largage à partir des spermatozoïdes malformés ou morte (Aboul-Einin, 1999)

Singer *al.* (1976) a rapporté que la contenance en protéines du plasma séminale varie entre 20 et 60 g/l. Une étude récente sur les protéines du liquide séminale humain menée par Pilch et Mann (2006) a montré que la concentration des protéines du liquide séminale humain se situe dans l'intervalle de 35 à 55 g/l. Tandis que la concentration moyenne des protéines totales était 50,40 g/l (Owen et Katz., 2005). Hernvann et *al.* (1987) a noté une augmentation de la concentration en protéines durant les premiers 50 minutes qui suit le recueil du sperme.

Donc, selon la littérature il y a des différences dans les teneurs en protéines totales du plasma séminale de l'être humain, et il est difficile de mesurer avec exactitude la concentration des protéines qui dépend fortement des techniques de dosage utilisées (Owen et Katz, 2005) et aussi de l'état physiopathologique du patient. Ainsi Aboul-Einin, (1999) a rapporté que la composition protéique du plasma séminale apparaît susceptible à des extrêmes variations à cause d'un large nombre de facteurs tel que l'espèce, l'âge, la nature de l'éjaculat où les premiers éjaculats montrent des profils de protéines différents des éjaculats tardifs, le statut hormonal de l'individu, les conditions de conservation du sperme et autres facteurs possibles comme le régime alimentaire l'environnement et l'état émotionnel dont le stress. Hernvann et

al (1987) ont rapporté que les dosages par la méthode de Biuret et la méthode de Lowry donnent des valeurs élevées par rapport à la méthode de Meuleman. Alors Colpi et *al* (1988) ont supposé que la leucospermie est liée à des altérations de la composition des protéines du plasma séminal par une augmentation de la concentration de l'albumine. En plus de la nature subjective de l'analyse spermatique qui a pu être influencer considérablement dans la classification des cas pathologiques étudiés, ces derniers ont été aussi limités par la petite taille des échantillons. Cela rend les conclusions sujettes à des erreurs par l'absence d'une puissance suffisante.

Nos résultats concordent avec ce qui a été trouvé par Singer et *al.* (1976), ces derniers ont constaté chez les azoospermiques des valeur supérieure que les oligospermiques nous laisse partager la suggestion que les tubules séminifères des azoospermiques secrète anormalement des degrés élevés des substances protéiques. Même l'indépendance de taux des protéines des autres paramètres du spermogramme est appuyée par l'étude de Singer et *al.*, 1976 qui ont conclu que la concentration des protéines totales dans le plasma séminal n'a pas de relation avec le nombre des spermatozoïdes et celle de Cranz et *al.* (1981) qui n'a pas trouvé une influence des protéines totales sur la mobilité des spermatozoides.

La synthèse des résultats de l'électrophorèse des protéines totales du plasma séminal indique, qu'à l'exception de oligoasthénospermie et la polyasthénotéatospermie qui présentent des mêmes profils électrophorétiques que la normospermie, les autres cas pathologiques sont caractérisés par l'absence d'au moins une sinon de plusieurs bandes protéiques. Le nombre de bandes protéiques absentes varie de 1 à 6 bandes protéiques selon les cas pathologiques analysés.

La bande protéique numéro 1 ainsi que la 6 sont absentes dans un cas seulement, il s'agit du meme cas l'azoospermie. Il est à noter que c'est la pathologie qui représente aussi l'absence du plus grand nombre de bandes protéiques, 6 bandes au total, en plus de la bande 1 et la bande 6 on remarque l'absence des bandes 5, 8, 9 et 10. Néanmoins ce cas est le seul cas pathologique caractérisé par la présence de bandes protéiques exclusives, il s'agit des bandes 23, 24 et 25. Par ailleurs, la bande 2 est absente dans 3 cas sur les 10 cas pathologiques analysés. De même pour la bande protéique 5 et la bande protéique 10. D'autres part, la bandes protéiques 8 est absente dans deux cas sur les 10 cas pathologiques. La bande 9 est caractérisée par son absence dans la moitié des cas pathologiques étudiés à savoir 5 cas sur un total de 10.

Les 38 bandes détectées qui est le cas de normospermie est assez proche de celui trouvé dans la même classe par Morgentaler et *al* (1990) qui ont dentifié 36 bandes en analysant des

protéines séminales des normospermiques par une l'électrophorèse bidirectionnelle sur gel polyacrylamide. Alors que Aboul-Enein (1999) a trouvé 20 bandes sur SDS- page du plasma séminal dont la majorité se trouve dans l'intervalle de faible poids moléculaire (10 -20 KDa) . L'absence de la bande 2 dans les oligotératospermies et les bandes 9 et 10 dans les oligotératospermies sévère par rapport à la normospermie concorde bien avec ce qu'a été trouvé dans l'étude de Morgentaler et *al* (1990) qui indiquent l'absence d'une ou de plusieurs bandes chez les oligospermiques .

Par contre Ayyagari et *al* (1987) en analysant des protéines séminales immédiatement après la liquéfaction par l'électrophorèse bidimensionnelle a détecté un groupe de protéines de poids moléculaire de 20 à 23 KDa dans le liquide séminal des oligospermiques mais absents chez les normospermiques et les azospermiques. Tandis que Jennings et *al* (1987) a trouvé des variations remarquables dans le profil des individus mais aucunes différences spécifiques n'a été détectées entre les normospermies et les azospermies sécrétoires, ce qui en contradiction à nos résultats ou nous avons constaté l'absence des bandes 1, 5, 6, 8, 9 et 10 chez les azospermiques .

Dans le cas des asthénospermies et les asthénotératospermies , nous avons trouvé des différences dans l'asthénospermies par rapport à la normospermie par absence des bandes 9 et 10 et dans les asthénospermies avec les asthénotératospermies par l'absence des bandes 5, 9 et 10 ce qui concorde avec les résultats de Bai et *al* (2006) qui a montré a travers une électrophorèse des protéines sur gel d'agarose qu'il y a une différence entre l'asthénospermie et la normospermie ,et entre l'asthénospermie et l'asthénotératospermie , par contre il n'a constaté aucune différence entre les l'asthénotératospermie et la normospermie contrairement à nos résultats ou nous avons trouvé une différence entre l'asthénotératospermie et la normospermie par absence des bandes 5 et 9.

Le manque dans la littérature des études électrophorétiques sur les autres cas à savoir les oligoasthénospermies, les oligoasthénotératospermie, les polyasthénospermie et les polyasthénotératospermies ne nous permet pas d'établir des comparaisons.

Nos résultats révèlent une différence entre l'oligospermie et la normospermie par l'absence de plusieurs bandes. Morgentaler et *al* (1990) suggèrent que les protéines absentes chez les oligospermiques peuvent être critique pour les fonctions normales du sperme et peuvent être utilisées comme marqueurs de l'infertilité. Par ailleurs, Ayyagari et *al* (1987) suggèrent que la présence des protéines de poids moléculaire de 20 KDa à 23 KDa dans le liquide séminal des oligospermiques et leurs absence chez les normospermiques et les azospermiques est due

à une protéolyse accélérée des protéines du liquide séminal qui peut contribuer dans l'établissement d'une hypofertilité.

La présence de bandes exclusives dans le cas de l'azoospermie peuvent probablement être utilisées comme marqueurs de cette pathologie et nous aide à approfondir le diagnostic clinique. Par ailleurs les profils identiques des cas d'oligotérospermies et la polyasthénotérospermie par rapport au cas normal ne permet pas de faire une distinction entre ces pathologies dans le cadre d'une investigation biologique.

Il est à signaler que les différences dans les profils électrophorétiques, des protéines du liquide séminal, rapportées par de nombreux travaux sont souvent contradictoires et incohérents. Aussi, l'analyse comparative des résultats avec les données bibliographiques s'avère complexe et difficile à réaliser. Les résultats hétérogènes et non concordants peuvent être expliqués en grande partie par les différences dans les protocoles d'extraction des protéines et/ou des méthodes de techniques électrophorétiques réalisées, ajoutés aux conditions de prélèvements, de manipulations et de stockage.

Notre contribution à l'étude des infertilités masculines dans la région de Constantine, avait pour but d'aborder l'aspect cytologique et biochimique afin de cerner les causes de cette pathologie, évaluer les prévalences et orienter la recherche étiologique et par la même recenser les facteurs de risques majeurs.

Cette dernière a porté sur 120 patients soupçonnés d'infertilité ou de stérilité dont les éjaculats, après prélèvement, sont soumis à une exploration biologique du sperme comprenant deux volets. Le premier cytologique qui consiste à l'étude des anomalies spermatiques, à travers la réalisation des spermogrammes et les spermocytogrammes, le deuxième volet comporte l'étude biochimique à travers le dosage des teneurs en protéines totales du liquide séminal et leur fractionnement par la technique d'électrophorèse sur gel polyacrylamide en condition dénaturante (SDS PAGE).

Nous avons essayé de déterminer la distribution et la fréquence des anomalies spermatiques, en tenant compte d'un certain nombre de paramètres à savoir, l'âge des patients, le type d'infertilité, l'activité professionnelle, les antécédents urogénitaux et le mode de vie.

Les résultats obtenus indiquent que l'infertilité primaire constitue la première cause de consultation, elle représente une fréquence de 74,73% soit les trois quarts des couples désirant procréer. 55,84% des patients sont âgés entre 30 et 40 ans, 24,17% des individus déclarent ne pas avoir d'activité professionnelle, les fonctionnaires administratifs représentent la plus

grande proportion des patients actifs, elle est de l'ordre de 22,50 % et les commerçants 12,50 %. Ces trois sont les catégories semblent être les plus touchées par les perturbations spermatiques avec des prévalence respectives de 21,10 % ; 20,80 % et 10,80 %.

Par ailleurs, nous avons noté que 48,33 % des patients présentent des antécédents urogénitaux. Les infections, les varicocèles et les cryptorchidies constituaient les premières pistes favorisant l'atteinte spermatique. Ces facteurs de risque liés au mode de vie les plus suspectés sont le tabac et bains chauds fréquents.

L'analyse des spermogrammes nous a permis de recenser un taux très élevé de cas pathologiques soit 90 %, dus aux différentes anomalies dont les plus fréquentes sont l'asthéo-tératospermie avec 33,33 %, l'oligo-asthéo-tératospermie avec 20,37 %, l'azoospermie avec 17,59 % et la tératospermie avec 13,89 %. D'autres pathologies de fréquences relativement faibles ont aussi été enregistrées, il s'agit de la poly-asthéo-tératospermie, l'asthénospermie, l'oligo-tératospermie sévère, l'oligo-asthénospermie et la poly-asthénospermie. Un seul cas isolé d'oligo-tératospermie a été enregistré.

Les résultats relatifs aux spermocytogrammes révèlent une prédominance des atypies de la pièce intermédiaire particulièrement le reste cytoplasmique dans l'oligo-asthéo-tératospermie et l'asthéo-tératospermie. Concernant les atypies de la tête, l'anomalie de la tête irrégulière qui est la plus fréquente et l'anomalie du flagelle enroulé constitue la principale atypie du flagelle.

L'étude étiologique des pathologies rencontrées semble en rapport avec les antécédents urogénitaux d'une part et à la nature de l'activité professionnelle ainsi qu'au mode de vie des patients. D'autres pathologies sont probablement d'origine endocrinienne, génétique ou idiopathique.

L'exploration biochimique du liquide séminal a montré une différence inter et intra pathologique, en teneur des protéines totales. Néanmoins ces variations demeurent statistiquement non significative. Ce paramètre biochimique ne semble pas présenter un intérêt particulier dans le diagnostic et l'évaluation des infertilités masculines .

Par ailleurs, le fractionnement des protéines, par électrophorèse SDS-PAGE, indique qu'à l'exception de l'oligo-tératospermie et la poly-asthéo-tératospermie qui présentent le même profil électrophorétique que la normospermie, les autres cas pathologiques sont caractérisés par l'absence d'une ou de plusieurs bandes protéiques. Seul le cas de l'azoospermie semble présenter de fractions protéiques exclusives.

Le spermogramme reste à l'heure actuelle la pierre angulaire de l'évaluation de l'infertilité masculine mais cet examen doit être interprété de façon critique due à l'extrême

variabilité des paramètres, à la fois inter et intra individuelle. En dehors de l'azoospermie confirmée au moins sur trois prélèvements, les spermogrammes anormaux ne donnent qu'une appréciation relative de l'infertilité donc il n'est pas possible de conclure de façon définitive quant à la fertilité ou la stérilité d'un patient et selon le contexte du diagnostic préliminaire de l'infertilité, seuls des tests fonctionnelles spécialisés sur le pouvoir fécondant des spermatozoïdes peuvent trancher sur l'infertilité du patient.

Les limites de la présente étude correspondent pour l'essentiel aux modalités d'échantillonnage et de prospection. Les éjaculats ont été prélevés sur un nombre restreint d'individus et de ce fait ils ne sont pas représentatifs. Ainsi, afin d'approfondir et compléter ce travail, il faudrait étendre l'étude sur un nombre de patients plus conséquent permettant un traitement statistique des données afin de dégager des corrélations entre les paramètres mis en cause et les différentes pathologies suspectées. Ce qui nous conduit certainement à mieux cerner la problématique.

PLANCHES

PLANCHE. 1

Atypies de la pièce intermédiaire du spermatozoïde.

Planche. 1 : Les atypies de la pièce intermédiaire du spermatozoïde
(Vue en microscope optique Gr x 100)

A – Restes cytoplasmiques.

B – Angulation.



PLANCHE .2

Atypies de la tête du spermatozoïde

Planche. 2 : Les atypies de la tête du spermatozoïde
(Vue en microscope optique Gr x 100)

A – Forme irrégulière : contour irrégulier.

B – Formes allongées.

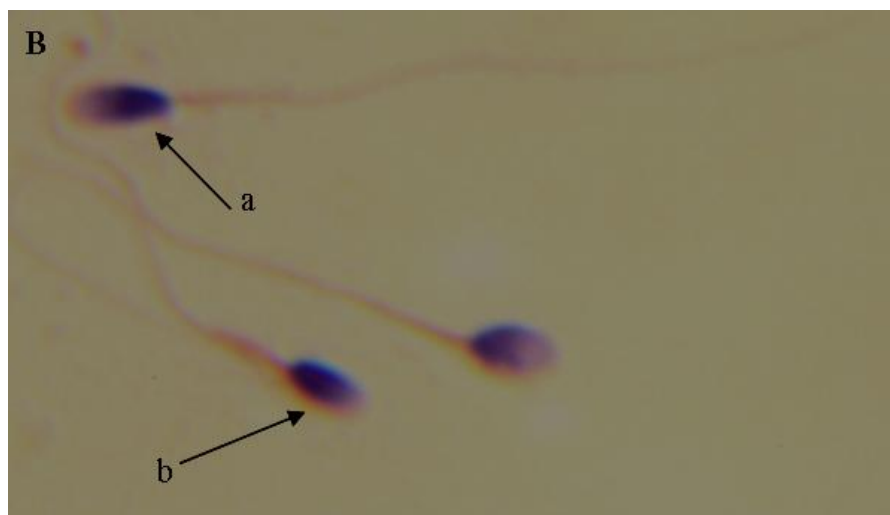
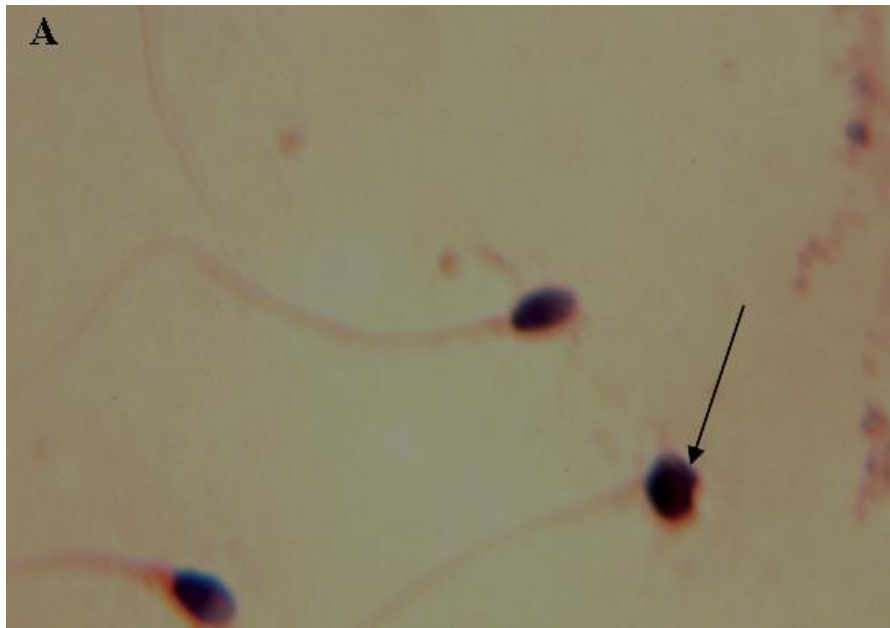
a – Forme allongée simple.

b – Forme effilé.

C – Forme amincie.

D – Forme en lyse.

E – Forme dupliquée.



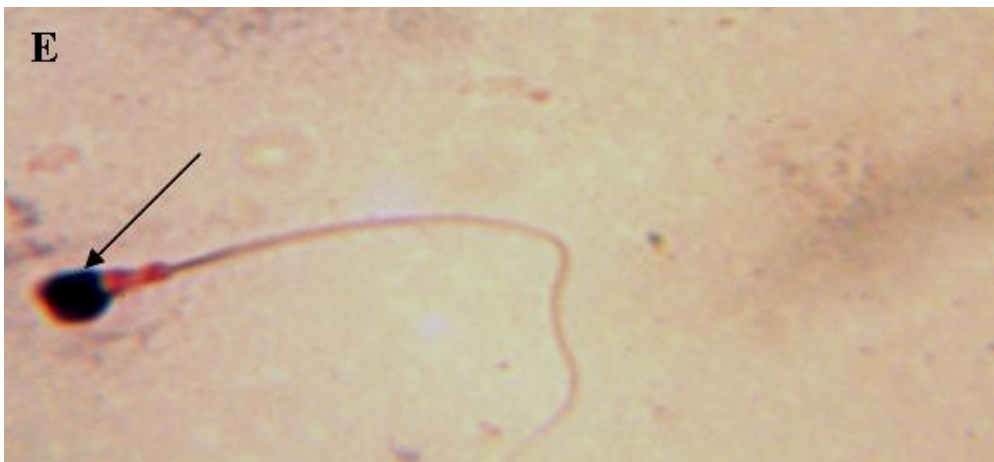
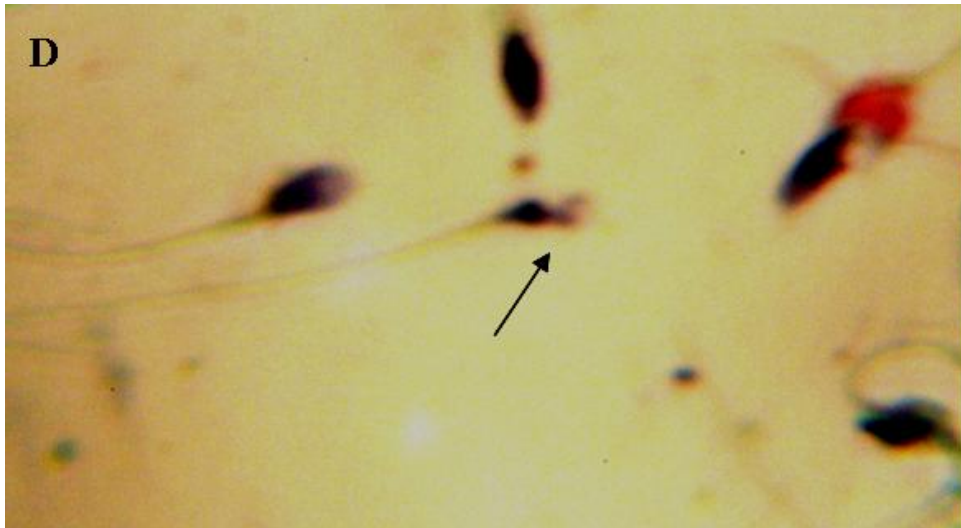
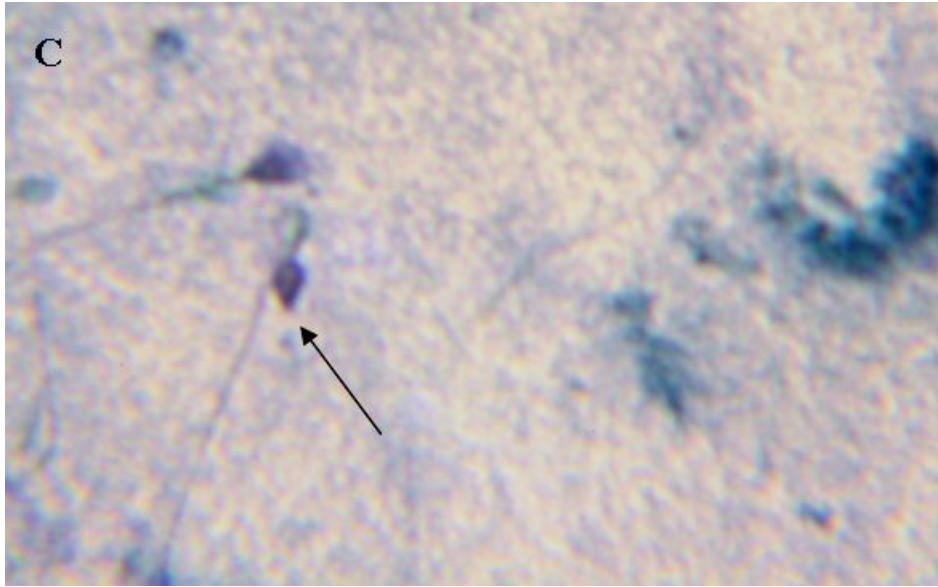


PLANCHE .3

Atypies du flagelle du spermatozoïde

Planche .3 : Les atypies du flagelle.

(Vue en microscope optique Gr x 100)

A – Flagelle enroulé.

B – Flagelles doubles.

C – Flagelle court.



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Aboul-Enein H Y. (1999): Analytical and Preparative Separation Methods of Biomacromolecules. CRC Press. 462 pp.

Absalan F., Mansoureh M. et Seyed J M (2008) : Assessment of testis histological changes and sperm parameters in experimentally-induced unilateral and bilateral cryptorchid mouse model .Iranian Journal of Reproductive Medicine Vol.6. No.3. pp: 143-148.

Attias D., Enrezami F. et Hamamah S. (2002) : Peut-on considérer le spermogramme comme un critère de santé publique ?. Les XXIIIe Journées de techniques avancées en gynécologie, obstétrique, PMA et pédiatrie.

Auger J, Kunstmann JM, Czyglik F et Jouannet P. (1995): Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. N Engl J Med 332:281–5

Auger J. et Jouannet P. (1993) : Manuel de laboratoire de l'OMS : Analyse du sperme humain et interaction des spermatozoïdes avec le mucus cervical. Editions : INSERM. 125pp.

Ayyagari RR, Fazleabas AT, Dawood MY. (1987): Seminal plasma proteins of fertile and infertile men analyzed by two-dimensional electrophoresis. Am J Obstet Gynecol. 157(6):1528-33.

Aziz N. et Agarwal A. (2008) : Evaluation of sperm damage: beyond the World Health Organization criteria Fertil Steril. 90:484–5

Aziz N., Agarwal A., Lewis-Jones I., Sharma R K., et Thomas A J. (2004.a) : Novel associations between specific sperm morphological defects and leukocytospermia. Fertility and Sterility Vol. 82, N°. 3

Aziz N, Saleh R A, Sharma R K., Lewis-Jones I, Esfandiari N, Thomas A J. et Agarwal A.(2004.b): Novel association between sperm reactive oxygen species production, sperm morphological defects, and the sperm deformity index. Fertility and Sterility vol. 2, no. 81

Bai J, Sun L, Ma JL, Cong YL. (2006) : Study of two electrophoresis procedures of seminal plasma proteins. Zhonghua Nan Ke Xue.12(4):291-4

Blanc B. et Porcu G. (2002) : Stérilité. Collection stratégie diagnostique et thérapeutique en gynécologie. Editions : Arnette. 19p-462p.

Barthélemy C. et Hamamah S. (1997) : Spermogramme et tests de fécondance : intérêt et limites. Les XXIIIe JTA Journées de techniques avancées en gynécologie, obstétrique, PMA et pédiatrie.

Bourcigaux N. et Christin-Maitre S. (2008) : Dosages hormonaux chez l'homme infertile. Gynécologie Obstétrique & Fertilité (36) : 551–556.

Bujan L, Mansat A, Pontonnier F, Mieusset R. (1996): Time series analysis of sperm concentration in fertile men in Toulouse, France between 1977 and 1992. BMJ 312:471–2

Carlsen E, Giwercman A, Keiding N et Skakkebaek NE. (1992): Evidence for decreasing quality of semen during the past 50 years. BMJ 305:609–13.

Caroppo E., Niederberger C., Elhanbly S., Schoor R., Ross L., D'Amato G.(2005) : Effect of cryptorchidism and retractile testes on male factor infertility: A multicenter, retrospective, chart review. *Fertility and Sterility*. Vol. 83, No. 5

Carpino A. et Siciliano L. (1998): Unaltered Protein Pattern/Genital Tract Secretion Marker Levels in Seminal Plasma of Highly Viscous Human Ejaculates .*Systems Biology in Reproductive Medicine*, Volume 41, Issue 1 July, pages 31 – 35.

Cavallini G., Crippa A., Cristina Magli M., Cavallini N., Ferraretti AP et Gianaroli L. (2008): A study to sustain the hypothesis of the multiple genesis of oligoasthenoteratospermia in human idiopathic infertile males by The Society for the Study of Reproduction

Cayrouse C. (2005) : Evaluation du risque reprotoxique chimique dans les laboratoires de recherche de l'université bordeaux 2. Thèse de doctorat en médecine. UFR des sciences médicales université Bordeaux 2. France.

Chavez-Badiola A, Drakeley AJ., Finney V, Sajjad Y., Lewis-Jones D I.(2008): Necrospermia, antisperm antibodies, and vasectomy. *Fertility and Sterility* Vol. 89, No. 3

Cohen-Bacrie P., Hazout A. et Hamamah S. (2007) : Explorations et traitements de l'homme infertile :du nouveau ?. Les XXIIIe Journées de techniques avancées en gynécologie, obstétrique, PMA et pédiatrie.

Cohen-Bacrie P., Hazout A. et Hamamah S. (2002) : Place des marqueurs séminaux dans l'évaluation de la fertilité. Les XXIIIe Journées de techniques avancées en gynécologie, obstétrique, PMA et pédiatrie.

Colpi GM, Roveda ML, Tognetti A, Balerna M. (1988) : Seminal tract inflammation and male infertility. Correlations between leukospermia and clinical history, prostatic cytology, conventional semen parameters, sperm viability and seminal plasma protein composition. : *Acta Eur Fertil.* 19(2):69-77

Commenges-Ducos M.(2006) : Prise en compte clinique des différents toxiques dans les infertilités. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 34 : 985–989

Cranz C., Mantagnon D., Brun B. et Clavert A. (1981) : Interprétation des asthénospermies en fonction des paramètres du spermogramme. *J. Gyn. Obst. Biol. Repr.* 10, 137 – 140.

Dadoune J-P., Hadjiisky P., Siffroi J-P. et Vendrely E. (1990) : Histologie. Collection de la biologie à la clinique. Editions : Médecines –sciences Flammarion Paris. PP :333- 356.

Daroui Mokaddem H. (2001) : Exploration cytologique et biochimique dans l'hypoinfertilité masculine. Thèse de magistère en biochimie appliquée. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université d'Annaba .91pp. Algérie.

De Celis R, Feria-Velasco A, Gonzalez-Unzaga M., Torres-Calleja J. et Pedron-Nuevo N.(2000) : Semen quality of workers occupationally exposed to hydrocarbons. *Fertil Steril* .73:221– 8

Demoulin A. (2003) : Explorations en infertilité masculine. Rev Med Liege. (58) : 456 – 460.

Detouris H., Heurion R. et Delecour M. (1984) : Gynécologie et obstétrique. 5^{ème} ed.
Edition : Masson. 236p-243p.

Deutscher M. P. (1990) : Guide to protein purification. Methods in enzymology. N° 182
.Edition: Academic Press. USA

Dohle G.R., Jungwirth A., Colpi G., Giwercman A., Diemer T. et Hargreave T.B. (2007):
Guidelines on Male Infertility. Editions: European Association of Urology 70pp.

El-Hamzaoui S.A. et Dikoumba A. (2005) : Spermogramme et spermocytogramme. Revue
Française des Laboratoires. N ° 369

Elzanaty, S. ; Erenpreiss, J. et Becker, C.(2007) : Seminal plasma albumin: origin and
relation to the male reproductive parameters. Andrologia. 39(2):60-65.

Emara SH. et Farid M. (1978): Total proteins and electrophoretic patterns in seminal
plasma of normospermic, azospermic and oligospermic men. Acta Med Acad Sci Hung.
35(2):167-71.

Ford W C L. (2001): Biological mechanisms of male infertility .The lancet .Vol 357: 1223 -
1224

Frydman R. (1994) : Infertilité d'origine Immunologique. Les XXIIIe Journées de techniques
avancées en gynécologie, obstétrique, PMA et pédiatrie.

Gainsi E., Fourn L. et Akpo C. (1990) : Stérilité masculine et infection urétrale au C.N.H.U.
de Cotonou. Médecine d'Afrique Noire (37) : 9.

Girod J. et Czyba J-C. (1969) : Cours sur la biologie de la reproduction. fascicule 1. Les
appareils génitaux. Editions SIMEP. 252pp.

Grabowski J. et Tortora G J. (2002) : Principe d'anatomie et de physiologie. 3^{ème} ed.
Edition Deboeck universite. p1038-1051

Grizard G. et Jimenez C. (1997) : Les examens du sperme dans l'exploration de la fertilité
masculine. Progrès en Urologie. (7) : 496 – 504.

Guerin J-F. (2001) : Bilan raisonnable devant une infertilité masculine. Journées
Pyrénéennes de Gynécologie - Tarbes France

Guerin. J.F. (1993) : Le sperme normal. Rev Prat. (43) 8 : 932 – 935.

**Gwo-Jang Wu., Fung-Wei Chang., Shang-Sen Lee., Ya-Yuan Cheng., Chi-Huang Chen.,
et Ching Chen. (2009):** Apoptosis-related phenotype of ejaculated spermatozoa in patients
with varicocele. Fertility and Sterility Vol. 91, No. 3

Hamamah S., Barthélemy C. et Lecomte P.(1993) : Exploration du sperme pathologique et
de son pouvoir fécondant. Rev Prat. (43) 8 : 948 – 955.

Hazard J. et Perle muter L. (2000) : Abrége d'endocrinologie. 4^{ème} ed. Edition : Masson. 362p-411p.

Hervann A., Gonzales J., Diemert MC. et Galli J. (1987): Determination of total protein in human seminal plasma. *Andrologia*. :19 Spec No:233-7.

Humeau C.(1995) : Le sperme vieillit-il ? effet de l'âge sur la fécondance. Les XXIIIe Journées de techniques avancées en gynécologie, obstétrique, PMA et pédiatrie.

Izarin V.et Jardin A. (1993): Chirurgie de la stérilité masculine. *Rev. Prat.* (43) 8 : 970 – 977.

Jacqmin P. (2005) : Pathologie de l'appareil urinaire. Stérilité masculine. Faculté de Médecine de Strasbourg.

Jennings MG, McGowan MP, Nayudu PL, Baker HW (1987) : Patterns of human seminal plasma proteins on polyacrylamide gel electrophoresis. *Clin Reprod Fertil.* 5(1-2):45-54.

Jesse J. Edwards, Sandra L. Tollaksen, and Norman G. Anderson(1981) :Proteins of Human Semen I. Two-Dimensional Mapping of Human Seminal Fluid. *Clinical Chemistry*, Vol. 27, No. 8, 1335-1340

Jouannet P.(1984) : Exploration du testicule exocrine dans la médecine de la reproduction masculine, Ed. Schainson,P.Mahoudeau et F.Labrie ed. Flammarion.

Jouannet P.(1979) : Comment interpréter un spermogramme. *Rev. Prat.* (29) 32 : 2602 – 2604.

Jouannet P. (1977) : Le laboratoire face à la clinique : L'examen du sperme. *Le technicien biologiste* (4): 153 – 157.

Jung A. et Schuppe H.C. (2007) : Influence of Genital heat stress on semen quality in humans *Andrologia* 39, 203–215

Junqueira LC, Carneiro J, Kello RO.(1989): Basic histology. 6th ed. Norwalk:Appleton & Lange

Kao S H., Chao HT., Chen H W., Hwang T I. S., Liao T L. et Wei Y H. (2008) : Increase of oxidative stress in human sperm with lower motility. *Fertil Steril* . 89:1183–90.

Kelton Tremellen (2008) : Oxidative stress and male infertility a clinical perspective. *Human Reproduction Update*, Vol.14, No.3 pp. 243–258.

Kunzle R., Mueller MD., Hanggi W., Birkhauser MH., Drescher H. et Bersinger NA. (2003): Semen quality of male smokers and nonsmokers in infertile couples *Fertility and Sterility* Vol. 79, N°. 2

Laudat A, Guechot J et Palluel A M (1998) : Seminal androgen concentrations and residual sperm cytoplasm. *Clinica Chimica Acta* . 276 :11–18.

Levitas E., Lunenfeld E., Weisz N., Friger M. et Potashnik G (2007) : Relationship between age and semen parameters in men with normal sperm concentration: analysis of 6022 semen samples. *Andrologia* 39: 45–50

Lucas H.(2007) : Composition de l'éjaculat et mécanismes de l'émission du sperme. Fondation genevoise pour la formation et la recherche médicales . Editions : Aldo Campana.

Marchetti C. et Marchetti P. (2005) : Place des marqueurs de l'apoptose dans l'exploration de l'infertilité masculine . *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 33 669–677.

Mansat A. et Bennet P.(1986) : Techniques d'examen du sperme. Stage de formation. Edition : Laboratoire de biologie de reproduction du CECOS Midi-Pyrénées. Toulouse. France.

Marmor D. (2007) : Comprendre le spermogramme, le liquide séminal : volume, pH, viscosité. *Abstract Gynécologie*. N° 320 : 6 -7.

Marmor D.(2001):Fonction gonadique et reproduction après traitement anti-mitotique ou immunosuppresseur. www.infogyn.com.

Mauvais-Javis P. (1986) : Médecine de la reproduction masculine. 2^{ème} ed. Edition: Flammarion

Mazumdar S.,et Levine A. S. (1998): Antisperm antibodies : etiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Fertility and Sterility* Vol. 70, No. 5

Morgentaler A., Schopperle WM., Crocker RH. et DeWolf WC. (1990) : Protein differences between normal and oligospermic human sperm demonstrated by two-dimensional gel electrophoresis *Fertil Steril.* 54(5):902-5

Montagnon D, Valtat B, Vignon F, Koll-Back MH (1990) : Secretory proteins of human seminal vesicles and their relationship to lipids and sugars. *Andrologia.* 22 Suppl 1:193-205.

MullerY. et Clos J. (1997) : La reproduction :Gonades ,gamètes et fécondation. Editions : Nathan. 160pp

Nazzal N. (2002) : Approche biologique et thérapeutique d'infertilité masculine. Thèse de doctorat en médecine. Faculté de médecine. Université d'Annaba.71pp. Algérie.

Olivier H R. (1974) : Traite de biologie appliquée. Tome VI .fascicule A. Edition : Maloine. 245p-293p

Owen D.H. et Katz D.F. (2005): Review of the Physical and Chemical Properties of Human Semen and the Formulation of a Semen Simulant *Journal of Andrology*, Vol. 26, No. 4.

Pasqualotto FF., Umezu FM., Salvador M., Borges E., Sobreiro BP. and PasqualottoE B. (2008): Effect of cigarette smoking on antioxidant levels and presence of leukocytospermia in infertile men: a prospective study. *Fertil Steril.* 90:278–83.

Perrin A., Morel F., Moy L., Colleu.D, Amice V. et De Braekeleer M. (2008) : Study of aneuploidy in large-headed, multiple-tailed spermatozoa: case report and review of the literature. *Fertility and Sterility*. Vol. 90, No. 4

Pilch B. et Mann M. (2006) : Large-scale and high-confidence proteomic analysis of human seminal plasma .*Genome Biology*, 7: 40.

Pinatel M C.(1985) : Spermogramme: technique de réalisation . *Ann.Biol.Clin* (43) : 49 – 53.

Pontonier F. et Bujan L. (1993) : Comment reconnaître et classer une infécondité masculine?.*Rev. Prat.*(43) 8 : 941 – 947.

Richard A., Bronson S., Bronson K. et Oula L D. (2007) :Ability of Abnormally-Shaped Human Spermatozoa to Adhere to and Penetrate Zona-Free Hamster Eggs: Correlation With Sperm Morphology and Post incubation Motility *Journal of Andrology*, Vol. 28, No. 5.

Robin G., Marcelli F., Mitchell V., Marchetti C., Lemaitre L., Dewailly D., Leroy-Billiard M. et Rigot J-M. (2008) : Pourquoi et comment réaliser un bilan d'hypospermie ?. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* (36) : 1035–1042

Rothe G.M. (1994): Electrophoresis of enzymes. Laboratory methods. Editions: Springer Verlag .Germany 127p – 139p.

Sergerie M., Mieusset R., Croute F., Daudin M. et Bujan L. (2007) : High risk of temporary alteration of semen parameters after recent acute febrile illness *Fertility and Sterility* Vol. 88, No. 4

Schlosser J., Nakib I., Carré-Pigeon F. et Staerman F. (2007) : Infertilité masculine : définition et physiopathologie. *Annales d'urologie* (41) : 127–133.

Schlosser J., Nakib I., Carré-Pigeon F. et Staerman F. (2006) : Infertilité masculine : bilan. *Annales d'urologie* (40) : 349–354.

Sekhsokh Y., Bajjou T., Lmimouni B. et Baaj A. (2001) : Intérêt pratique du spermogramme. *Biologie Infectiologie*. Tome : V II. N° 3.

Sepaniak S., Forges T. et Monnier-Barbarino P. (2005) : Conséquences du tabac sur la fertilité masculine.*Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction* Vol 34 pp. 102-111.

Sepaniak S., Forges T. et Monnier-Barbarino P. (2006) : Tabac et fertilité chez la femme et l'homme. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 34 (2006) 945–949.

Shu-Huei Kao, Hsiang-Tai Chao, Haw-Wen Chen, Thomas I. S. Hwang, Tien-Ling Liao, and Yau-Huei Wei, (2008): Increase of oxidative stress in human sperm with lower motility *Fertility and Sterility* Vol. 89, No. 5

Singer R., Landau B., Joshua H., Zukerman Z., Pick I et Sigienriech E. (1976) : Chowers Protein content of human seminal plasma and spermatozoa in relation to sperm counts .*Acta Eur Fertil.* 7(4):281-4.

Soufir J-C. (1985) : Azoospermie, asthenospermie et biochimie séminale. *Ann.Biol.Clin* (43) : 67 – 70.

Soufir J-C. (1983) : Exploration biochimique du sperme humain. *Rev Prat.* (33) 57 : 3141 – 3147.

Tavilani H., Doosti M., Abdi K., Vaisiraygani A. et Joshaghani H. R. (2006) : Decreased polyunsaturated and increased saturated fatty acid concentration in spermatozoa from asthenozoospermic males as compared with normozoospermic males *Andrologia* 38 173–178

Thomas J., Fishel S.B., Hall J.A., Green S., Newton T.A et Thornton S.J. (1997) : Increased polymorphonuclear granulocytes in seminal plasma in relation to sperm morphology. *Human Reproduction* vol.12 no.11 pp.2418–2421.

Thonneau P. et Bujan L. (1993) : Epidémiologie de l'infécondité masculine. *Rev. Prat.* (43) 8 : 936 – 940

Thonneau P., Patureau J., Moyse C., Marchand S., Tallec A., Ferial M-L. et Spira A. (1991) : Incidence and main causes of fertility in a resident population [1 850 000] of three french regions (1988 – 1989). *Human reproduction* . 6:811-6

Vermeulen A et Kaufman JM. (1995): Ageing of the hypothalamo-pituitary-testicular axis in men. *Horm Res*;43:25– 8.

Villanueva-Diaz C. A., Vega-Hernandez E. A., Diaz-Perez M. A., Ecliavarria-Sancieiz M. et Karchmer-Krivitsky S. (1999): Sperm dysfunction in subfertile patients with varicocele and marginal semen analysis. *Andrologia* 31, 263-267.

Wagner L. (2004) : Androgènes, vieillissement masculin et fertilité. *Progrés en urologie* 14 5 :769 776

Wong W. Y.; Thomas C.M. G.; Merkus J. M. W. M. ; Zielhuis G. A. ; et. Steegers-Theunissen R.P. M. (2000): Male factor subfertility: possible causes and the impact of nutritional factors. *Fertility and Sterility.* vol. 73, N°. 3

Ziyyat A., Barraud-Lange V., Sifer C., Ducot B, Wolf J-P. et Soufir J-C. (2008) : Paradoxical increase of sperm motility and seminal carnitine associated with moderate leukocytospermia in infertile patients. *Fertil Steril.* 90:2257–63.

ANNEXES

ANNEXE I.

Spermogramme

Matériel et réactifs :

- Réceptacle à sperme à usage unique.
- Etuve 37°C .
- Microscope photonique(type Leika) avec oculaires 40x ; 100x .
- Papier Johnson.
- Eprouvette graduée de 10 ml .
- Tubes à hémolyse de 5 ml .
- Micropipette 100µl .
- Pipette graduée 1ml.
- Pipettes Pasteur .
- Embouts de pipettes en polypropylène jaune 5-100µl
- Lames en verre
- Lamelles couvre objets en verre (22X32 mm).
- Papier pH réactif colorimétrique .
- Cellule de THOMA.
- Solution de Ringer formélé
- Solution d'Eosine 1% .
- Solution de Nigrosine à 10%.

Solution de Ringer formélé :

Liquide de Ringer :

CaCl ₂	0.300 g
KCl	0.250 g
NaCl	6.5 g
NaHCO ₃	0.2 g
H ₂ O distillée	1L

Solution de Ringer formole (solution de travail) :

Liquide de Ringer	1 L
Formol à 40%	10 ml

Solution à Eosine 1% :

Eosine “yellowish”	1 g
NaCl 9 ‰	100 ml

Bien mélanger et filtrer.

Solution de Nigrosine à 10% :

Nigrosine	10g
NaCl 9 ‰	100 ml

Bien mélanger jusqu'à disparition des cristaux puis filtrer.

ANNEXE II.

Spermocytogramme

Matériel et réactifs :

- Microscope photonique binoculaire G 100x (Leika)
- Etuve 37°C.
- Lames en verre.
- Lamelles couvre objets en verre (24X40 mm).
- Graveur pour lames.
- Panier porte lames.
- Huile à immersion .
- Mélange alcool éther (v/v)
- Baume de Canada pour montage des lamelles de recouvrement.
- Bacs à coloration de Papanicolaou (réactifs RAL.France)

Coloration de Papanicolaou :

Alcool 70° :	15 sec
Alcool 80°:	15 sec
Eau distillée :	rinçage
Hématoxyline de Harris :	30 sec
Eau distillée :	1 min
Alcool acitifie :	1 min (alcool acétifie : 1% HCl–alcool 95°)
Eau distillée :	rinçage
Alcool 70° ;	10 bains
Alcool 95° :	10 bains
Orange G6 :	2 min
Alcool 95° :	rinçage
EA 50 :	2 a 3 min
Alcool 95° :	rinçage
Alcool absolu :	rinçage
Alcool absolu :	rinçage
Xylène :	5 min
Xylène :	10 min

ANNEXE.III.

Dosage des protéines totales

Matériel et réactifs :

- Sérum albumine bovine (BSA) 1 mg/ml

- Réactif de Lowry :

Solution de Lowry A : (Na_2CO_3 à 2% dans NaOH N/10)

Solution de Lowry B : ($\text{CuSO}_4, 5 \text{ H}_2\text{O}$ à 0.5 % dans Tartrate Na et K 1%)

Pour préparer 50 ml de réactif de Lowry mélanger le jour de la manipulation :

50 mL de solution A et 1 mL de solution B

- réactif de Folin Ciocalteu (diluer au 1/2 avant usage)

- Eau distillée

- Spectrophotomètre Visible

- Réactif de Lowry :

Solution de Lowry A :

Na_2CO_3 4 g

NaOH N/10 200 ml

Solution de Lowry B :

$\text{CuSO}_4, 5 \text{ H}_2\text{O}$ 25 mg

Tartrate Na et K 50 mg

H_2O distillée 5 ml

Annexe IV :

Electrophorèse des protéines Préparation des solutions d'extraction

1-Préparation de la solution stock d'extraction :

- Dans un jaugé de 100 ml on met :

Glycerol	20 ml
Tris HCl 1M pH 6.8	12.5ml
SDS	4 g
Bleu de bromophenol	20 mg
Eau désionisée qsp	24.1 ml

A- Solution d'extraction avec réducteur :

Solution stock d'extraction	4.25 ml
β - mercaptoethanol	0.75 ml
Eau désionisée qsp	10 ml

- dans des tubes Eppendorf on met :

Liquide séminal	100 ul
Solution extraction	100 ul

.

B -Solution d'extraction sans réducteur :

Solution stock d'extraction	4.25 ml
Eau désionisée qsp	10 ml

- dans des tubes eppendorf on met :

Liquide séminal	100 ul
Solution extraction	100 ul

ANNEXE V.

Electrophorèse des protéines Préparation des gels

A- Le gel de séparation (running gel) :

Gel à T=12.8% et C=0.9% .

La solution de monomères :

Acrylamide	8.7 g
NN'méthylène Bisacrylamide	0.113 g
Eau désionisée qsp	50 ml

- Composition du gel proprement dit :

Tris HCl 1M pH 8.8	30 ml
Solution du gel d'acrylamide	46 ml

- on ajoute les catalyseurs en mettant :

Solution d'ammonium persulfate 1%	2 ml
Solution SDS 10%	0.8 ml
TEMED	40 ul

B- Le gel de concentration (Stacking gel) :

Gel à T =2.8% et C= 1.4% .

La solution de monomères :

Acrylamide	0.6 g
NN'méthylène Bisacrylamide	8.66 g
Eau désionisée qsp	16.8 ml

- Composition du stacking gel proprement dit :

Tris HCL 1M pH6.8	2.5 ml
Solution de stacking gel	16.8 ml

- on ajoute les catalyseurs en mettant :

Solution d'ammonium persulfate 1%	0.75 ml
Solution SDS 10%	0.2 ml
TEMED	15 ul

Annexe VI.

Electrophorèse des protéines SDS-PAGE

- Solution mère SDS à 10% : (conservation a 4°C)

Sodium deodcyl sulfate (SDS)	10g
Eau désionisée qsp	100ml

- Solution mère Tris 1M pH 8.8 : (conservation a 4°C)

Tris(hydroxy-methylamino-methane)	12.11 g
Eau désionisée qsp	50ml
Ajuster à pH 8.8 avec HCl fumant (~5ml)	
Compléter alors a 100ml	

- Solution mère Tris 1M pH 6.8 : (conservation a 4°C)

Tris(hydroxy-methylamino-methane)	12.11 g
Eau désionisée qsp	50ml
Ajuster à pH 6.8 avec HCl fumant (~5 ml)	

- Tampon d'électrophorèse (1500 ml par électrophorèse)

Glycine	70.55 g
Tris	15g
SDS	5g
Eau désionisée qsp	5000 ml

- Solution d'ammonium persulfate 1%

Ammonium persulfate	0.2 g
Eau désionisée qsp	20 ml

ANNEXE VII .

Electrophorèse des protéines
Préparation des solutions de fixation et de coloration

Isopropanol	125 ml
Acide acétique	50 ml
Eau désionisée qsp	500 ml
Bleu de coomassie R250	1 g

Liste des figures

	Pages
Figure 1 : Coupe sagittale schématisée de l'appareil génital masculin. (d'après Dadoune et <i>al</i> , 1990).	4
Figure 2 : Organisation générale du testicule.(d'après Dadoune et <i>al.</i> , 1990)	5
Figure 3 : Ultrastructure du spermatozoïde humain.(d'après Girod et Czyba, 1969)	10
Figure 4 : Le cycle de la spermatogenèse.(d'après Dadoune et al , 1990)	12
Figure 5 : Régulation hypothalamohypophysaire schématique des fonctions endocrines et exocrines de l'homme adulte (d'après Schlosser et <i>al.</i> , 2007).	14
Figure 6 : Répartition de type d'infertilité chez les sujets mariés.	54
Figure 7 : Répartition en pourcentage des cas normaux et pathologiques.	56
Figure 8 : Distribution de la fréquence des anomalies spermatiques.	57
Figure 9 : Répartition de la population effectuée selon tranche d'âge.	60
Figure 10 : Répartition de sujets avec ou sans profession selon la nature du spermogramme	63
Figure 11 : Répartition des spermogrammes normaux selon les pathologies	73
Figure 12 : Répartition des spermocytogrammes anormaux selon les cas pathologiques .	74
Figure 13 : Moyenne des formes typiques et atypiques selon les cas pathologiques.	75
Figure 14 : Moyennes des différentes atypies morphologiques des spermatozoïdes selon les cas pathologiques.	76
Figure 15 : Analyse de la variance de taux des protéines totales entre les pathologiques	79
Figure 16. A : SDS PAGE sans réduction des protéines du liquide séminal.	81
Figure 16. B : SDS PAGE avec réduction des protéines du liquide séminal.	82

Listes des tableaux

	Pages
Tableau 1 : Facteurs de risque environnementaux d'infécondité masculine. (d'après Thonneau et Bujan., 1993)	23
Tableau 2 : Causes médicamenteuses d'infertilité masculine avec leurs mécanismes. (Schlosser et al., 2007)	24
Tableau 3 : Marqueurs de chaque compartiment et leur concentrations (d'après Cohen-Bacrie et al., 2002)	34
Tableau 4 : Classification de David 1975 des anomalies morphologiques des spermatozoïdes (d'après Mansat et Bennet., 1986)	48
Tableau 5 : Répartition des sujets selon le type d'infertilité.	54
Tableau 6 : Répartition des sujets selon les cas normaux et cas pathologiques.	55
Tableau 7 : Répartition de la fréquence des cas pathologiques.	57
Tableau 8 : Répartition de type d'infertilité selon pathologies.	59
Tableau 9 : Distribution des cas en fonction de la tranche d'âge et les anomalies spermatiques	61
Tableau 10 : distribution de nombre de consultation selon secteurs d'activités.	62
Tableau 11 : Distribution des cas normaux et pathologiques selon la profession.	64
Tableau 12 : Répartition des patients selon les antécédents urogénitaux et les anomalies spermatiques	65
Tableau 13 : Répartition des sujets selon le mode de vie et les anomalies spermatiques.	67
Tableau 14 : Fréquence des anomalies macroscopiques du spermogramme.	68
Tableau 15 : Fréquence de l'estimation des agglutinats	68
Tableau 16 : Répartition de la nécrospermie selon les cas pathologiques.	69
Tableau 17 : la moyenne de la concentration de spermatozoïdes des patients étudiés.	70
Tableau 18 : Fréquence de la concentration anormale des cellules rondes selon les cas pathologiques	71
Tableau 19 : La moyenne de la mobilité des cas normaux et cas pathologiques.	71
Tableau 20 : Fréquence et pourcentage des différents types de spermocytogrammes.	72
Tableau 21 : Fréquence des différents cas pathologiques composant les spermocytogrammes anormaux.	74
Tableau 22 : Distribution de fréquences des différents anomalies des formes atypiques.	78
Tableau 23 : Concentration moyenne en protéines totales du liquide séminal des cas étudiés.	79

Listes des planches

	Pages
Planche. 1 : Atypies de la pièce intermédiaire du spermatozoïde.	105
Planche. 2 : Atypies de la tête du spermatozoïde.	108
Planche. 3 : Atypies du flagelle du spermatozoïde.	112

Listes des annexes

	Pages
ANNEXE I. Spermogramme	124
ANNEXE II. Spermocyto gramme	126
ANNEXE III. Dosage des protéines totales	127
ANNEXE IV. Electrophorèse des protéines :Préparation des solutions d'extraction	128
ANNEXE V. Electrophorèse des protéines :Préparation des gels	129
ANNEXE VI. Electrophorèse des protéines :SDS-PAGE	130
ANNEXE VII. Electrophorèse des protéines :Préparation des solutions de fixation et de coloration	131