

République Algérienne Démocratique et Populaire
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de La recherche Scientifique



**Université Abbas Laghrour –
khenchela**
*Faculté des sciences de la nature et
de la vie*



Département De Biologie
Mémoire en vue de l'Obtention du Diplôme de
Master académique
Option : Microbiologie Cellulaire et Moléculaire

Thème

**Infertilité masculine,
Causes, Spermogramme et Spermoculture
chez des patients à Khenchela**

Présenté par :

Youcef Bouhlala

Soutenu le 26 Juin 2014

Devant le Jury :

Présidente : A.Bouakkez	(MAB) Université Abbes Laghrour Khenchela
Examinatrice : R.Djemil	(MAB) Université Abbes Laghrour Khenchela)
Encadreur: F.Derouiche	(MAB) Université Abbes Laghrour Khenchela)

Année universitaire 2013/2014

Remerciement

Avant tout, notre premier remerciement sera pour « allah » le tout puissant dieu qui nous a octroyé la volonté, le courage, la patience et l'aide pour continuer nos études.

Nous tenons à remercier fidelement tous ceux qui nous ont aidés et contribuer de loin ou de pré quand à l'élaboraétion de ce mémoire de fin d'études.

Nous remercions l'encadreur Madame Derouiche Faouzia maitre-assistance au département des sciences de la nature et de la vie Université Abbes Laghrour Khenchela, pour nous avoir d'encadrées.

Nous remercions les membres du jury, Mme Amel Bouakkez Maitre assitante à l'Université Abbes Laghrour Khenchela, Mme Djemil Randa Maitre assitante à l'Université Abbes Laghrour Khenchela

Dédicace

Mon père : qui a été pour moi un soutien constant le long de mes études, et qui s'est toujours sacrifié pour le bonheur des ses enfants en leur donnant toujours de son mieux.

J'espère qu'il trouve ici le témoignage de ma grande reconnaissance et je prie dieu de lui donner le bonheur le réstant de ces jours.

Ma mère, je ne peux pas oublier ses regards qui reflètent l'espoir et l'optimisme, son sourire qui me couvre de jour en jour d'un amour dont les mots ne suffisent pas à exprimer.

Mes fidèles amies : Chaabane, zakaria, Nabil.

Bouhlala Youcef

Listes des figures

Figure 01 : Coupe sagittale de sphère uro-génitale masculin.....	03
Figure 02 : Organisation générale du testicule.....	05
Figure 03 : Coupe histologique testiculaire montrant le tube séminifère et le compartiment interstitiel.....	05
Figure 04 : Spermatogénèse.....	07
Figure 05 : Les étapes de différenciation de la spermatide en spermatozoïdes.....	08
Figure 06 : Régulation hypothalamo-hypophysaire schématisée des fonctions endocrines et exocrines de l'homme adulte.....	10
Figure 07 : Ultra structure du spermatozoïde humain.....	11
Figure 08 : Composition de sperme.....	12
Figure 09 : Les différentes étapes de la fécondation.....	14
Figure 10 : Morphologie des spermatozoïdes humains (Coloration de Papanicolaou).....	16
Figure 11 : Mycoplasma dans un milieu de culture.....	49
Figure 12 : Chlamydiae dans des Vacuoles.....	62
Figure 13 : Répartition du Nombre de 56 malade selon l'âge.....	65
Figure 14 : Répartition de nombre de 56 patients sans particularité selon le mois.....	65
Figure 15 : Répartition du nombre de 56 patients sans particularité et avec anomalie en 3 mois.....	66
Figure 16 : Répartition du nombre de 56 patients selon l'anomalie.....	66
Figure 17 : Répartition de nombre de 56 patients selon le spermoculture.....	67
Figure 18 : Répartition de nombre de 56 patients infecté par Chlamydiae selon le mois.....	67
Figure 19 : Répartition de nombre de 56 patients infecté par Chlamydia et Mycoplasma selon le mois.....	68
Figure 20 : Répartition du nombre de 56 patients sans particularité et avec anomalie selon le mois.....	69

Liste des tableaux

Tableau 01 : Données actuellement admises pour juger de la qualité du sperme selon l'OMS.....	31
Tableau 02 : Marqueurs de chaque compartiment et leurs concentrations.....	32
Tableau 03 : Répartition des anomalies spermatiques selon le dosage de protéine.....	
Tableau 04 : Composition (Mycoplasma R 1+Mycoplasma R 2)	51
Tableau05 : Identification (cupules n=1à 3).....	52
Tableau06 : Numération indicative (cupule n=4 et 5).....	52
Tableau07 : Tests de sensibilité (cupule n=6 à 22).....	.53
Tableau 08 : Traitement des flacons au laboratoire.....	.56
Tableau 09 : Lecture de la coloration du bouillon Urée-Arginine LYO 2.....	.57
Tableau 10 : les résultats de lecture de la galerie sur la fiche de résultats en fin de notice.....	..58
Tableau 11 : Contrôle qualité (protocole, résultats attendus).....	59
Tableau 12 : Les variations de sensibilité.....	61
Tableau 13 : Données de spermogramme et spermoculture de 56 patients à la grande clinique mezdaouet de Khenchela.....	63

Liste des abréviations :

[] : Concentration

An: A normal

ANT: Astheno-necro-teratospermie

AZI: Azithromycine

Ch: Chlamydia

CIP: Ciprofloxacine

CIVETE : Culture Intra-vaginale et Transfert d'embryon CIVETE

CLA: Clarythromycine

CMV : Cytomégalovirus

DOT: Doxycycline

ERY: Erythromycine

FIV : l'avènement de la fécondation in vitro

GNRH: Gonadotrophine releasing hormone

Im : immobile

JOS: Josamycine

Mb : mobile

Myco: Mycoplasma

N: Normal

OFL: Ofloxacine

Test de sensibilité (S:sensible/ I:intermédiaire / R:resistant)

TET : Tétracycline

TET : Transfert Embryonnaire Tubaire

V: Volume

ZIFT: Zygote Intra-Fallopian Transfer

Sommaire	
Résumé	
Liste de tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Sommaire	
Introduction	01
Chapitre I : Généralités	
1. Anatomie de la sphère uro-génitale	03
1.1.1. Organes	03
1.1.2. Voies spermatiques	04
1.1.3. Glandes annexes	06
2. Physiologie des testicules	06
2.1. Spermatogenèse et spermiogénèse	06
2.2. Régulation hormonale de la spermatogenèse	08
2.2.1. Action des gonadotrophines	08
2.2.2. Rétrocontrôle de la sécrétion des gonadotropines par le testicule	
2.3. Ultra structure de spermatozoïde	09
2.4. Le sperme	11
3. Physiologie des spermatozoïdes	12
3.1. Trajet des spermatozoïdes	12
3.2. La fécondation	13
4. La numération de globules blancs contenus dans le sperme	15
4.1. Définitions concernant le sperme	17
4.2. L'étude de caryotype	19
4.3. L'index de fragmentation de l'ADN des spermatozoïdes	20
Chapitre II : Causes de l'infertilité masculine	
1. Différentes Causes d'infertilité masculine	21
1.1. Age des futurs parents	21
1.2. Hypogonadismes hypogonadotropes	21
1.3. Facteurs psychiques et nutritionnels	21
1.4. Maladies générales chroniques	21
1.5. Insuffisance testiculaire primaire hypergonadotrope	21
1.6. Anomalies chromosomiques	21
1.7. Tumeur testiculaires	21
1.8. Cryptorchidie	21
1.9. Infection virale des testicules (orchite)	21
1.10. Varicocèle	21
1.11. Traumatismes testiculaires	21

1.12. Antécédents de chirurgie.....	21
1.13. Causes obstructives par anomalies du transport des spermatozoides	22
1.14. Pathologie prostatato-vésiculaire	22
1.15. Anomalies de la structure ou de la mobilité des spermatozoïdes.....	22
1.16. Troubles du comportement sexuel.....	22
1.17. Facteurs professionnel et environnementale chimiques, physiques et risques.....	22
1.18. Cause idiopathiques :.....	22
2. Causes microbiologique.....	23
2.1. Chlamydiae.....	23
2.2. Mycoplasma.....	25
3. Causes génétiques.....	26
Chapitre III : Exploration de l'infertilité masculine	
1. L'infertilité.....	28
1.1. Bilan d'une exploration de l'infertilité.....	28
1.1.1. Examens biologique de première intention systématique.....	28
1.1.2. Examens complémentaires de première intention	31
2. Anomalie de sperme.....	34
2.1. Anomalies du nombre des spermatozoides.....	35
2.2. Troubles de la mobilité : asthenozoospermie.....	36
2.3. Anomalies morphologiques des spermatozoides	37
2.4. L'infection.....	37
2.5. Autoimmunisation anti-spermatozoides.....	37
2.6. Autres anomalies.....	37
Partie pratique	
1. Cadre d'étude.....	39
2. Matériel et méthodes.....	39
2.1. Matériel.....	39
2.2. Méthodes.....	40
2.2.1. Technique d'analyse de sperme.....	40
1. Spermogramme.....	40
1.1. Conditions de recueil de sperme.....	40
1.2. Paramètres mesuré dans le spermogramme.....	40
1.3. L'analyse morphologique des spermatozoides « Spermocytogramme ».....	42
1.4. Spermoculture.....	42
1.4.2. Chlamydia Ag.....	43
1.4.3. Mycoplasma IST 2.....	49

1.4.4 Résultats	63
Discussion	70
Conclusion	73
Référence bibliographiques	75
Résumé/ Abstract / ملخص	

Introduction

la stérilité qui se définit autant de l'incapacité d'avoir des enfants dans un couple, constitue un drame social dans le monde et dans notre pays et en particulier à Khenchela ; Elle est de Premières causes de mésentente conjugale ou de divorce, elle est considérée comme une fatalité, un sort ou une malédiction infligée au couple. L'homme et ses parents ont coutume d'accuser le plus souvent la femme qui se retrouve sans défense alors que la responsabilité masculine de la stérilité conjugale existe. Il arrive parfois chez certains couples que le mari refuse de pratiquer les examens et analyses nécessaires qui leur permettraient de soigner leur infertilité. L'argument qu'il évoque est en général le Suivant : « Il est interdit de gaspiller de la semence même pour des analyses ». Donc il n'y a rien à faire, il ne reste plus qu'à prier. En réalité, ces hommes se réfugient derrière un interdit qu'ils connaissent mal, par angoisse de découvrir que la stérilité de leur couple ne serait due, en réalité qu'à eux même, ce qui froisserait douloureusement leur égo et leur virilité. ans le monde 15% des couples souffrent de stérilité à un moment de leur vie reproductive [1]. Actuellement l'homme est responsable de 30% à 50% des cas de stérilité du couple, et ce trouble affecte un homme sur vingt. Cependant, il peut être difficile de distinguer un homme ayant une fertilité normale d'un autre ayant une fertilité réduite []. La toute première cause en est que le désir de grossesse est repoussé à un âge toujours plus avancé. La question de savoir si les modifications du spermogramme jouent aussi un rôle est très exploité par les médias, mais très controversée dans la littérature scientifique Dans les pays développés, depuis l'avènement de la fécondation in vitro (FIV), la prise en charge des couples stériles connaît un essor considérable avec les techniques et variantes de la procréation médicalement assistée : FIV, Culture Intra-vaginale et Transfert d'embryon (CIVETE), Zygote Intra-Fallopian Transfer (ZIFT), Transfert Embryonnaire Tubaire (TET). Un bilan précis est toutefois pathonécessaire avant tout geste thérapeutique (spermogramme avec spermocytogramme, dosage biochimique, dosage hormonal, échographie, bilan infectieux,...). A notre connaissance, peu d'études sur les facteurs étiologiques de la stérilité du couple ont été faites mais les demandes de consultation pour infécondité se font de plus en plus nombreuses.

Cette étude démontre les causes de la stérilité des hommes et les diagnostics réalisés à Khenchela afin d'améliorer au futur sa prise en charge et d'en établir une bonne stratégie thérapeutique.

Notre travail est réparti en 02 volets, dans un premier volet, 03 chapitres ont été consacrés à démontré les causes et l'exploration de l'infertilité masculine, dans un deuxième volet, une partie expérimentale concernant les spermogrammes et spermocultures chez des patients à Khenchela a été réalisée.

1. Anatomie de la sphère uro-génitale

L'appareil reproducteur masculin assure la production, le stockage et le transport du matériel génétique contenu dans les gamètes mâles, ou spermatozoïdes [1] [2]. Dans les organes principaux sont les testicules, les épidendymes, les canaux déférents, le canal éjaculateur, l'urètre et le pénis [3]. Les organes auxiliaires sont les glandes bulbo-urétrales, la prostate et les vésicules séminales [4] [5] (Fig.1).

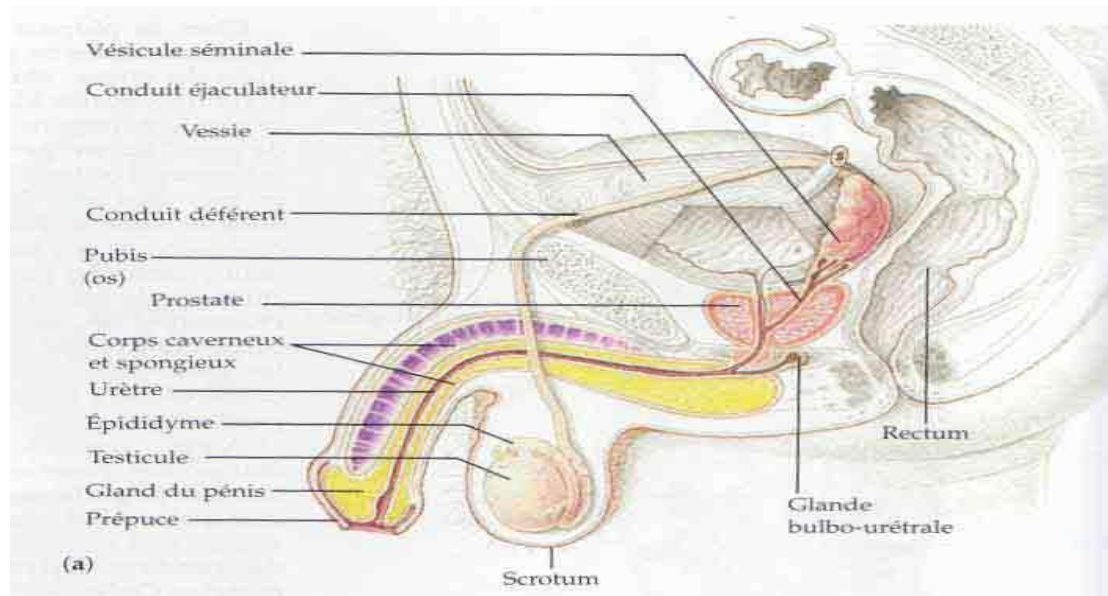


Figure 1. Coupe sagittale de sphère uro-génitale masculine. [5]

1.1.1. Organes.

Le scrotum: est un sac de peau plus ou moins plissée, généralement plus pigmentée que la peau du corps (plus foncée), elle contient des glandes sébacées et couverte de poils [1].

Le dartos (sous la peau), membrane fibreuse recouverte d'un muscle crémaster, dont la fonction est d'élever le testicule de manière volontaire, au moment de l'éjaculation [2].

Les testicules (testes): tous les mammifères possèdent des testicules jumelés, de forme ovoïde, surface lisse, blanc/ bleu, ferme, le testicule droit est placé plus haut que la gauche [3] [6].

La taille des testicules est variable mais les dimensions habituelles sont: 5 cm pour le

grand axe, 3 cm pour le petit axe, et 2,5cm pour l'épaisseur [6]. Chaque testicule est formé de l'albuginée (=enveloppe fibreuse qui entoure les 300 à 500 lobules testiculaires) ; chaque lobule testiculaire contient un peloton de tubes très fin = les tubes séminifères; font entre 30 et 70cm de long pour 350µm de diamètre, ces tubes aboutissent à un réseau nommé le rete-testis ; lui-même est constitué de canaux plus larges qui communiquent entre eux pour aboutir à l'épididyme [7] (Fig.2).La paroi des canaux séminifères est le lieu de la spermatogénèse. C'est à l'intérieur de ces tubes séminifères que débute la fabrication des spermatozoïdes [3].

La paroi de ces canaux est composée de 2 types de cellules: les cellules de Sertoli qui produisent les substances chimiques nécessaires à la spermatogénèse (plus le rôle de soutien et de nutrition) et les différentes lignées cellulaires de la spermatogénèse [2] (Fig.3). Les cellules de Leydig, aussi nommées cellules interstitielles, qui se trouvent entre les canaux séminifères et qui contrôlent le développement des caractères sexuels primaires et secondaires, et jouent un rôle dans le fonctionnement de l'appareil génital masculin et le comportement sexuel, elles produisent et sécrètent environ 95% de la testostérone chez l'homme (les 5% restant viennent des glandes surrénales, ce qui explique que les femmes aient aussi une faible quantité de testostérone) [3] [2] [6](Fig.3).

1.1.2. Voies spermatiques

Le Cônes efférents draine le rete-testis. Environ 10 à 12 cônes traversent l'albuginée et se jettent dans la tête de l'épididyme [8].L'épididyme est un renflement (5 à 7 m chez l'Homme) pelotonné sur lui-même qui prend naissance au sommet du testicule, descend le long de sa face externe et se termine dans un autre canal: le canal déférent [1]. À l'intérieur se trouve un conduit très long (6m), pelotonné sur lui même, qui va recevoir toutes les sécrétions testiculaires (spermatozoïdes et hormones). Ils permettent aux spermatozoïdes de compléter leur maturation (1 jour dans la tête; 4 à 5 jours dans le corps et la queue) [9] (Fig.2).

Le canal déférent long de 45cm, environ 2mm de diamètre, prolonge celui de l'épididyme et assure le transit des spermatozoïdes jusqu'à l'urètre. Le petit renflement du canal déférent, à la fin de son parcours, est appelé: ampoule différentielle (lieu de stockage des spermatozoïdes) [8] [3].

1.1.3. Glandes annexes

Les vésicules séminales (ou glandes vésiculeuses), sont les deux glandes débouchant dans la prostate située au voisinage de la vessie, produisent plus de la moitié du liquide séminal, mesurant 5 à 10 cm de long, pour un volume de 5 à 10ml [5] [1].

Les vésicules séminales sécrètent un liquide alcalin de nature visqueuse et de coloration jaunâtre renfermant du fructose ainsi que de l'acide ascorbique [3] [9], des protéines jouant un rôle dans la coagulation (spécifiquement la séminogéline et des prostaglandines) [4]. Les spermatozoïdes et le liquide séminale se mélangent dans le conduit éjaculateur puis pénètrent dans l'urètre et plus précisément dans sa partie prostatique à l'instant de l'éjaculation [10] [2] (Fig.1).

La prostate ; est la plus grosse des glandes annexes. Elle entoure les parties supérieure de l'urètre et déverse directement ses sécrétions dans ce dernier par l'intermédiaire de plusieurs petits conduits [4] [10]. Le liquide prostatique (10-30 % du liquide séminal) est fluide, laiteux et relativement alcalin, ce qui a pour effet d'équilibrer l'acidité de l'urine restant dans l'urètre et l'acidité naturelle du vagin. L'hyperplasie de la prostate cause certains problèmes médicaux assez répandus chez l'homme ayant dépassé la quarantaine [4] [9] [2] (Fig.1).

Les glandes bulbo-urétrales; les dernières structures annexes, sont une paire de petites glandes situées le long de l'urètre, sous la prostate. On ne connaît pas encore leur fonction. Elles sécrètent un liquide visqueux avant l'éjaculation [3] [10]. On a suggéré que ce liquide joue le même rôle que le liquide prostatique ou qu'il sert à lubrifier le pénis et le vagin [4] [11] (Fig.1).

2. Physiologie des testicules

2.1. Spermatogenèse et spermiogénèse

A l'opposé des cellules germinales femelles qui entrent toutes en méiose aux premiers stades du développement [1], les cellules germinales mâles conservent une population de cellules qui peut se diviser par mitose et à partir desquelles des cellules méiotiques peuvent émerger tout au long de la vie [12].

Et contrairement à l'ovocyte qui vieillit avec la mère, les cellules germinales mâles est une cellule qui a toujours le même âge. Ce ci explique que l'on ne retrouve pas chez l'homme les anomalies de la méiose liées au vieillissement du gamète [6] [13].

La spermatogénèse débute à la puberté, et dure toute la vie, elle correspond à la

fabrication continue des spermatozoïdes sous le contrôle de la testostérone et de la FSH [6]. Une éjaculation contient entre 100 à 250 millions des spermatozoïdes [13].

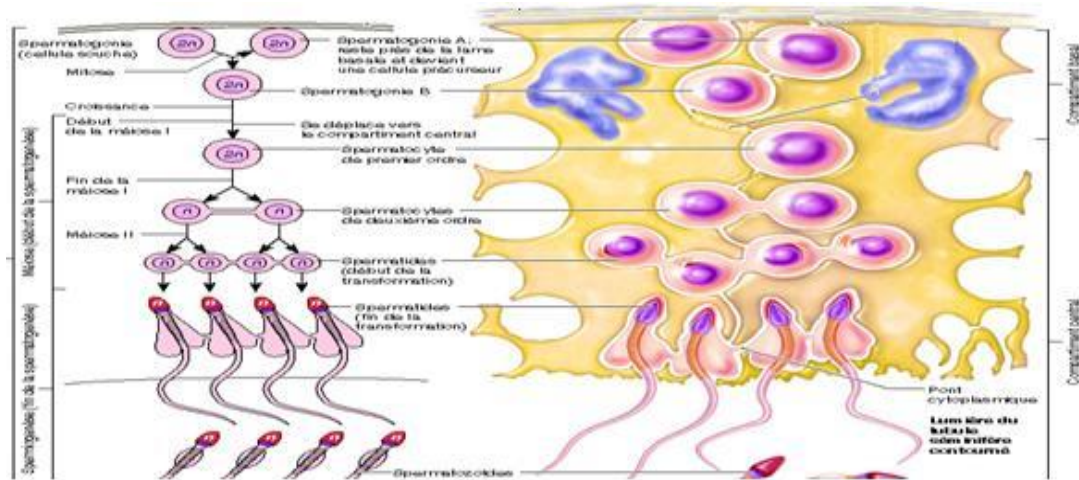


Figure 4. Spermatogenèse [6]

Les spermatogonies sont des cellules souches primitives, qui se trouvent à la périphérie de chaque tubule, et donne des spermatozoïdes suite à la méiose. Les cellules issues d'une spermatogonie maintiennent entre elles des ponts cytoplasmiques, afin qu'elles soient synchrones [14][13].

Les cellules germinales les moins différenciées sont les spermatogonies de type A, ces cellules peuvent se diviser de très nombreuses fois et donnent des spermatogonies de type B, cellules qui entrent dans un processus de différenciation [13] [12] (Fig.4).

Puis la spermatogonie grandit et devient spermatocyte I (grandes cellules ovalaires à un noyau arrondi, contenant plusieurs nucléoles). À ce stade, ce sont toujours des cellules souches avec 2n chromosomes [13]. La première division méiotique conduit à la séparation des chromosomes homologues et à la formation des spermatocytes II qui n'ont plus que n chromosomes. La deuxième division aboutit à la répartition des chromatides de chaque chromosome homologue et donc la formation des spermatozoïdes qui migrent vers la "lumière" du tube [14] [15].

La différenciation de ceux-ci donne finalement le spermatozoïde, au centre du tube la spermiogenèse dure 23 jours [16] (Fig.4). C'est la dernière étape de la spermatogénèse, et comprend des étapes successives suivantes qui peuvent se dérouler de manière synchrone:

- Condensation du noyau : compaction et réduction du noyau, condensation du contenu du noyau à un volume minimal [14] (Fig.5, 1).

-Formation de l'acrosome: Capuchon céphalique contenant des enzymes (lysozyme) qui joue un rôle important dans la pénétration du spermatozoïde dans l'ovule [12] (Fig.5, 2).

-Formation du flagelle : Formation de la queue du spermatozoïde [12] (Fig.5, 3,4).

-Réduction cytoplasmique: Rejet de tous composants cellulaires inutiles du cytoplasme [16] [12] (Fig. 5,6).

Les spermatozoïdes sont ensuite libérés dans la lumière du tube séminifère [4] [12] (Fig.5, 7).

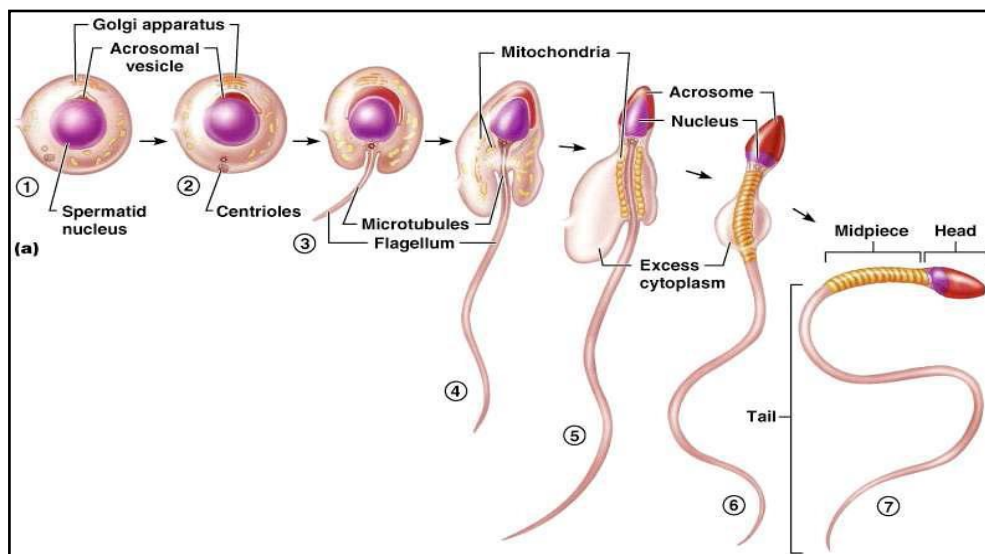


Figure 5. Les étapes de différenciation de la spermatide en spermatozoïde [20]

2.2. Régulation hormonale de la spermatogenèse

L'installation de la spermatogenèse à la puberté et son maintien dépendent d'un contrôle hormonal hypothalamo- hypothalamo-[14] [1] [17].

2.2.1. Action des gonadotrophines

➤ Chez l'homme, la testostérone joue un rôle plus ou moins important dans le maintien de la spermatogenèse [3] [17] [6].

➤ La FSH en est l'hormone hypophysaire essentielle. Elle est responsable du déclenchement et du maintien de la spermatogenèse, et elle agit sur les tubes séminifères par l'intermédiaire des cellules de Sertoli pour assurer le bon déroulement de la spermatogenèse [6] [18].

➤ La LH joue aussi un rôle indirect, elle agit sur les cellules de Leydig qui produisent la testostérone [6]. Celle-ci, en synergie avec la FSH, entraîne la production par la cellule de Sertoli d'une protéine de liaison appelée ABP (Androgen Binding Protein)

[18] [16]. La liaison de l'ABP aux androgènes permet le maintien d'une concentration élevée d'androgènes dans le tube séminifère, nécessaire à la poursuite de la méiose et de la spermatogenèse [16] [6].

Le complexe testostérone-ABP agit sur les spermatocytes en activant la méiose et sur les spermatides en stimulant la spermiogenèse [3] [6].

La testostérone est également responsable de l'apparition des caractères secondaires et du Comportement sexuel.

➤ L'inhibine est une glycoprotéine qui inhibe la sécrétion et la libération de FSH induite par le GnRH [4] [16] [6].

➤ La prolactine joue un rôle favorable sur la stéroïdogénèse. La PRL entraîne une augmentation du nombre de récepteurs leydigiens à LH et la fixation de LH à ses récepteurs [16]. Il s'ensuit un accroissement de la synthèse et de la sécrétion de testostérone [3] [6].

2.2.2. Rétrocontrôle de la sécrétion des gonadotropines par le testicule.

L'inhibine a une action inhibitrice au niveau hypophysaire et peut-être hypothalamique et réduit aussi la synthèse que la libération de FSH. Si on détruit les cellules de Sertoli, le taux sérique de LH n'est pas modifié alors que celui de FSH s'élève [6]. Si l'on détruit ensuite les cellules de Leydig, le taux de testostérone chute, la LH s'élève au niveau des taux du castré, la FSH également. Donc, le rétrocontrôle de la LH est exclusivement dû à la présence des stéroïdes leydigiens alors que celui de la FSH résulte pour une part des stéroïdes sexuels et, pour l'autre de l'inhibine [14] figure 17.

Il existe au niveau du complexe hypothalamo-hypophysaire des cellules ayant des récepteurs pour la testostérone (Cellules cibles de l'hormone) [16]. Ces cellules peuvent détecter le taux sanguin de testostérone, au-delà d'une certaine valeur, la concentration de testostérone freine les sécrétions de GnRH, FSH et LH; On parle d'un rétro-contrôle inhibiteur [17] (Fig. 6).

2.3. Ultra structure de spermatozoïde

Le spermatozoïde est une cellule autonome qui mesure 100 à 150 µm de long. Il est constitué de deux parties distinctes : la tête et le flagelle [1] [19] [12].

La tête a un contour très régulier ovalaire avec un grand axe mesurant 5 µm et un petit axe mesurant

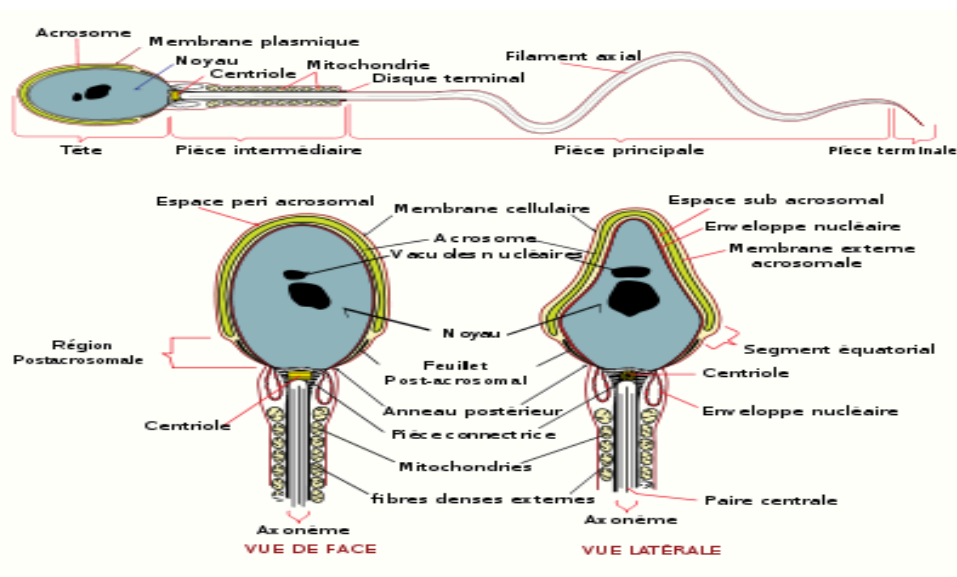


Figure 7 : Ultra structure du spermatozoïde humain. Schéma de la cellule en coupe longitudinale. [19]

La pièce principale, c'est-à-dire le reste du flagelle, mesure environ 45 micron (soit environ 10 fois la longueur de la tête), à un diamètre de l'ordre de 0,4 à 0,5 micron, est développée avec un contour régulier et un aspect homogène [1] [19].

Le flagelle assure la propulsion de la tête du spermatozoïde et donc sa progression en effectuant des oscillations de droite à gauche à la manière d'un serpent [18] [19]. La mobilité des spermatozoïdes dure entre 12 et 24 heures, pour les trois-quarts d'entre eux [44] (Fig.7).

2.4. Le sperme

Le sperme, ce liquide essentiel à la reproduction humaine et fabriqué par l'appareil génital masculin. Le sperme est un liquide opaque, blanchâtre produit par l'éjaculation, composé de spermatozoïdes en suspension [9], dans le liquide séminal qui est un mélange des sécrétions provenant du testicule, de l'épididyme, des vésicules séminales, de la prostate, ainsi que des glandes de littré et bulbo-urétrales[20][21].

Le sperme est composé pour 90% de liquide séminal et pour de 10 % de spermatozoïdes, c'est un liquide légèrement collant qui sert de milieu protecteur pour les spermatozoïdes. Son PH est alcalin (7,2 à 7,6) ce qui aidera à neutraliser l'acidité naturelle du vagin, favorisant ainsi la progression et la survie des spermatozoïdes dans les organes de la femme. La quantité de sperme émise lors d'une éjaculation est d'environ 2 à 5 ml, chaque millilitre renfermant entre 50 et 130 millions de spermatozoïdes [9] [2]. 15.2% du volume de l'éjaculat provient des

sécrétions prostatiques; 12.1% provient des épидидymes et les déférents; 68% du volume provient des vésicules séminales. Un volume trop faible peut évoquer une éjaculation incomplète [20] [22] (Fig.8).

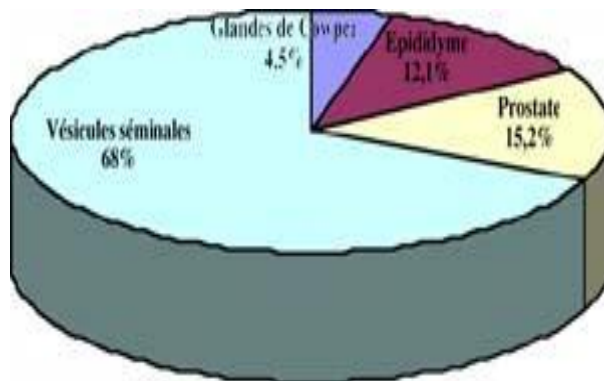


Figure 8 : composition de sperme [22]

Le sperme contient deux vitamines C et B12, de nombreux sels minéraux comme le calcium, le magnésium, le phosphore, le potassium et le zinc. Le sperme contient aussi deux sucres: fructose et sorbitol, et riche en protéine, en sodium et en cholestérol [9]. Le sperme est un élément corporel qui contient de nombreuses cellules lymphocytaires, cela explique la possibilité de transmission par voie sexuelle de certaines maladies virales; HIV, Hépatite, B et C, et d'autres virus comme CMV

3. Physiologie des spermatozoïdes

3.1. Trajet des spermatozoïdes

Les spermatozoïdes formés se retrouvent dans la lumière des tubes séminifères, mais ils ne sont pas féconds à leur sortie pour qu'ils deviennent féconds, 3 étapes sont nécessaires [23]

–un passage au niveau de l'épididyme, ce qui permet la maturation des spermatozoïdes avec des remaniements membranaires au niveau protéique, lipidique et glycoprotéique, avec l'apparition de récepteurs membranaires susceptibles de reconnaître la zone pellucide de l'ovocyte, structures protéiques qui sont ensuite protégées[24]. Les spermatozoïdes acquièrent également un début de mobilité qu'ils

n'avaient pas dans les tubes séminifères; cette acquisition n'est pas leur capacité de mobilité définitive [25]. Des structures de protection sont également mises en place, notamment afin de protéger les récepteurs de l'ovocyte pour qu'ils ne soient pas altérés pendant le voyage. La majeure partie des transformations se font dans l'épididyme [26] [27] [18].

–Le passage par les voies génitales mâles, pendant lesquelles sécrétions riches en sucres des glandes annexes (vésicules séminales, prostate et glandes bulbo-urétrales), composées de différentes substances à la base du liquide séminal du sperme, permettent la mise en place des protections, notamment grâce à des replis membranaires dans l'épididyme; ces sécrétions permettent aussi la nutrition des spermatozoïdes [24] [28].

-L'étape de capacitation des spermatozoïdes, qui se passe dans les voies génitales femelles, l'acquisition du pouvoir fécondant ne se fera que dans les voies génitales femelles et dure environ 2 heures [26] [25]. Un spermatozoïde prélevé dans le testicule n'est jamais fécondant dans les conditions physiologiques. Néanmoins, un spermatozoïde éjaculé ne peut pas immédiatement féconder un ovocyte [24] [29].

Au cours de leur passage dans l'épididyme, les spermatozoïdes se couvrent de protéines fabriquées par la prostate et la vésicule séminale. Certaines de ces protéines contribuent au blocage temporaire de la fécondance [24]. Le spermatozoïde doit d'abord quitter le liquide séminal avant d'être capacité. Cette séparation a lieu au niveau du col utérin, l'élimination du plasma séminal ne suffit pas à la capacitation; elle nécessite la présence de protéines utérines [30] [29].

Le deuxième changement est un changement de mobilité. L'amplitude et la fréquence des spermatozoïdes capacités augmentent, on les qualifie d'hypermobiles [29]. La capacitation permet le déroulement des premières étapes de la fécondation, et démasque au niveau de la membrane cytoplasmique du spermatozoïde le récepteur membranaire de la ZP3 [24].

3.2. La fécondation

Suite à un coït, l'orgasme chez l'homme se manifeste par l'éjaculation de 3 ml de sperme environ dans le vagin [27] [31]. Seuls les éléments mobiles pénètrent dans la glaire cervicale du col utérin, le liquide séminal est laissé au fond de la cavité vaginale où il sera évacué [25] [32].

Les autres sont éliminés par les deux pavillons dans la cavité péritonéale où ils seront phagocytés. Actuellement, on n'admet que la durée du trajet des spermatozoïdes, de la cavité vaginale jusqu'au tiers externe de l'oviducte, est de 30 minutes en moyenne [27] [30] [32].

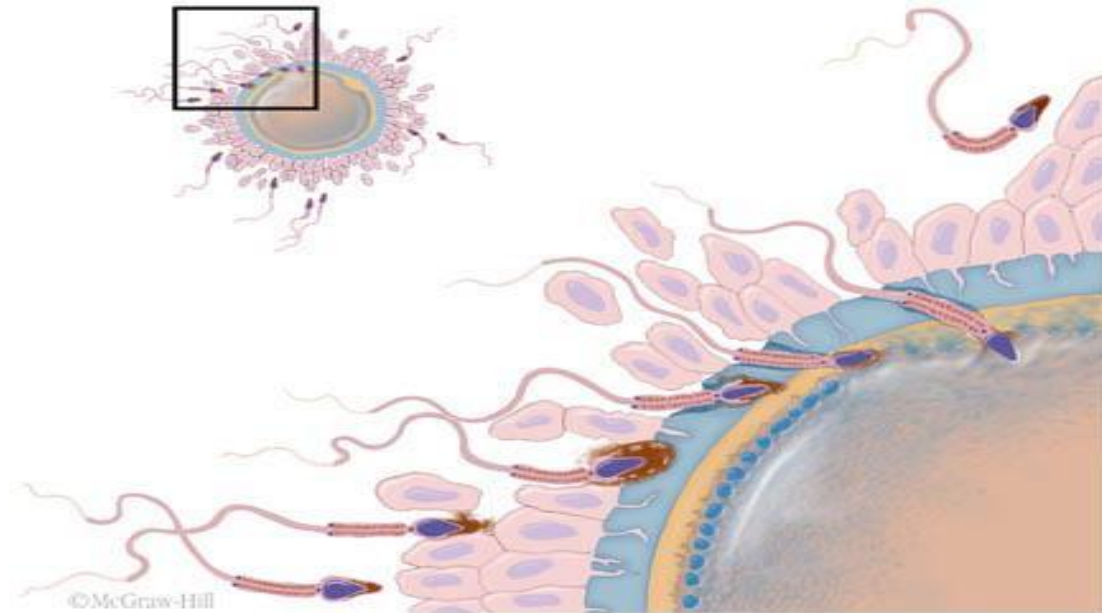


Figure 9: Les différentes étapes de la fécondation [30]

Pour que la fécondation réussisse, les deux gamètes doivent se rencontrer à un moment et un état de

Maturité propice [33] [31] [32]. L'ovocyte doit être entouré des cellules folliculaires et bloqué en métaphase de deuxième division méiotique. Le spermatozoïde doit se trouver dans un état compatible, il doit être mobile afin de pouvoir traverser l'oviducte et être capable d'interagir avec la zone pellucide et rentrer dans l'ovocyte [27] [14]. Il résulte de ces phénomènes une cellule volumineuse : l'œuf fécondé ou zygote, constitué par le cytoplasme de l'ovocyte et par deux éléments nucléaires: le pronucléus femelle et le pronucléus mâle [30].

1. Le sperme éjaculé : L'éjaculation du sperme peut être obtenue par masturbation, par vibromassage et par électro-éjaculation réalisée chez certains paraplégiques initiés en centre. [29]

2. Le sperme récupéré par prélèvement nécessitant l'intervention du médecin : Il existe plusieurs organes dans lesquels, il est possible de prélever du sperme contenant des spermatozoïdes. Ce type de prélèvement est utilisé chez des patients atteints d'une azoospermie obstructive ou sécrétoire. [30]

3. La mobilité des spermatozoïdes

Une heure après l'éjaculation, 50 % ou plus de spermatozoïdes doivent avoir une mobilité normale, c'est-à-dire en déplacement progressif, dont 25 % progressifs rapides ; 30 % ou plus de spermatozoïdes doivent avoir une mobilité normale progressive trois heures après l'éjaculation. La mobilité des spermatozoïdes est classée en quatre catégories (ou grades) : Catégorie "a" : mobilité fléchante et rapide (vitesse $>25 \mu\text{m/s}$). [32]

Catégorie "b" : mobilité lente (vitesse de $5-25 \mu\text{m/s}$).

Catégorie "c" : mobilité sur place.

Catégorie "d" : immobilité.

Selon les normes de l'OMS-1999, dans l'éjaculat, au moins 50 % spermatozoïdes doivent avoir une mobilité normale (catégories a+b), et aussi, dans l'éjaculat, au moins 25 % des spermatozoïdes doivent avoir une mobilité de catégorie "a"..

Selon les nouvelles normes de l'OMS -mai 2010, dans l'éjaculat, au moins 30 % spermatozoïdes doivent avoir une mobilité normale (catégories a+b), et aussi, dans l'éjaculat, au moins 40 % des spermatozoïdes doivent avoir une mobilité de catégorie "a+b+c" [32]

- **Présence ou non d'agglutinats de spermatozoïdes**

Les agglutinats correspondent un rassemblement (accolement) de plusieurs spermatozoïdes vivants ensemble. Les agglutinats s'expliquent par la présence de spermatozoïdes vivants et porteurs des anticorps anti-spermatozoïdes. Les agglutinats de spermatozoïdes doivent être [31].

Différencier des agrégats de spermatozoïdes, qui sont la réunion et l'accolement de plusieurs spermatozoïdes morts ensemble.

4- La numération de globules blancs contenus dans le sperme

Normalement la numération des leucocytes est inférieure à (1 million/m)

Têtes normales



Anomalies de la tête



Macrocéphale Microcéphale Pyriforme Tapering



Ronde (avec acrosome) Ronde (sans acrosome) Double tête (amorphe)



Amorphe Amorphe Amorphe Amorphe

Anomalies de la pièce intermédiaire



Reste cytoplasmique Angulation

Anomalies du flagelle



Double Court Enroulé Enroulé



Absent Angulé

Figure 10: Morphologie des spermatozoïdes humains (Coloration de Papanicolaou) [29].

4.1. Définitions concernant le sperme

Normozoospermie : sperme, dont les paramètres entrent dans les normes des valeurs de référence de l'OMS [34]

Aspermie : absence d'éjaculat ou absence totale d'émission de sperme (dans certains références : volume de sperme < 0,5 ml. [34]

Hypospermie : volume total de l'éjaculat inférieur à 2 ml (ou dans certains références : volume du sperme entre 0,5 et 2 ml et pour d'autres, inférieur à 1,5 ml.

Selon les nouvelles normes de l'OMS -mai 2010, le volume total normal de l'éjaculat est égale ou supérieur à 1,5 ml. [34]

Hyperspermie : volume total de l'éjaculat 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. [34]

Azoospermie : absence de spermatozoïdes à l'éjaculat ; on parle de

L'azoospermie sécrétoire [ou azoospermie non obstructive (ANO)] si l'anomalie est une absence totale de la spermatogenèse qui se déroule dans le testicule, au niveau des tubes séminifères, l'origine de l'altération de la spermatogenèse peut être soit une affection testiculaire primitive congénitale ou acquise ; soit une insuffisance hypothalamo-hypophysaire acquise congénitale. [34]

L'azoospermie est excrétoire [ou azoospermie obstructive (AO)] si la spermatogenèse est conservée mais les spermatozoïdes ne sont pas excrétés dans le sperme en raison de la présence d'un obstacle au niveau des voies excrétoires (épididymes, canaux déférents, canaux éjaculateurs). Les lésions peuvent être acquises ou congénitales [comme l'absence bilatérale des canaux déférents. [34]

Oligospermie (oligozoospermie) : numération de spermatozoïdes inférieure à 20 millions par ml ou inférieure à 40 millions par éjaculat. Dans les nouvelles normes de l'OMS -mai 2010, l'oligozoospermie correspond à une numération de spermatozoïdes inférieure ou égale à 15 millions spermatozoïdes/ml. [34]

Oligospermie sévère : numération de spermatozoïdes inférieure à 5 millions par ml ;

Cryptozoospermie : 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).

La cryptozoospermie est sévère quand le nombre de spermatozoïdes est inférieur à 10 000 spermatozoïdes dans l'éjaculat ;

La cryptozoospermie est modérée quand le nombre de spermatozoïdes est situé entre 10 000 et moins de 100 000 spermatozoïdes dans l'éjaculat. [34]

Polyspermie ou polyzoospermie : numération de spermatozoïdes supérieure à 250 millions par ml (ou 200 millions par ml pour certains auteurs)

Asthénozoospermie : moins de 50 % de spermatozoïdes mobiles une heure après l'éjaculation ou mobilité de spermatozoïdes fléchants inférieure à 25 % ; et moins de 30 % de spermatozoïdes mobiles 3 heures après l'éjaculation. [34]

Selon les nouvelles normes de l'OMS -mai 2010, l'asthénospermie correspond à la présence dans l'éjaculat de moins 30 % spermatozoïdes à mobilité normale (catégories a+b), et aussi, dans l'éjaculat, de moins de 40 % des spermatozoïdes à mobilité de catégorie "a+b+c".

Certains auteurs distinguent entre :

Asthénozoospermie primaire : à la première heure après l'éjaculation : moins de 50 % de spermatozoïdes sont mobiles (mobilité totale) ou mobilité de spermatozoïdes fléchants inférieure à 25 % [34]

Asthénozoospermie secondaire : à la quatrième heure après éjaculation : Chute de mobilité supérieure à 50 % comparativement à la première heure. [34]

Tératozoospermie : moins de 50 % (ou moins de 30 % pour certains auteurs et l'O.M.S. 1999) des spermatozoïdes sont normaux. [34]

Selon les normes de l'OMS-1999, et en se basant sur la classification de " David "

(des anomalies morphologiques des spermatozoïdes), dans l'éjaculat, la tératozoospermie correspond à la présence de 30 % des spermatozoïdes morphologiquement normaux.

Selon les nouvelles normes de l'OMS -mai 2010, et en se basant sur la classification de " Kruger " (des anomalies morphologiques des spermatozoïdes), dans l'éjaculat, la tératozoospermie correspond à la présence de moins 4 % des spermatozoïdes morphologiquement normaux, ou moins de 15 % selon la classification de David modifiée par Auger et Eustache. [35]

Les anomalies des spermatozoïdes sont classées en quatre catégories (selon David) :

Anomalies de la tête elles englobent : spermatozoïdes microcéphales, spermatozoïdes macrocéphales, spermatozoïdes à tête allongée et spermatozoïdes à tête irrégulière. [29]

OAT : c'est l'association de trois pathologies spermatiques :
oligoasthénotératospermie

Nécrozoospermie : pas de spermatozoïdes vivants à l'éjaculation ; il faut rechercher un problème infectieux ou oxydatif [34]

Certains auteurs classent la nécrozoospermie en deux catégories :

Immobilité totale des spermatozoïdes : cette anomalie peut être due : soit à une nécrozoospermie totale ou soit à une akinétozoospermie, c'est-à-dire la présence dans le sperme que de spermatozoïdes immobiles mais vivants. Cette pathologie est due soit à une anomalie flagellaire, soit à la présence de spermatozoïdes immatures (testiculaires ou épидидymaires).

Leucospermie : numération des leucocytes > 1 million/ml ; elle évoque une infection. [34]

4.2. L'étude de caryotype doit être réalisée devant une azoospermie sécrétoire et une oligospermie sécrétoire sévère (< 5 millions spermatozoïdes/ml). En dehors de l'étude classique du caryotype il est possible de rechercher des microdélétions dans les zones

(AZFa, Normalement les spermatozoïdes possèdent 23 chromosomes [(23, X) et (23, Y)] ; ce sont des spermatozoïdes euhaploïdes (ou haploïdes) ; [84]

Mais les spermatozoïdes peuvent avoir un nombre anormal de chromosomes. Dans la majorité des cas ; ces anomalies de nombre sont la conséquence d'une anomalie de la disjonction chromosomique lors de la méiose au cours de la spermatogenèse. Parmi ces anomalies on peut constater la présence de :

Spermatozoïdes hypohaploïdes possédant par exemple seulement 22 chromosomes

Spermatozoïdes hyperhaploïde possédant par exemple 24 chromosomes, dans ce cas la il existe une disomie, c'est-à-dire, le spermatozoïde possède deux copies d'un des chromosomes, par exemple (24, XX) ou (24, YY) ou (24, XY)

Dans certaines anomalies morphologiques des spermatozoïdes (comme les spermatozoïdes macrocéphales ou polyflagelles) on peut mettre en évidence la présence des anomalies chromosomiques [84]

4.3. L'index de fragmentation de l'ADN des spermatozoïdes polyploïdie où les spermatozoïdes possèdent 46 ou 69...chromosomes

La fragmentation de l'ADN du spermatozoïde s'explique par l'entrée de ce spermatozoïde dans le processus de l'apoptose (la mort programmée des cellules). L'index de fragmentation de l'ADN des spermatozoïdes consiste à rechercher des fragments de l'ADN libérés par les spermatozoïdes au cours de leur évolution [84]

1. Différentes Causes d'infertilité masculine

En plus de toute affection pathologique, plusieurs facteurs peuvent influencer négativement la fertilité masculine et être responsables d'une hypofertilité de degré variable [22].

1.1. Age des futurs parents : Chez l'homme, l'âge intervient de façon moins important que chez les femmes, l'altération des spermatozoïdes ne commençant à s'observer qu'à partir de 45 ans, avec un risque accru d'anomalies chromosomiques au-delà de 55 ans [51].

1.2. Hypogonadismes hypogonadotropes: Il s'agit d'une insuffisance de fonctionnement de testicules, due à un trouble de leur contrôle hormonal -Déficits congénitaux de la sécrétion de l'hormone LHRH (GnRH) qui est normalement fabriquée par l'hypothalamus [51]

1.3. Facteurs psychiques et nutritionnels [57]

1.4. Maladies générales chroniques [51].

1.5. Insuffisance testiculaire primaire hypergonadotrope:

Il s'agit d'une anomalie de la production des spermatozoïdes au niveau des testicules [52].

1.6. Anomalies chromosomiques (syndrome de Klinefelter), maladie caractérisée par la présence de chromosomes X supplémentaires chez certains hommes. Ces hommes présentent une pilosité sexuelle masculine plus discrète, des petits testicules et parfois une gynécomastie (développement de seins)

1.7. Tumeurs testiculaires (tumeurs bénignes et cancers) [51]

1.8. Cryptorchidie (anomalie de position du testicule qui n'est pas au fond de bourse) [58].

1.9. Infection virale des testicules (orchite), notamment par le virus des oreillons. Une atrophie bilatérale des testicules s'observe dans 10% des orchites épidémiques (virus des oreillons)

1.10. Varicocèle (dilatation de veins autour du testicule) [51]

1.11. Traumatismes testiculaires (coup de pied, accident de vélo ou de voiture) [40].

1.12. Antécédents de chirurgie (hernie inguinale, torsion du cordon spermatique) [9].

1.13. Causes obstructives par anomalies du transport des spermatozoïdes

Les canaux qui acheminent les spermatozoïdes des testicules vers l'urètre.

1.14. Pathologie prostatovésiculaire

Infections de la prostate et des vésicules séminales (Épididymite, déférentite, vésiculite, prostatite, urétrite) [58] -Tumeur de la prostate (bénigne ou maligne) [57].

1.15. Anomalies de la structure ou de la mobilité des spermatozoïdes.

Anomalies spécifiques de la tête spermatique (globozoospermie, microcéphalie) [51]

-Anomalies structurales du flagelle (syndromedescils immobiles) [58]

1.16. Troubles du comportement sexuel.

-Troubles de l'érection (impuissance) [51]

-Anéjaculations : éjaculation rétrograde (absence d'éjaculat, existence d'un orgasme, présence des spermatozoïdes dans les urines) [57].

1.17. Facteurs professionnel et environnementale chimiques, physiques et risques

Exposition professionnelle et environnementale à des toxiques : insecticides, métaux lourds, herbicides (agents anti spermatogéniques) [52].

Professionnels : Métaux lourds : tels que :

-Le plomb (poterie, céramique, peinture, pesticides, plomberie, soudure...) [51].

-Le mercure (dentistrie, céramique, piles, pesticides, photographie, soudure...) [57]

-Le manganèse [57].

Gaz anesthésiques sont responsables d'une augmentation de risque d'anomalies morphologiques des spermatozoïdes chez le personnel de salles d'opérations, de cliniques dentaires et vétérinaires [51]

-Chaleur :(boulangerie, blanchisserie, textile, fonderies, position assises de longue durée (chauffeurs routiers) et enfin, les caleçons ou pantalons trop serrés qui gardent les spermatozoïdes au chaud et les altèrent [51]

1.18. Cause idiopathiques :

Une cause à l'infertilité masculine est retrouvée dans 50 à 60% des cas à la suite de tous les examens pratiqués [57]. Lorsqu'aucune cause n'est retrouvée on parle d'infertilité masculine «Idiopathique». Dans ces cas, les causes de l'anomalie spermatique restent inconnues.

2. Causes microbiologique

2.1. Chlamydiae

Description

Les chlamydiae constituent un large groupe de parasites intracellulaires obligatoires, qui sont étroitement liés aux bactéries à Gram négatif. Elles sont classées en trois espèces : *C. trachomatis*, *C. psittaci* et *C. pneumoniae*. Le cycle de développement des chlamydiae comprend deux particules morphologiquement distinctes à savoir un type infectieux- le corps élémentaire et un type reproductif –le corps réticulé [73]. Ces pathogènes affectent des millions de personnes à travers le monde.

Divers éléments suggèrent que les Chlamydiae sont à l'origine d'au moins 40 % des cas d'urétrite non gonococcique chez l'homme [74] [77]. La majorité des infections à Chlamydiae chez la femme sont asymptomatique avec des taux de portage dépassent les 20 %. Les infections subcliniques s'avèrent la principale cause Chlamydiae ne répondent pas à la pénicilline, utilisé pour le traitement des affections dues à *Neisseria gonorrhoea* environ 60 % des patients souffrant de blennorragie font une urétrite post gonococcique en cas d'infection concomitante par Chlamydiae [77].

Les infections à Chlamydiae représentent en outre une menace sérieuse pour la santé des nouveau-né, qui contractent des infections oculaires à la naissance via les filières pelvico-génitales de leur mère, et près de 50 % de ces enfants font une conjonctivite à inclusion, tandis qu'ils sont 20 % à contracter une infection systémique débouchant sur une pneumonie grave [75]. On a rapporté que *C. trachomatis* induit un risque accru de développement de cancer invasif du col de l'utérus [78]. On sait que *C. psittaci*, qui est essentiellement un pathogène animal, provoque la psittacose chez l'homme Chlamydiae. *pneumoniae* est responsable d'environ 10 à 20 % des pneumonies radiologiquement confirmées chez l'adulte. *Trachomatis* comprend 15 sérovars (immunotypes). les sérovars L1, L2 et L3 ont été principalement isolés chez des patients souffrant de lymphogranulome vénérien et les 12 autres sérovars ont été observés dans d'autres syndromes cliniques associés aux Chlamydiae [74].

Compte tenu de l'augmentation, de l'incidence des infections à chlamydiae, leur diagnostic précis et rapide est essentiel à la réussite du traitement [78] [79]. On dispose de différentes méthodes pour diagnostiquer les infections à chlamydiae. La méthode diagnostique traditionnelle consiste en l'inoculation d'une culture cellulaire

monocouche avec des échantillons cliniques, suivi d'une coloration et d'un examen visuel après 2 à 3 jours. La méthodologie de la culture tissulaire est toutefois difficile, très longue, couteuse et pas largement disponible dans la plupart des milieux hospitaliers. Le diagnostic sérologique de routine des infections à *Chlamydia* passe par la détermination des modifications du titre d'anticorps anti-*Chlamydia* dans les sérums appariés (élévation quadruple du titre) et ne possède qu'une faible valeur prédictive en ce qui concerne l'évolution de l'infection.

Les tests directs tels l'ELISA et l'IF (immunofluorescence) sont considérés comme plus faciles à l'exécuter et nécessitent moins de temps et de travail que la culture du pathogène. L'IF nécessite toutefois un équipement spécialisé et un technicien de laboratoire compétent, ce qui peut limiter le nombre d'échantillons analysables en routine en une journée [79] [80].

Cypress diagnostics met à la disposition des laboratoires un dosage simple et facile d'emploi, basé sur un essai immunologique renfermant des particules d'or pour la détection de l'antigène de *C. trachomatis*. Ce test ne nécessite aucun autre équipement, ce qui le rend idéalement approprié au test point of care.

L'infection uro-génital à *Chlamydia*

L'infection uro-génitale à *Chlamydia trachomatis* est pauci ou asymptomatique et peut affecter un sujet masculin ou féminin qui transmet cette bactérie à son partenaire sexuel sans le savoir. L'infection persiste à bas bruit pendant plusieurs mois et peut être à l'origine chez l'homme de complications telles que la prostatite et l'épididymite. Au cours d'une infection persistante, la charge bactérienne est faible ce qui complique le diagnostic biologique. La culture cellulaire et les techniques classiques de détection des antigènes peuvent être négatives, ce qui implique l'utilisation des techniques de détection des acides nucléiques avec amplification génique associée éventuellement à un diagnostic sérologique. Une activation du système immunitaire local et systémique aboutit à la synthèse des anticorps anti-*C. trachomatis* qui sont détectés dans les sécrétions locales et dans le sérum. [82]

La technique amplification génique ont amélioré le diagnostic des infections à *C. trachomatis* en permettant sa détection d'une part dans des circonstances cliniques peu

explorées telles que l'infection asymptomatique et l'hypofertilité et d'autre part dans des prélèvements jusqu'alors inadaptés aux méthodes classiques.

Le principal avantage de ces techniques est sans doute qu'elles s'adaptent à tous les prélèvements (urines, spermes et tous les liquides biologiques). Ce sont également des méthodes très spécifiques et très sensibles puis qu'elles amplifient un petit nombre d'acides nucléiques présents dans le prélèvement.

Les techniques d'amplification génique se sont suffisamment affinées ces dernières années, pour qu'elles soient aujourd'hui considérées comme des outils de diagnostic de routine. [82]

2.2. Mycoplasma

Mycoplasma genitalium est une bactérie, agent infectieux pathogène pour l'homme, responsable d'urétrites et d'autres maladies sexuellement transmissibles, éventuellement en association avec un autre mycoplasme. [59]

Description

Mycoplasma genitalium est un petit parasite, une bactérie de très petite taille, à très petit génome et dépourvue de paroi cellulaire dure, mais dotée d'une extrémité spécialisée dans l'adhérence aux cellules hôtes (cette extrémité est appelée « *tip* »). Elle vit dans l'épithélium cilié de certaines cellules, uniquement dans le tractus urogénital des primates (homme compris) et dans les voies respiratoires.

M. genitalium est la plus petite bactérie vivante connue et la seconde plus petite bactérie depuis la découverte de *Candidatus Carsonella ruddii*. Jusqu'à la découverte de *Nanoarchaeum* en 2002, *M. genitalium* était également considérée comme étant l'organisme avec le plus petit génome (à part les virus).

Des co-infections sont possibles avec d'autres mycoplasmes et/ou avec d'autres pathogènes. Le nombre de bactéries par ml d'échantillon est très variable : Dans une étude tunisienne ayant porté sur 20 malades pour 186 ayant consulté pour urétrites, les quantités de bactéries trouvées variaient de 4×10^4 à 2×10^8 bactéries/ml dans les échantillons analysés.

Diagnostic

La bactérie peut être recherchée dans différents types de prélèvements (endocol, prél. per-coelio, urètre, urines, sperme, anus¹).

Il n'y a pas de test de sérodiagnostic commercialisé et la sérologie (dans ses formes les plus sophistiquées) ne joue un rôle que dans les études épidémiologiques, mais n'a pas de valeur dans le diagnostic.

Un test par amplification d'acides nucléiques (TAAN) est le seuls outils diagnostiques disponibles,

M. genitalium présente une réaction croisée avec *M.pneumoniae* ¹.

La confirmation se fait par la PCR classique, avec différentes cibles possibles (ARNr 16S, gène de l'adhésine MgPa...). [83]

Traitement médical

L'UNG est traitée¹ par antibiothérapie

- doxycycline (7 jours)
- azithromycine (1 g DU)
- moxifloxacin (400 mg/j durant 10 jours, sont recommandés en raison de risque d'apparition d'antibiorésistance)

Des échecs documentés existent¹ pour les antibiotiques suivants :

- des tétracyclines (7♂/7, 8/13, 10/16, 2/35)
- l'AZM : 3/35, 9/32 échecs avec 1 g DU mais 0/6 avec AZM /5j
- la lévofloxacin (FQ) / 14j, 6 échecs sur 12
- avec moxifloxacin(FQ) / 10j, 0 échec sur 9 M. [83]

3. Causes génétiques

Des scientifiques de l'Institut Pasteur viennent d'identifier des mutations affectant un même gène et responsables de troubles sévères de la fertilité chez l'homme. Une telle découverte ouvre d'ores et déjà la voie à un diagnostic précoce des formes d'infertilité masculine liées à ces mutations, et pourrait permettre au corps médical d'apporter conseil aux couples concernés, quant à la procréation ou à la congélation de cellules

sexuelles. L'infertilité constituant dans certains cas un facteur de risque d'apparition de cancers, ces travaux pourraient également inciter à renforcer le suivi médical des personnes porteuses de ces mutations. [84]

Dans le monde, un couple sur sept est touché par la stérilité, et dans 30 à 50% des cas, c'est l'infertilité masculine qui est en cause. Dans la plupart des cas, la cause en reste inconnue. Des chercheurs de l'unité de Génétique du développement humain de l'Institut Pasteur, dirigée par Ken McElreavey, viennent d'identifier un gène dont les mutations expliquent à elles seules, individuellement, certains cas d'infertilité sévères chez l'homme. En 2009, les chercheurs avaient déjà prouvé que des mutations sur ce gène, appelé NR5A1, pouvaient être à l'origine, chez la femme, de cas d'insuffisance ovarienne sévère (1). Leur démarche les a conduits à rechercher les conséquences d'éventuelles mutations sur ce même gène chez l'homme. L'étude, dirigée par le Dr Bashamboo a été conduite sur 315 hommes touchés par une infertilité demeurée inexplicée. Le séquençage du gène NR5A1 pour l'ensemble des échantillons a permis de révéler sept mutations, responsables de 4% des infertilités sévères. Elles constituent ainsi la plus fréquente cause « monogénique » d'infertilité connue à ce jour. Les études fonctionnelles in vitro menées pour chacune des mutations ont montré qu'elles réduisent l'expression de gènes clés nécessaires lors du développement des testicules, et notamment de gènes impliqués dans la biosynthèse de certaines hormones. De telles recherches permettent ainsi d'envisager des applications pour le diagnostic précoce de l'infertilité, pour venir en appui d'un conseil médical : chez certains hommes porteurs d'une de ces mutations, la qualité du sperme se détériore avec le temps. Il pourrait donc leur être conseillé de procréer assez jeunes ou de procéder à une congélation de leur sperme. Par ailleurs, certaines études montrent que l'infertilité masculine peut constituer un facteur de risque pour le développement de cancers testiculaires ou prostatiques. De plus, chez l'animal, ces mutations entraînent également d'autres types de pathologies, comme l'hypertension artérielle ou l'obésité. Il pourrait donc être nécessaire d'instaurer un suivi médical renforcé pour les hommes porteurs de mutations sur NR5A1. Ces travaux ont été réalisés en collaboration avec l'hôpital Tenon (Paris) et la biobanque Germetheque pour la Recherche sur la reproduction humaine, qui ont fourni les échantillons nécessaires à l'étude, ainsi qu'avec une équipe du University College London. [84]

1. L'infertilité

On parle de stérilité lorsqu'un couple reste sans enfant après deux ans de rapports complets, de fréquence suffisamment rapprochée et sans contraception d'aucune sorte [34] [32] [35]. Une stérilité est dite «primaire» lorsqu'il n'y a jamais eu de grossesse [36] [32].

Dans un couple stérile, la femme est responsable de l'infécondité dans un tiers des cas et l'homme également dans un tiers des cas [34] [37]. L'homme et la femme sont l'un et l'autre responsables de l'infécondité dans le dernier tiers. Dans l'ensemble, la responsabilité masculine, appréciée par une étude de l'OMS portant sur plus de 6000 couples, est d'environ 50% [13] [36].

1.1. Bilan d'une exploration de l'infertilité.

Chez l'homme, la fertilité suppose un parfait fonctionnement de la fabrication des spermatozoïdes (spermatogenèse) et des voies génitales (épididyme, canaux déférents, vésicules séminales, prostate, urètre) [38]. L'évaluation de la fertilité masculine débute par une analyse des constituants du sperme (spermogramme). Une anomalie est considérée comme effective lorsqu'elle est retrouvée à deux reprises sur des spermogrammes faits à distance l'un de l'autre. L'absence totale de spermatozoïdes sur deux spermogrammes successifs définit l'azoospermie [33] [39].

Dans bon nombre de cas, le mécanisme de l'infertilité reste en core incompris, ce qui n'empêche pas que de nombreux moyens thérapeutiques (assistance à la procréation) ont été développés et sont disponibles pour les couples inféconds, sans oublier les problèmes socio- médicaux voire éthiques qui sont associés à la banalisation de ces progrès techniques [35].

1.1.1. Examens biologique de première intention systématique

A. Le spermogramme : la réalisation d'un spermogramme, est un des premiers examens de l'exploration de la fertilité du couple [40]. Le spermogramme est informatif lorsqu'il est interprété dans le plus large contexte de l'histoire du patient et de son dossier clinique. Une analyse du sperme Ne peut pas être définie simplement comme normale ou anormale [33] [40] [41]. Il est important pour le clinicien, s'il est bien fait, de connaître les signes cytologiques révélateurs d'une dysfonction testiculaire pour tenter une évaluation approximative de la fertilité masculine [40] [17]

[18].

Normospermie: Immédiatement après éjaculation, le sperme est déposé dans une étuve à 37°C pour assurer saliquéfaction (environ 30 min). A terme de celle-ci, l'examen est réalisé. Un aspect anormal, tel que hémospemie, viscosité forte doit être noté [41].

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

➤L'aspect: Le sperme est opaque, blanchâtre ou jaune-paille, lactescent. Un sperme brunâtre doit faire rechercher une hémospemie.

➤Le volume: le volume normal de l'éjaculât pour 3 jours d'abstinence sexuelle se situe entre (1,5 ou 2 et 6 ml)

➤La viscosité du sperme: le liquide séminal coagule rapidement après l'éjaculation puis il se liquéfie secondairement grâce aux enzymes prostatiques.

➤Le pH: normal entre 7,2 et 8 (pour certains auteurs: entre 7,5 et 8,5); Il est le témoin indirect des sécrétions des glandes annexes (sécrétions prostatiques acides et sécrétions des vésicules séminales basiques) [12].

➤La numération des spermatozoïdes: selon les normes de l'OMS (1999), la numération normale est égale ou supérieure 20 millions spermatozoïdes/ml et 40 millions spermatozoïdes par éjaculât. Selon les nouvelles normes de l'OMS-Mai 2010, la numération normale de spermatozoïdes dans l'éjaculât est supérieure à 15 millions/ml et supérieure à 39 millions par la totalité de l'éjaculât.

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 azospermie [12].

➤La mobilité des spermatozoïdes: selon les normes de l'OMS-1999, dans l'éjaculât, au moins

50 % des spermatozoïdes doivent avoir une mobilité normale (catégories a+b), et aussi, dans l'éjaculât, au moins 25% des spermatozoïdes doivent avoir une mobilité de catégorie "a"[13] [12].

➤Selon les nouvelles normes de l'OMS -Mai 2010, dans l'éjaculât, au moins 30% des spermatozoïdes doivent avoir une mobilité normale (catégories a+b), et aussi, dans l'éjaculât, au moins 40% des spermatozoïdes doivent avoir une mobilité de

catégorie "a+b+c".

➤ La vitalité ou le pourcentage des spermatozoïdes vivants à l'éjaculation doit être égale ou supérieur à 75%.

➤ Le pourcentage de formes anormales des spermatozoïdes doit être inférieur à 50 %. Selon les normes de l'OMS-1999, et en se basant sur la classification de "David" (des anomalies morphologiques des spermatozoïdes), dans l'éjaculat, au moins 30% des spermatozoïdes doivent avoir une morphologie normale [11] [12].

➤ Présence ou non d'agglutinats de spermatozoïdes: les agglutinats s'expliquent par la présence de spermatozoïdes vivants et porteurs des anticorps anti-spermatozoïdes. Les agglutinats de spermatozoïdes doivent être différenciés des agrégats de spermatozoïdes, qui sont la réunion et l'accolement de plusieurs spermatozoïdes morts ensemble, qui est un indice de processus immunologique [41] [11]. Si le microscope montre des spermatozoïdes mobiles, mais attachés entre eux par la tête, par la pièce intermédiaire, par le flagelle ou de manière «mixte» (tête-flagelle par exemple), un problème immunologique d'infertilité est soupçonné (à confirmer par d'autres observations) [38] [12].

➤ La numération de globules blancs contenus dans le sperme; normalement la numération des leucocytes est inférieure à (1 million/ml) [40].

La qualité du sperme varie souvent pour un même individu au cours du temps [33]. Un seul spermogramme anormal n'est pas suffisant pour affirmer une pathologie masculine; un spermogramme doit donc démontrer 2 ou 3 fois, à un mois d'intervalle, des valeurs semblables pour être considéré comme pathologique. Il sera donc nécessaire d'effectuer d'autres spermogrammes au cours des mois suivants [41] [12].

B. Spermocytogramme

➤ Examen médical correspondant à l'analyse cytologique et morphologique des spermatozoïdes se pratique sur des cellules fixées sur lame de microscope, après coloration [11] [18].

➤ La classification française de David subdivise les anomalies morphologiques des spermatozoïdes en 7 anomalies de la tête, 2 anomalies de la pièce intermédiaire et en 4 anomalies du flagelle [1] [12].

➤ L'identification, le dénombrement des différentes anomalies et le nombre de spermatozoïdes (SPZ) anormaux permettent de calculer l'index d'anomalies multiples (IAM), la fertilité commence à baisser significativement quand l'IAM > 1,6 [12].

Tableau 1. Données actuellement admises pour juger de la qualité du sperme selon OMS [42]

Paramètres	Valeurs normales (OMS 2002)	Valeurs anormales	pathologie
Volumedel'éjaculat	≥ 2 ml	0ml<2ml<6ml	Aspermie Hyposepermie Hyperspermie
PH	7,2 à 8	-	-
Numération des spermatozoïdes	≥ 20 millions /ml	0 / ml<1million/ml <5 millions /ml <20 millions /ml >250 million /ml	Azoospermie Oligozoospermie extrême(ou Cryptozoospermie) Oligozoospermie sévère Oligozoospermie Polyzoospermie
Mobilitéà 1 heure	≥ 50 % de mobilité progressive	<50 %	Asthénozoospermie
Vitalitéà 1 heure	≥ 75 %	<30 %	Nécrozoospermie
Formes typiques	≥ 30 %	<30 %	Tératozoospermie
Leucocytes	<1 million /ml	≥ 1 million /ml	Leucospermie
Cellules rondes	<500 millions /ml	-	-
Agglutinats	Absence	-	-
Autres		Présencedesang Présencedepus AssociationOligo-Asthéno-Tératozoospermie	Hémospemie Pyospermie OATS

1.1.2. Examens complémentaires de première intention

A. Biochimie du liquide séminal : consiste à doser dans le sperme, les substances suivantes :

Phosphatase sacides, citrate, fructose, zinc, L-carnitine libre, alpha-glucosidase [42] [43].

Ces dosages font partie du bilan, de deuxième intention, d'une infertilité masculine, lorsqu'une anomalie a été détectée au spermogramme, elle a surtout un intérêt pour comprendre l'origine des oligospermies (nombre trop faible de spermatozoïdes dans le sperme) et les azoospermies (absence de spermatozoïdes dans le sperme): anomalie

hormonale ou métabolique, obstacle sur les voies génitales masculines, inflammation des glandes,... [44][30][43].

Les résultats des dosages précisent l'anomalie détectée au spermogramme; lorsqu'une obstruction, empêchant la production des spermatozoïdes est suspectée, la chute de certains de ces marqueurs aide à localiser l'obstacle [42] [16].

-Les phosphatases acides, le citrate ou le zinc marquent le fonctionnement prostatique. S'ils sont augmentés, ils signent une infection, le pH du sperme est alors souvent basique et le volume élevé. En cas de diminution, on peut évoquer des séquelles infectieuses [45] [43].

Tableau 2. Marqueurs de chaque compartiment et leurs concentrations. [44]

	Marqueurs	Valeurs normales l'OMS-mai 2010
Marqueurs de l'épididyme	Carnitine	0,2 à 0,6 µmol/l.
	alpha 1-4glucosidase	20 mU
Marqueur des vésicules séminalales	Fructose	1.05 à 5 g/l Soit 67 à 33 mmol/l
Marqueurs prostatiques	Citrate	2 à 8 g/l soit 10.4 à 41.7 mmol/l
	Zinc	80 à 150 microg/ml soit 1.2 à 3.8 mmol/l
	Phosphatases acides	500 à 3500 U/ml

-Le fructose est le marqueur des vésicules séminales; il est nul en cas d'agénésie ou d'obstruction basse. Simplement diminué, il peut s'agir de séquelles infectieuses ou d'une atteinte Unilatérale [19] [39].

-La carnitine ou l'alphaglucohydrolase marquent l'épididyme. Effondrés, ils'agit d'une agénésie épидидymaire ou d'une obstruction acquise au niveau du corps ou de la queue [30]. En cas d'obstruction plus haute (tête, rete-testis), les marqueurs sont normaux, légèrement diminués; il peut s'agir de séquelles infectieuses [42] [46].

B. Dosages hormonaux : Il sera prescrit d'emblée devant la constatation d'une hypotrophie testiculaire à l'examen clinique, de signes d'hypoandrisme et en cas

d'anomalies importantes du spermogramme [12] [47].

B.1. Hormone Folliculo- Stimulante (FSH):

Adulte : de 3 à 15 UI/L

Le dosage de cette hormone est utile dans les cas d'azoospermie ou oligospermie ou oligospermie sévères, pour savoir si elles sont d'origine sécrétoire [44] [12].

Un taux inférieur peut être le signe d'un hypogonadisme via une insuffisance hypophysaire (insuffisance testiculaire secondaire: le testicule ne reçoit pas le signal lui indiquant de fabriquer les spermatozoïdes) [44] [47].

Pour distinguer un hypogonadisme primaire à une insuffisance secondaire résultant d'un déficit hypothalamo-hypophysaire, on fait un test à la LHRH (on dose la FSH après l'administration de LHRH) [5]. Si, au cours de ce test, la FSH est augmentée, on est face à une insuffisance testiculaire primitive avec trouble de la spermatogenèse [44].

B.2. Testostérone circule dans le sang liée à une protéine. Pour compléter le dosage de la testostérone, on peut doser aussi la testostérone libre (qui n'est pas fixée sur la protéine de transport ; c'est cette forme qui agit sur les tissus) [44] [48].

Les insuffisances testiculaires et hypophysaires ont pour conséquences une diminution du taux de testostérone [5] [47]. Certains traitements hormonaux (anti-androgènes, oestrogènes, androgènes de synthèse) sont aussi responsables de la diminution du taux circulant de testostérone [48]. Il vaut mieux éviter l'effort physique avant le prélèvement, car celui-ci augmente le taux de testostérone circulant ; il est conseillé de le faire le matin [11] [47].

B.3. La LH stimule la production de testostérone par les cellules de Leydig. Qui va ensuite, d'une part agir sur les cellules de Sertoli qui forment la barrière hémato-testiculaire des tubes séminifères.

[11][48]. Ces cellules de Sertoli sont des cellules somatiques qui jouent un rôle central dans la régulation de la spermatogenèse [47]. D'autre part, la testostérone va agir au niveau hypothalamique et hypophysaire pour contrôler la sécrétion hypophysaire de la LH (rétro-action ou "feed-back") [5].

C. La spermoculture: Les antécédents d'infection de l'appareil génital (épididymites, orchites, prostatites, infections urinaires, urétrites...) représentent 20 à 25% des cas d'infertilité masculine. Ce chiffre est vraisemblablement sous évalué car

la pathologie asymptomatique à *Chlamydiae trachomatis* représente 40% des urétrites et des épидидymites de l'adulte [7] [28].

Des signes indirects d'infection peuvent être détectés sur les examens classiques de spermologie : Modification du volume et du pH du sperme [28], de la mobilité et de la vitalité des spermatozoïdes, Présence d'anticorps antispermatozoïdes des urface de type IgA et IgG, présence de leucocytes objectivée par le dosage de lactase dans le sperme [7] [49].

La spermoculture est positive lorsqu'on met en évidence une bactérie pathogène avec un nombre de colonies égale ou supérieur à 10^3 [7]. Une recherche du mycoplasme et de la *chlamydia trachomatis* est effectuée systématiquement par des cultures spécifiques. Celle-ci se fera au laboratoire de bactériologie puisque le laboratoire de spermologie, habituellement ne réalise pas ces examens, La mise en culture doit être faite immédiatement après liquéfaction du sperme sur des milieux de culture pour recherche de germes aérobies et anaérobies [28] [49].

Une spermoculture négative ne garantit pas l'absence d'infection surtout en présence d'une leucocytose [49].

2. Anomalie de sperme

Normalement, un mâle en bonne santé d'adulte éjacule une demi-à une cuillerée à café de sperme pendant l'orgasme, mais la quantité change considérablement [11]. L'absence d'éjaculation est le résultat d'une perturbation du fonctionnement des hormones au sein de l'organisme. Plus rarement l'an éjaculation, c'est-à-dire l'absence de fait suite à une perturbation psycho affective telle qu'une anxiété, une nervosité excessive. Enfin certains médicaments, comme par exemple les antihypertenseurs, peuvent également engendrer une absence d'éjaculation [50]. Devant une aspermie il faut envisager de faire une recherche de sperme dans les urines pour diagnostiquer une éventuelle éjaculation rétrograde [51] [11]. Chez les hommes avec l'éjaculation rétrograde, la quantité de sperme est diminué en et tementouil y a une apogée sèche (orgasme sans sperme) [52] [53].

Dans l'éjaculation rétrograde, tous les composants duré flexe éjaculatoires ont présents, sauf que au cours de l'acte sexuel, le liquide séminal s'accumule au niveau de la portion prostatique du l'uretère. La pression exercée par l'accumulation du liquide séminal finit par provoquer l'ouverture du sphincter striée et l'éjaculation du sperme en dehors de l'ovaire [30] [22]. Une commande inversée du sphincter de la

vessie avec une ouverture du sphincter lisse avant le sphincter strié entraîne une éjaculation partielle ou totale du liquide séminale dans l'urine [52].

La présence de spermatozoïdes dans les urines émises après échec d'une tentative de recueil de sperme ou une relation sexuelle aspermique ou hypospermiques permet de faire le diagnostic. L'éjaculation rétrograde s'agit d'un trouble survenant le plus souvent à la suite d'une intervention chirurgicale, essentiellement l'ablation de la prostate. Ou au cours d'une maladie neurologique [53].

2.1. Anomalies du nombre des spermatozoïdes

A. Hypospermie: volume total de l'éjaculat inférieur à 2 ml (ou dans certaines références: volume du sperme entre 0,5 et 2 ml et pour d'autres, inférieur à 1,5 ml); elle peut être due à un déficit de sécrétion au niveau des glandes annexes (prostate, vésicules séminales).

- L'hypogonadisme caractérisé par le déficit en testostérone entraîne une azoospermie avec hypospermie ou aspermie [7] [1].

- Le volume du sperme diminue progressivement avec l'âge et sans altération des autres paramètres [31].

➤ L'absence de spermatozoïdes au spermogramme qui définit l'azoospermie peut avoir deux séries de causes [44] [22] [31].

- L'azoospermie sécrétoire [ou azoospermie non obstructive (ANO)] si l'anomalie est une absence totale de la spermatogenèse qui se déroule dans le testicule, au niveau des tubes séminifères, l'origine de l'altération de la spermatogenèse peut être soit une affection testiculaire primitive congénitale ou acquise; soit une insuffisance hypothalamo-hypophysaire acquise congénitale [1] [11].

➤ L'azoospermie est excrétoire [ou azoospermie obstructive (AO)] si la spermatogenèse est conservée mais les spermatozoïdes ne sont pas excrétés dans le sperme en raison de la présence d'un obstacle au niveau des voies excrétoires (épididymes, canaux déférents, canaux éjaculateurs), les lésions peuvent être acquises ou congénitales [comme l'absence bilatérale des canaux déférents (ABCD)] [1] [22]. La distinction entre azoospermie excrétoire et sécrétoire est importante car elle peut conduire à des prises en charge thérapeutiques différentes [53] [31].

➤ La cryptozoospermie est définie par l'absence de spermatozoïdes observés à

l'examen microscopique direct d'une goutte de sperme mais à l'opposé de l'azoospermie [54], une recherche approfondie permet d'en retrouver quelquesuns (moins de 100000 spermatozoïdes dans la totalité de l'éjaculat) [1] [22].

La cryptozoospermie est sévère quand le nombre de spermatozoïdes est inférieur à 10 000 dans l'éjaculat [22]

➤ L'oligozoospermie se définit par une diminution du nombre de spermatozoïdes dans l'éjaculat ($<50 \cdot 10^6$ /éjaculat) [50]. C'est le cas le plus fréquent de l'infertilité masculine Etc' est un problème difficile à résoudre. Les oligozoospermies inférieures à 1 millions peuvent être attachées aux azoospermies et explorées de la même que celles-ci [54] [19] [22].

L'oligozoospermie est rarement isolée et souvent associée avec une asthénospermie (anomalie de la mobilité) et/ou une tératozoospermie (formes anormales) [40]. 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, [28] et-la présence d'auto-anticorps dans le plasma séminal ou sur la membrane plasmique des spermatozoïdes [45] [22] [11].

2.2. Troubles de la mobilité : asthénospermie.

- Se caractérise par une chute de la mobilité des spermatozoïdes. Une mobilité est considérée comme normale au-delà de 50% spermatozoïdes mobiles une heure après l'éjaculation et moins de 30% de spermatozoïdes mobiles 3 heures après l'éjaculation [45] [55] [56].
- Asthénospermie primaire: moins de 50% de spermatozoïdes sont mobiles (mobilité totale) à la première heure après l'éjaculation [55].
- Asthénospermie secondaire: chute de mobilité comparativement à la première heure à la quatrième heure après l'éjaculation :

Dans les cas d'asthénospermie plus ou moins importante, on peut évoquer plusieurs étiologies: un phénomène infectieux et/ou une absence de fructose [55], l'auto-immunisation par anticorps ou une dyskynésie flagellaire c'est-à-dire une anomalie des structures flagellaires de l'axonème ou des structures péri-axonémales mises en évidence par l'étude ultrastructurale du flagelle du spermatozoïde [50] [56].

2.3. Anomalies morphologiques des spermatozoïdes :

➤Tératozoospermie: (ou moins de 30 % pour certains auteurs et l'O.M.S. 1999) des spermatozoïdes sont normaux.

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 [57] [56]. Le taux de clivage en fécondation in vitro est nettement plus faible en cas de tératozoospermie sévère. La mobilité et la tératozoospermies ont des facteurs déterminants dans l'expression du pouvoir fécondant du sperme [53] [56] [58].

2.4. L'infection

Selon les auteurs, la concentration seuil peut varier de 10³ à 10⁶. Il semble toute fois qu'une valeur supérieure à 10⁵ soit considérée comme pathologique [31]. Les leucocytes ont sur toute une valeur indicative. Leur présence doit faire soupçonner une infection mais aussi un processus inflammatoire (lithiase prostatique, séquelle d'infection, abstinence trop longue) [34].

2.5. Autoimmunisation anti-spermatozoïdes

Cette auto-immunisation peut être déclenchée par des processus traumatiques ou infectieux des organes génitaux ayant entraîné une réabsorption massive de cet antigène habituellement isolé de la circulation générale. Mais souvent, dans plus de 50% des cas, il n'ya pas d'antécédent Pathologique ni d'anomalie génitale et seule l'agglutination spontanée des spermatozoïdes dans l'éjaculat évoque cette auto-immunisation [10] [58].

Les signes biologiques d'appel au niveau du spermogramme seront l'auto-agglutination quelque fois associée à des altérations de la mobilité et de la vitalité [58].

2.6. Autres anomalies

Hyperspermie: volume total de l'éjaculat 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 [45] [56].

■ Polyspermie ou polyzoospermie: numération de spermatozoïdes supérieure à 250 millions par ml (ou 200 millions par ml pour certains auteurs) [22].

■ L'hémospermie et la pyospermie: traduisent respectivement la détection de sang et de pus dans l'éjaculat; 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 [45]. Nécrozoospermie: pas de spermatozoïdes vivants à l'éjaculation; il faut rechercher un problème infectieux ou oxydatif [45] [22].

- La nécrozoospermie partielle: dans l'éjaculat, plus de 40% des spermatozoïdes sont morts (OMS-1999) ou plus de 42% des spermatozoïdes sont morts (OMS2010).
- La nécrozoospermie totale : pas se spermatozoides vivants dans l'ensemble de l'éjaculat.

1. Cadre d'étude

Sur une période de 03 mois (de février à avril 2014), nous avons effectué dans le laboratoire d'exploration biologique de la Grande Clinique Mezdaouet Khenchela, Une étude prospective sur les anomalies de la qualité du sperme (spermogramme) qui affectent la fertilité masculine dans la région de Khenchela, les tests sont effectués sur 56 patients dont l'âge varie de 23 à 63 ans sous la demande d'un médecin.

Le spermocytogramme avec une spermoculture (recherche de germes banaux) et la recherche de germes intracellulaires (Chlamydia et Mycoplasme).

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

- Pot stérile (pour la récolte de sperme)
- lames et lamelles
- Tube à hémolyse (tube sec)
- Micropipettes + lambeaux
- Les cellules de mallasiez
- Microscope optique
- Portoir
- Etuve réglée à 37
- Eprouvette graduée
- Bandelette multi paramètre (PH, protéine...)
- Boîtes de pétriés
- Tube à visse
- Bec benzène
- Pipette pasteur
- Ance de platine

- Formole pour tué les spermatozoïdes
- Bleu de méthylène
- Coloration de Gram (violet de Jensen, lugol, éthanol, fischine)
- Gélose nutritive
- Gélose Chapman
- Gélose Chocolat
- Gélose Mc conckey
- Muller Hinton

2.2. Méthodes

2.2.1. Techenique d'analyse de sperme

1. Spermogramme

1.1. Conditions de recueil de sperme

Le sperme est recueilli au niveau de laboratoire, par masturbation, dans un réceptacle stérile. Il est indispensable d'examiner une éjaculation recueillie en totalité, Une abstinence sexuelle de 3 à 5 jours est conseillée avant le recueil, ce délai influence le volume et la numération.

Lors de l'éjaculation, le sperme coagule pour se liquéfier progressivement à température de 37°C, généralement en une vingtaine de minutes et l'examen est débuté à partir de ce moment et avant la première heure. [53]

1.2. Paramètres mesuré dans le spermogramme

A.Examen macroscopique: l'examen macroscopique permet d'évaluer un certain nombre de paramètres selon le protocole suivant :

➤ **Liquéfaction:** on met le sperme recueilli dans l'étuve pendant une période de 15 à 30 min. Il prend normalement moins de 20 minutes pour l'échantillon dépasser d'une épaisseur de gel en un liquide. [54]

➤ **Le volume:** il est mesuré de façon précise a l'aide d'une pipette calibrée; il est normalement compris entre 2 à 6 ml. Un volume trop faible peut évoquer une éjaculation incomplète, et en cas d'absence totale d'éjaculat on note une aspermie.

➤ **Le pH:** il est mesuré à l'aide d'un papier indicateur de pH sur lequel on dépose une goutte de sperme; attendre 20-30 secondes (la couleur doit être uniforme) la couleur de la zone imprégnée est comparée à une échelle de lecture. [54]

➤ **La viscosité:** est évaluée semi quantitativement en observant la manière dont le sperme s'écoule à l'extrémité de la pipette.

A.Analyse microscopique : L'analyse microscopique est réalisée, après préparation des échantillons et grâce à une observation sous un microscope photonique, aux grossissements 40x.

B.Mobilité des spermatozoïdes :

La méthode d'évaluation de la mobilité des spermatozoïdes est basée sur un examen directe entre lame et lamelle, et le résultat est exprimé en % après la lecture de plusieurs champs microscopiques (afin de vérifier l'homogénéité de la lame). Cette mobilité est estimée selon l'OMS (1999), en 4 indices d'intensité:

Grade A (rapide progressive), spermatozoïdes nagent et avancent rapide en ligne droite mouvement fléchant. [55]

GradeB (lente et progressive), des spermatozoïdes nagentent avant, mais soit en une ligne courbe ou tordu, ou lentement (motilité linéaire ou non linéaire). [55]

GradeC (non progressive), spermatozoïdes déplacent leurs queues, mais ne pas aller de l'avant (motilité local uniquement). [55]

GradeD (immobiles), spermatozoïdes ne se déplacent pas du tout. [55]

➤ **La vitalité (pourcentage de spermatozoïdes vivants):** les spermatozoïdes considérer comme vivant sont ceux qui sont en mouvement et le % de la mobilité égale le % de la vitalité. [56]

La numération: Elle est appréciée par comptage des spermatozoïdes dans une cellule de Mallassiez, après immobilisation des spermatozoïdes et une dilution 1/20 de sperme dans une solution de formole (50 µl de sperme pour 950 µl de formol). [56]

Bien homogénéiser le mélange (sperme+diluant) et l'introduire 10µl par capillarite dans

Chacune des chambres de la cellule. Seul les spermatozoïdes entiers sont comptés (tête + flagelle).

D. Calcule de la concentration: on effectue le calcule de la concentration des spermatozoïdes, on utilise l'équation suivante. [57]

$$\text{Concentration} = X \times 20 \text{ (dilution)} \times 1000 \text{ (v en cm}^3\text{ml)} = X \times 20000/\text{ml.}$$

➤ Cas de forte concentration prévisible, on fait le comptage de 2 carreaux non consécutifs ; Si z le nombre de spermatozoïdes comptes;

$$\text{Concentration} = Z \times 20 \text{ (dilution)} \times 50000 \text{ (v en cm}^3\text{ml)} = Z \times 10^6/\text{ml}$$

Toutes les concentrations sont exprimées en millions $\times 10^6/\text{ml}$. [57]

➤ **Les Leucocytes:** le principe de la détermination de la concentration de leucocytes est le même que celui de la concentration des spermatozoïdes. [58]

Le même principe de comptage et de calcul pour déterminer la concentration en million/ml. Ce compte est fait dans le même temps que celui des spermatozoïdes.

➤ **Agglutination:** est définie par l'attachement de spermatozoïdes mobiles entre eux, l'agglutination est évaluée sur au moins 10 champs pris au hasard et le degré d'agglutination est notée en %. [58]

1.3. L'analyse morphologique des spermatozoides « Spermocytogramme »

L'analyse de la morphologie des spermatozoïdes et effectue sous microscope soit après coloration a l'éosine soit à état frais est le résultat et exprimé en % des formes normales et anormales (anomalies de la tête, Les anomalies de la pièce intermédiaire, Anomalies du flagelle). [58]

1.4. Spermoculture

Examen direct: L'examen directe est fait à l'état frais du sperme entre lame et lamelle pour viser la présence de levure soude parasites notamment le *Trichomonas Vaginalis*, la coloration de bleu de méthylène pour observer les leucocytes et leur types afin d'orienté de diagnostic, la coloration de Gram permet la recherche de l'existence ou non de diplocoques a gram négatif *NeisseriaGonorrhoeae*, de levure de cocci a Gram positif de bacilles à gram négatif. [59]

Culture: le prélèvement et ensemencé sur une gélose chocolat, chapman et un milieu sélectif pour les bacilles a Gram (-)

1.4.2. Chlamydia Ag

Dosage immunochromatographique basé sur la fixation direct d'anticorps monoclonaux pour la détection visuelle de l'antigène de Chlamydiae dans des échantillons endocervicaux et urétraux, en vue de contribuer au diagnostic des infections à Chlamydia [74]

Ce test de chlamydia de cypress diagnostics est un essai qualitatif rapide à usage diagnostique in vitro pour la détection de Chlamydia trachomatis, directement d'un écouvillon endocervical féminin et d'un écouvillon urétral masculin/féminin. Ce test est conçu pour faciliter le diagnostic des infections à Chlamydia. [74]

A. Principe

Le test chlamydia de cypress diagnostics est un essai immunologique qualitatif rapide basé sur le principe immunochromatographique. (Dans la procédure d'essai, un échantillon clinique est obtenu et placé dans un tube d'extraction A. Après deux minutes une solution d'extraction B est ajoutée au tube. 3 gouttes (environ 150 µl) d'échantillons. La membrane est pré-enrobée d'un anticorps monoclonique lipopolysaccharide (LPS) spécifique au genre sur la région de bande de test (T) et d'un anticorps anti-souris caprin sur la région de la bande de contrôle (C). [74]

Pendant les tests, l'échantillon est amené à réagir avec les particules colloïdales d'or qui ont été enrobées d'un anticorps anti-chlamydia monoclonal, après quoi il migre latéralement à travers la membrane par action capillaire. Si l'échantillon contient l'antigène de Chlamydia, une bande colorée avec un complexe anticorps spécifique-Chlamydia anticorps spécifique de particules de conjugué colloïdal va se former sur la membrane dans la région de la bande de test (T). Si l'antigène de Chlamydia n'est pas présent, une ligne rose va uniquement se former sur la région de la n*bande de contrôle (c). Pour servir de contrôle procédural, une bande colorée au niveau de la région de la bande de contrôle (C) va toujours apparaître sans tenir compte de la présence de l'antigène de Chlamydia. [74]

Contenu du kit

- 20 dispositifs de test.
- Solution d'extraction A – contenant 0,2 M hydroxyde de sodium (7,5 ml)
- Solution d'extraction B : contenant 0,2 M acide hydrochlorique.
- Ecouvillons endocervicaux stériles à bout Coton : 10.
- Ecouvillons urétraux stériles : 10.
- Tubes d'extraction – 20.
- 1 notice d'instructions.

B. Matériels supplémentaires nécessaires :

- Un récipient pour la collecte de l'échantillon.
- Minuterie.

C. Conservation et stabilité

Les réactifs d'extraction et les dispositifs de test de Chlamydia peuvent être conservés à n'importe quelle température entre 4 et 30 ° C dans leur pochette d'origine scellée.

La trousse reste stable jusqu'à la date imprimée sur l'étiquette de la boîte et/ou sur la pochette. N'utilisez pas des trousses de dosage dont la date de validité est dépassée et ne les congelez pas. [75]

D. Précautions

- Le test est uniquement destiné à usage diagnostique in vitro et réservé à l'usage professionnel. Utilisez le test uniquement selon les instructions accompagnant le trousse.
- Ne mélangez pas de réactifs provenant de différents lots de trousse de test.
- Faire preuve des précautions qui s'imposent pour la collecte, la manipulation, le stockage et l'élimination des échantillons et de contenu du kit utilisé. Utilisez des vêtements de protection adéquats (gants, blouse de laboratoire, lunette de sécurité)

lorsque vous manipulez les échantillons. Evitez tout contact entre les mains, les yeux ou la bouche lors du prélèvement et du test des échantillons, réactifs et contrôle seront manipulés comme s'ils contenaient des agents infectieux.

- Ne pipetez aucun matériel à la bouche. Ne fumez pas, ne mange pas et ne buvez pas dans les endroits où les échantillons ou le matériel de la trousse sont conservés.

- La solution d'extraction A contient de hydroxyde de sodium (solution basique) tandis que la solution d'extraction B contient l'acide hydrochlorique (solution acide). Si l'une des solutions entre en contact avec la peau ou les yeux, rince abondamment à l'eau.

- Utiliser uniquement des écouvillons fournis avec le kit ou des écouvillons avec tige à bout Rayonne ou Dacron de manière à obtenir des échantillons endocervicaux.

- Après l'exécution du dosage, stérilisez les écouvillons et les dispositifs utilisés à l'autoclave pendant 20 minutes à 121 ° C. A la place, vous pouvez également les traiter par une solution d'eau de Javel à 0,5- 1 % .éliminez les matériels dans des sacs destinés aux déchets biologiques dangereux.

- Tout comme avec toutes les trousse diagnostiques, un diagnostic clinique définitif ne doit pas être basé sur les résultats d'un dosage unique, mais il uniquement être posé par le médecin après examen de l'observation clinique et des données de laboratoire.

[75]

E. Collecte et stockage des échantillons

La qualité des échantillons obtenue est d'une importance extrême. La détection de Chlamydia exige une technique de collecte vigoureuse et totale qui fournit un matériau cellulaire de préférence à simple fluides corporels.

F. Pour des échantillons urétraux :

- Utiliser l'écouvillon urétral ou des écouvillons à tige en fil à bout en fibre standard pour le recueil de l'échantillon urétral. Indiquer aux patients de ne pas uriner une heure au moins avant la collecte de l'échantillon.

- Insérer l'écouvillon dans l'urètre sur 2 à 4 cm, tourner pendant 3 à 5 secondes, puis retirer.

- Placer l'écouvillon sur le tube d'extraction si le test doit être exécuté immédiatement. [76]

Ne pas placer l'écouvillon dans un dispositif de transport contenant un agent étant donné que l'agent de transport interfère avec l'essai.

Si un test immédiat n'est pas possible, l'échantillon du patient sera placé dans tube de transport sec en vue du stockage ou du transport. Les écouvillons peuvent être stockés pendant 4 heures à la température de réfrigération (4 à 8 ° C). Ne pas congeler. Tous les échantillons devraient être portés à une température ambiante de 10 à 30° C avant le test. [76]

G. Procédure

- Revoir les instructions pour la « collecte de l'échantillon ». ne pas ouvrir les pochettes tant que l'on n'est pas prêt à exécuter l'essai. Les réactifs et les échantillons d'essai doivent être portés à la température ambiante avant l'essai.

- Pour éviter la contamination croisée, ne pas laisser la pointe du flacon de réactif entrer en contact avec les écouvillons échantillons ou les tubes d'extraction. [77]

H. Extraction de l'échantillon

Pour les échantillons d'écouvillons endocervicaux ou urétraux :

- Placer un nouveau tube d'extraction dans la zone désignée du poste de travail. Ajouter 6 gouttes de solution d'extraction A dans le tube d'extraction. [78]

- Immerger l'écouvillon du patient dans le tube d'extraction et extraire pendant 2 minutes à la température ambiante. [78]

- Pendant l'extraction, imprimer un mouvement circulaire de manière à faire rouler l'écouvillon contre le côté du tube d'extraction afin d'exprimer le liquide de l'écouvillon et de la réabsorber. [78]

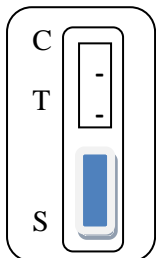
- A la fin de la période d'extraction, ajouter 6 gouttes de solution B. Comprimer fermement l'écouvillon contre le tube de manière à exprimer le plus de liquide possible de l'écouvillon. Eliminer l'écouvillon en suivant les directives relatives à la manipulation d'agent infectieux. [78]

- L'échantillon extrait peut rester à la température ambiante pendant 60 minutes sans influencer le résultat de test de Chlamydia. [78]

I. Procédure d'essai

- Suivre les instructions relatives à la collecte et l'extraction de l'échantillon. [78]
- Enlever le dispositif de test de l'antigène de Chlamydia de sa pochette de protection et le placer sur une surface propre, sèche et plane. Etiqueter le dispositif avec l'identification du patient ou du contrôle. [78]
- Placer le capuchon sur le tube d'extraction. Ajouter 3 gouttes (environ 150µl) de l'échantillon extrait du tube d'extraction dans le réservoir à l'échantillon. [78]
- Attendre l'apparition de bande(s) coloré(s). Les résultats du test seront lus dans les 10 minutes qui suivent l'addition de l'échantillon extrait au réservoir à échantillon (s). En fonction de la quantité d'organisme antigène de Chlamydia sur l'écouvillon, un résultat positif peut être visible après 1 minute déjà. Toutefois, pour confirmer un résultat négatif, la période de réaction complète de 15 minutes est nécessaire. Ne pas interpréter le résultat après 20 minutes. [78]

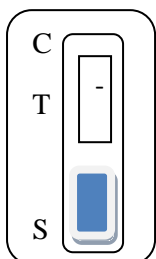
G. Interprétation des résultats



Positif

Deux lignes colorées doivent être observées dans la fenêtre de visualisation. La ligne dans la région de test (T) est la ligne de sondage ; la ligne dans la région de contrôle (C) est utilisée pour indiquer le fonctionnement correct du dispositif.

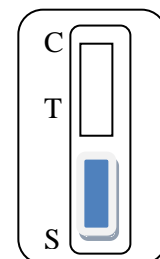
L'intensité de la couleur de la ligne de test peut être plus faible ou plus forte que celle de la ligne de contrôle. [79]



Négatif

La ligne de contrôle apparaît dans la fenêtre du test, mais la ligne n'est pas visible. [79]

Non valable



Aucune ligne n'apparaît dans la région du contrôle. En aucun cas, on n'identifiera pas un échantillon positif avant la formation de la ligne de contrôle dans la zone de

visualisation. Si la ligne de contrôle ne se forme pas, le résultat du test n'est pas concluant et l'essai doit être répété. [79]

K. Limites de la procédure

Le test Chlamydia de cypress Diagnostics ne différencie pas spécifiquement *C. trachomatis*, *C. pneumonia* ou *C. psittaci*. La détection de Chlamydia dépend du nombre d'organisme présents dans la solution. Ceci peut être influencé par les méthodes de collecte de l'échantillon et les facteurs du patient comme l'âge, les antécédents de maladies sexuellement transmissibles, la présence de symptômes, etc. [80]

L. Contrôle de qualité

Un contrôle de procédure est compris dans le test de Chlamydia de cypress Diagnostics. Une ligne rose qui apparaît dans la région de contrôle (C) indique une exécution appropriée et des réactifs fonctionnels.

Les bonnes pratiques de laboratoire recommandent l'utilisation de contrôle externe afin de garantir le bon fonctionnement de la méthode de test. [80]

-Caractéristiques de performances

Spécificité

L'anticorps utilisé dans le test de Chlamydia de Cypress Diagnostics a, comme on a pu le démontrer, détecté les 15 serovars de *Chlamydia psittaci* et de *Chlamydia*. En outre, des souches de *Chlamydia psittaci* et de *Chlamydia pneumonia* ont été testées avec le test d'antigène de Chlamydia et ont fourni un résultat positif. [81]

La réactivité croisée avec d'autres organismes a été étudiée en recourant à des suspensions de 10^6 CFU/ml. Les organismes suivants n'ont pas été détectés avec ce test de Chlamydia :

Acinetobacter spp, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Nisseria catarrhalis*, *Gardnerella vaginalis*, *Neisseria meningitides*, *streptococcus faecalis*, *Nisseria lactamica*, *streptococcus faectium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Trichomonas vaginalis*.

[81]

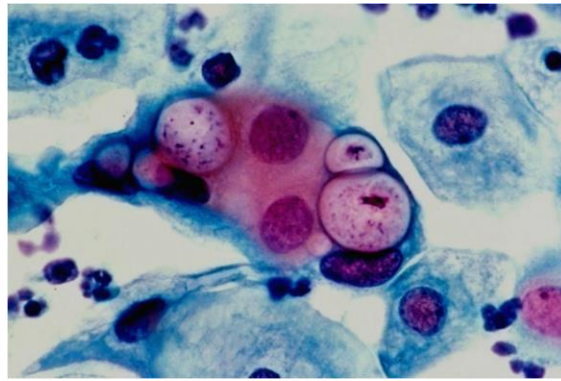


Figure 11 : Chlamydiae dans des Vacuoles. [81]

1.4.3. Mycoplasma IST 2

Diagnostic des mycoplasmes urogénitaux (culture, identification, numération indicative, test de sensibilité)

A. Introduction et objet du test

Mycoplasma IST 2 est un kit complet destiné au diagnostic des mycoplasmes urogénitaux. Il permet la culture, identification, la numération indicative et la détermination de sensibilité aux antibiotiques d'*Ureaplasma spp.* et de *Mycoplasma hominis*. [58]

Note : L'espèce *Ureaplasma urealyticum* a été divisée en 2 nouvelles espèces nommées *ureaplasma parvum* et *Ureaplasma urealyticum*. Dans l'utilisation de la galerie, elles sont considérées toutes les deux comme *Ureaplasma spp.* le symbole *Uu* présent dans les différents tableaux, ainsi que sur la galerie et la fiche de résultat représente *Ureaplasma spp.* [58]

B. Principe

Mycoplasma IST 2 associe un bouillon de culture sélectif à une galerie comprenant 22 tests. [59]

Le bouillon est adapté à la croissance optimale des Mycoplasmes (PH, substrat, association de plusieurs facteurs de croissance).

La présence de substrats spécifiques (urée pour *Ureaplasma spp.*, et angine pour *M. hominis*) et d'un indicateur (rouge de phénol) permet, en cas de culture positive, de visualiser un changement de couleur de bouillon lié à une augmentation du PH.

La sélectivité vis à vis de la flore de contamination éventuellement présente dans le prélèvement est apportée par l'association de 3 antibiotiques et d'un antifongique. [59]. Le bouillon est réparti, après ensemencement, dans la galerie.

Cette galerie permet d'obtenir simultanément :

- L'identification
- La numération indicative,
- La sensibilité vis-à-vis des antibiotiques [59]

Présentation

REF 42 505	Coffret de 25 tests
Mycoplasma R 1 :	Bouillon
	25 flacons de 3,1 ml
Mycoplasma R2 :	Lyophilisat
	25 galeries de 22 tests
Mycoplasma IST 2 :	25
Couvercle d'incubation :	
Notice :	1

Composition et reconstitution des réactifs du coffret

a.Flacons Mycoplasma R 1 :

Chaque flacon contient 3,1 ml d'un bouillon renfermant des éléments nutritifs sables, nécessaires pour la préparation de l'échantillon .Il assure la sélectivité vis-à-vis des principales bactéries Gram(+) et Gram(-) et permet la reprise du réactif Mycoplasma R 2. [60]

b. Flacons Mycoplasma R 2 :

Chaque flacon contient 1ml de bouillon Urée-Arginine sous forme lyophilisée. Après reprise du Mycoplasma R 2 par 3 ml de Mycoplasma R 1, la composition est conforme à la formule suivante :

Tableau 4 : Composition (Mycoplasma R 1+Mycoplasma R 2)

Formule théorique :	
Ce milieu peut être ajusté et/ou supplémenté en fonction des critères de performance imposés.	
Peptone de viande (porcin-bovin)	8g
Peptone de caséine (bovin)	8 g
Extrait de levure	4g
Chlorure de sodium	3,5g
Chlorhydrate d'arginine	5g
Chlorhydrate de cystéine	0,1g
Urée	0,05g
Rouge de phénol Mélange Poly Vitex TM	10 ml
Sérum de cheval	100 ml
Mélange d'antibiotiques	10 ml
Eau purifiée	1 l
PH 6,3	

- le PH du bouillon Urée-Arginine LYO 2 peut diminuer au cours du temps jusqu'à la valeur de 6.0. Cette diminution n'affecte pas les performances du produit [60].

c. Galerie Mycoplasma IST 2 :

La galerie comprend 22 tests et se divise en 3 parties :

1. Identification (cupules n=1 à 3) Tableau 5

Cupule n=1 (0) : témoin de croissance

Cupule n=2 (Uu) : identification Ureaplasma spp.

Cupule n=3 (Mh) : identification M. HOMINIS [60]

Cupules	Tests	Substrat principaux
N=1	0 (témoin)	Rouge de phénol (0,05 g/l)
N=2	Uu	Rouge de phénol (0,05 g/l) Lincomycine
N=3	Mh	Erythromycine

2. Numération indicative (cupule n=4 et 5) Tableau 6

Cette partie permet de déterminer si le titre en Mycoplasmes dans le prélèvement est égal ou supérieur à un seuil établi à 10^4 UFC (unité formant colonie) :

-cupule n=4 ($Uu \geq 10^4$) : titre Ureaplasma spp. $\geq 10^4$ UFC dans le prélèvement.

-cupule n = 5 ($Mh \geq 10^4$) : titre M.hominis $\geq 10^4$ UFC dans le prélèvement.

Cupules	Tests	Substrats principaux
N=4	$Uu \geq 10^4$	Rouge de phénol (0,05 g/l) Lincomycine Agent d'inhibition
N=5	$Mh \geq 10^4$	Erythromycine Agent d'inhibition

3. Tests de sensibilité (cupule n=6 à 22) **Tableau 7**

Ces cupules permettent de tester la sensibilité de la souche vis-à-vis de

9 antibiotiques :

Cupules	Antibiotique Abréviation	et	Concentration mg/l
N=6 et 7	Doxycycline	DOT	
N=8 et 9	Josamycine	JOS	
N=10 et 11	Ofloxacin	OFL	
N=12 et 13	Erythromycine	ERY	
N=14 et 15	Tétracycline	TET	
N=16 et 17	Ciprofloxacine	CIP	
N=18 et 19	Azithromycine	AZI	

N=20 et 21	Clarythromycine	CLA	
N=22		PRI	

Remarque : les cupules non identifiées ne contiennent pas de substrat. [60]

Réactif et matériel nécessaire mais non fournis

a. Réactif / instrumentation :

- Huile de paraffine (Réf. 70 100)
- Pipette Electronique ATB (ou équivalent)

(Consulter bio Mérieux) [61]

b. Matériel

- Ecouvillons de prélèvement

- Pipette et micropipette (pour ensemercer la galerie)
- Etuve bactériologique

c. Réactif complémentaire

- Gélose A7 Mycoplasma

Précaution d'utilisation

- **Pour diagnostic *in vitro* uniquement**

- **Pour usage professionnel uniquement**

-Ce coffret contient des composants d'origine animale.

La maîtrise de l'origine et/ou de l'état sanitaire des animaux ne pouvant garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible, il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (ne pas ingérer ; ne pas inhaler). [62]

- Les prélèvements, cultures bactériennes et produitsensemencés doivent être manipulés de façon appropriée. Les techniques aseptiques et les précautions usuelles de manipulation pour le groupe bactérien étudié doivent être respectées tout au long de la manipulation ; se référer à « CLSI® M29-A, *protection of laboratory workers from occupationally acquired infections* ; approved Guideline-Révision en vigueur ».

Pour information complémentaire sur les précautions de manipulation, se référer à « *Biosafety in Microbiological and biomédical laboratoires-CDC/NIH* [62]

Dernière édition », ou à la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation.

-Les milieux de culture ne doivent pas être utilisés comme matériau ou composant de fabrication. [62]

-Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption.

-Avant utilisation, laisser les réactifs revenir à température ambiante.

- Avant utilisation, s'assurer de l'intégrité du bouchon des flacons.

-Ne pas utiliser les réactifs dont l'emballage est détérioré.

-Ne pas utiliser des flacons présentant un trouble.

- Ne pas utiliser des galeries ayant subi une altération physique : cupule déformée, sachet déshydratant ouvert,...

-Les performances présentées sont obtenues avec la méthodologie indiquée dans cette notice. Toute déviation de méthodologie peut modifier les résultats.

-L'interprétation des résultats de test doit être faite en tenant compte de contexte clinique, de l'origine du prélèvement, des aspects micro et macroscopiques et éventuellement des résultats d'autres tests, en particulier des tests de sensibilité. [62]

Condition de stockage

Les galeries et flacons se conservent entre 2 C ET 8 C dans leur coffret jusqu'à la date de péremption. [63]

Echantillon (prélèvement et préparation)

- Ce kit peut être utilisé à partir de prélèvement :

-urétraux

-cervico-vaginaux

Les mycoplasmes ayant une grande affinité pour les membranes des cellules possible.

Les écouvillons en Alginate de calcium, Dacron ou polyester avec une tige aluminium ou plastique sont des matériaux recommandés. Les écouvillons coton avec tige en bois ne sont pas recommandés du fait de leur effet inhibiteur potentiel (12). [63]

-sperme

- D'autres échantillons peuvent être testés (urine,...) sous réserve de validation par l'utilisateur.

Effectuer le prélèvement avant toute antibiothérapie.

Une technique standardisée doit être mise en œuvre pour éviter les contaminations par d'autres germes.

Il convient de respecter les bonnes pratiques en termes de prélèvement, adaptées à la recherche des mycoplasmes. [63]

C. Mode opératoire

Introduction de l'échantillon :

- a. Laisser le flacon Mycoplasma R1 revenir à température ambiante.
- b. Après prélèvement placer immédiatement l'écouvillon ou le prélèvement liquide (200µl) dans le Mycoplasma R1. [64]

Traitement des flacons au laboratoire : Tableau 8

- Acheminer le flacon Mycoplasma R1 ensemencé au laboratoire de la lumière, le plus rapidement possible dès la réalisation de prélèvement.
- Veiller à respecter le délai maximum suivant en fonction de la température :

Température	18-25° C	2-8° C
Durée de conservation du Mycoplasma R1 ensemencé	5 heures	48 heures

Un non-respect de ces conditions peut engendrer des faux résultats. [64]

a. Préparation de l'inoculum

- Après homogénéisation, transférer 3 ml du mycoplasma R1 ensemencé dans le mycoplasma R2.
- Agiter au vortex jusqu'à dissolution complète du lyophilisat. [64]

b. Préparation de la galerie

- **Laisser la galerie revenir à température ambiante.**

Sortir la galerie de son emballage.

- Jeter le sachet de déshydratants.
- Mettre le couvercle
- Inscrire la référence de l'échantillon prélevé sur la languette latéral de la galerie. (Ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation). [64]

c. Incubation

- Repartir immédiatement le bouillon dans les 22 cupules tests de la galerie Mycoplasma IST 2 à raison de 55µl par cupule avec la pipette Electronique ATB™ (ou équivalent). [64]
- Ajouter ensuite 2 gouttes d’huile de paraffine dans chaque cupule. [64]
- Placer le couvercle sur la galerie.
- Incuber la galerie et le reste du flacon pendant 24 et 48 heures à 36 °C ± 2 °C. [64]

D. Lecture et interprétation

a. Urée –Arginine LYO 2 (Mycoplasma R1+Mycoplasma R2) :

- Lire la coloration du bouillon Urée-Arginine LYO 2 après 24 heures et 48 heures d’incubation. [65]

	Négatif	Positif
		(Ureaplasma spp.rt/ou M.hominis)
Coloration du bouillon	du jaune	Orange à rouge Uu : bouillon limpide (une légère opalescence due au relargage de l’écouvillon est possible) Mh ; bouillon légèrement opalescent

Tableau 9: Lecture de la coloration du bouillon Urée-Arginine LYO 2

NB : un bouillon trouble rend le test ininterprétable

b. Galerie Mycoplasma IST 2 :

- La lecture des cupules doit être effectuée :
 - A 24 heures uniquement pour la cupule n°4 (Uu ≥ 10⁴).
 - A 24 et 48 heures pour les autres cupules.
- Noter les résultats de lecture de la galerie sur la fiche de résultats en fin de notice. **Tableau 10**

	identification	numération	Tests de sensibilité (mg/l)
--	----------------	------------	-----------------------------

Cupule	0 témoin	Uu	Mh	Uu \geq	Mh \geq	DOT		JOS		OFL		ERY		TET		CIP		AZI		CLA		PRI
	10 ⁴			10 ⁴	4	8	2	8	1	4	4	8	4	8	1	2	0,12	4	1	4	2	
Lecture positive	Orange à rouge			Rouge		Orange à rouge															Orange à rouge	
Lecture négative	Jaune*			Jaune à orange		Jaune															Jaune	
Interprétation de la positivité	Présence de :					La souche est :															La souche est :	
	Uu			Uu \geq	Mh \geq	-- sensible (S)															-sensible (S)	
	Et/ou	Uu	Mh	10 ⁴	10 ⁴	+- intermédiaire															(S)	
	Mh			UFC/prél	UFC/prél	++ Résistante (R)															+résistante (R)	

- Si la lecture du témoin est (-), ne pas lire les autres cupules.

En cas de titres faibles, le virage peut avoir lieu uniquement dans le flacon et non dans la cupule témoin de la galerie

(Le titre du prélèvement est trop faible pour permettre le virage). [65]

D. Contrôle qualité

Les galeries et milieux font l'objet de contrôle de qualité systématiques aux différentes étapes de leur fabrication. Un contrôle bactériologique des tests de la galerie est de plus réalisable par l'utilisateur avec la souche suivante :

Ureaplasma parvum (*Ureaplasma urealyticum* serovar 1) ATCC® 27813/7™ serovar1. [66]

E. Protocole :

- Réaliser une culture de la souche lyophilisée en bouillon Urée-Arginine LYO 2. [66]
- Incuber à 36°C ± 2°C jusqu'à obtention d'une culture suffisante (cf paragraphe Lecture et interprétation : Attention le virage du bouillon peut apparaître après 4 heures d'incubation) puis réaliser un repiquage dans un nouveau bouillon Urée-Arginine LYO 2 et incuber jusqu'à obtention d'une culture suffisante. [66]

- Transférer 15 à 30 µl dans un nouveau bouillon Urée-Arginine LYO 2 qui servira à ensemencer la galerie Mycoplasma IST 2. [66]
- **Résultats attendus**

Identification			Numération		Test de sensibilité																
					DOT		JOS		OFL		ERY		TET		CIP		AZI		CLA		PRI
0	Uu	Mh	Uu \geq 10 ⁴	Mh \geq 10 ⁴	4	8	2	8	1	4	1	4	4	8	1	2	0,12	4	1	4	2
24 h	+	+	-	+	-	-	-	-	-	v	-	-	-	-	-	+	v	-	-	-	-
48 h	+	+	-	-	-	-	-	-	v	-	-	-	-	-	+	v	-	-	-	-	-

Tableau11 : Contrôle qualité (protocole, résultats attendus)

Remarque :

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de prendre en compte la nature de l'application et la législation locale en vigueur pour mise en œuvre de contrôle de qualité (fréquence, nombre de souches, température d'incubation,...).

F. Limites de test

- Un prélèvement ne peut pas être considéré comme négatif avant 48 heures d'incubation.
- En cas de titre faible du prélèvement (bouillon Urée –Arginine LYO 2 positif)
Les cupules de la galerie peuvent ne pas virer ou bien présenter un virage aléatoire.
- La notion de numération donnée par les tests réalisés dans la galerie a une valeur indicative. La détermination exacte du titre peut être effectuée sur gélose (Gélose A7 Mycoplasma). [67]
- Les antibiotiques sont testés sur le prélèvement, sans tenir compte de la richesse de ce dernier en mycoplasmes. Il existe un effet inoculum qui s'observe plus particulièrement avec la tétracycline et la doxycycline.

Dans le cas de faibles titres, il peut y avoir une discordance entre la sensibilité réelle de la souche et le résultat donné par la galerie. [67]

- Un résultat négatif avec la plus faible concentration d'un antibiotique et positif avec la plus forte concentration est un non sens. Dans ce cas, refaire le test. [67]

Performances

Performances sur souches

- **Urée-Arginine LYO 2 (Mycoplasma R1 + Mycoplasma R2) :**

24 souches pures de mycoplasmesensemencées à 2 dilutions ainsi que 8 mélanges Ureaplasma spp. / M. hominis à 1 dilution ont été détectés positifs quelle que soit la dilution. [68]

Par ailleurs ,28 souches interférentes représentatives des différentes espèces pouvant être rencontrées dans le prélèvement uro-génitaux ont étéensemencées en bouillon mycoplasma R1 à raison de 200 µl/ flacon. [68]

Parmi ces 28 souches, seules 3 souches possédant une uréase ont entraîné un résultat faussement positif du bouillon Urée-Arginine LYO 2 (Mycoplasma R1 + Mycoplasma R2) à un inoculum > 10⁸ UFC/ ml. [68]

- **Galerie Mycoplasma IST 2 :**

Identification

8 souches pures de Mycoplasmes à 3 dilutions ainsi que 8 mélanges Ureaplasma spp. / M.hominis à 1 dilution ont été correctement identifiés avec la galerie Mycoplasma IST 2. [68]

Numération indicative

65 souches de mycoplasmes ont étéensemencées en dilution, d'une part sur gélose A7, d'autre part en galerie. L'étude a montré que le seuil de virage des cupules numération de la galerie (± 1 puissance de 10) a été concordant avec les numérations réalisées sur gélose pour 56 essais sur 65. [68]

Test de sensibilité

Les résultats obtenus sur des souches pures de mycoplasmes ont été les suivants :

	5 Uu à 3 dilutions (15 tests)	3 Mh à 3 dilutions (9 tests)
Doxycycline	15 s	7 s / 2 l

Josamycine	15 s	9 s
Ofloxacin	8 S/7 l	5s /3 l / 1 R*
Erythromycine	15 s	9 R
Tétracycline	15s	6s /3 R
Ciprofloxacine	1 s / 8 l /6 R*	6s /3 l
Azithromycine	14 s / 1 l	9 R

- Les variations de sensibilité observées sont corrélées avec les niveaux de dilution de l'inoculum [68] **Tableau 12**

G. Evaluation externe

Une évaluation externe réalisée sur 98 échantillons (endocervicaux, urétraux et de sperme principalement) a permis d'obtenir les résultats suivants :

	Nombre d'échantillons	Résultats	
		Bouillon Arginine LYO 2	Urée- Galerie
Positifs Uu	39	39	35
Positifs Uu + Mh	7	7	6*
Négatif	52	52	52

*Pour le 7^{ème} mélange, seule la cupule des Uu a viré. [68]

H. Elimination des déchets

Les galeries non utilisé peuvent être éliminées comme déchets non dangereux.

Éliminer tous les réactifs utilisés ou les réactifs Mycoplasma R1 et R2 non utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux. [69]

Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon réglementations applicables. [69]

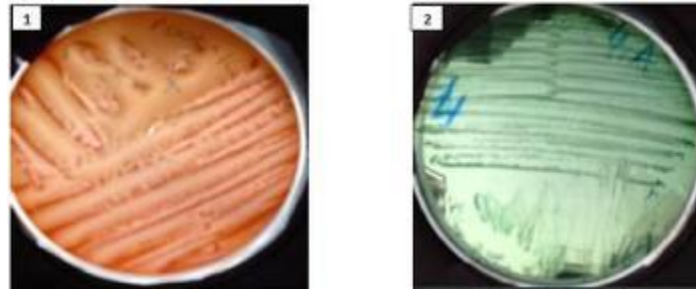


Figure 12: Mycoplasma dans un milieu de culture.

1.4.4. Résultats

Tableau13 : Données de spermogramme et spermoculture de 56 patients à la grande clinique mezdaouet de Khenchela.

Ref	Age	Date de prélèvement	Mobilité	Vitalité	Morphologie	Num Million/ml	[]/ml	V	Ch	Myco	Interprétation
1	29	10/02/2014	Mb80, Im20	80%	N80, An20	70mil/ml	20.10 ⁶	3,5	-	-	Sans particularité
2	37	10/02/2014	Mb50, Im50	50%	N40, An60	126mil/ml	31.10 ⁶	04	+	-	ANT
3	30	13/02/2014	Mb90, Im10	90%	N90, An10	117 mil/ml	47.10 ⁶	2,5	-	-	Sans particularité
4	32	13/02/2014	Mb50, Im50	50%	N50, An50	20 mil/ml	10.10 ⁶	02	+	-	ANT
5	32	13/02/2014	Mb20, Im80	20%	N20, An80	35 mil/ml	10.10 ⁶	1,5	+	+	ANT+ Leucospermie
6	37	13/02/2014	Mb20, Im80	20%	N20, An80	4,5 mil/ml	03.10 ⁶	1,5	+	+	OlgoANT+ Leucospermie
7	58	17/02/2014	Mb80, Im20	80%	N80, An20	240 mil/ml	80.10 ⁶	2,4	-	-	Sans particularité
8	32	17/02/2014	Mb80, Im20	80%	N80, An20	88 mil/ml	44.10 ⁶	02	-	-	Sans particularité
9	31	17/02/2014	Mb10, Im90	10%	N10, An90	14 mil/ml	04.10 ⁶	3,5	+	+	ANT+Oligospermie+Leucospermie
10	38	21/02/2014	Mb30, Im70	30%	N30, An70	156 mil/ml	62.10 ⁶	2,5	+	-	ANT sévère+Pyospermie
11	41	21/02/2014	Mb10, Im90	10%	N10, An90	60 mil/ml	12.10 ⁶	05	+	-	ANT sévère
12	34	21/02/2014	Mb20, Im80	20%	N20, An80	54 mil/ml	18.10 ⁶	03	-	+	ANT sévère+Pyospermie
13	33	25/02/2014	Mb10, Im90	10%	N40, An60	72 mil/ml	24.10 ⁶	03	+	-	ANT
14	30	25/02/2014	Mb30, Im70	30%	N30, An70	120 mil/ml	40.10 ⁶	03	+	+	ANT+Pyospermie
15	33	25/02/2014	Mb00,Im100	00%	N00,An100	1,6 mil/ml	36.10 ⁶	4,5	+	+	Oligo ANT sévère
16	23	28/02/2014	Mb80, Im20	80 %	N70, An30	66 mil/ml	11.10 ⁶	3,6	-	-	Sans particularité
17	28	28/02/2014	Mb10, Im 80	10%	N20, An80	09 mil/ml	09.10 ⁶	01	-	+	Oligo ANT
18	40	28/02/2014	Mb05, Im95	05%	N10, An90	136 mil/ml	46.10 ⁶	03	+	-	ANT
19	52	04/03/2014	Mb00,Im100	00%	N00,An100	800milles/ml	04.10 ⁶	0,5	+	+	OligoANT sévère+Hypospermie++
20	28	04/03/2014	Mb60, Im40	60%	N60, An40	97 mil/ml	39.10 ⁶	2,5	+	-	ANT modérée
21	32	04/03/2014	Mb85, Im15	80%	N80, An20	260 mil/ml	52.10 ⁶	05	-	-	Sans particularité
22	43	08/03/2014	Mb15, Im85	15%	N15, An85	56 mil/ml	28.10 ⁶	02	+	-	ANT+Leucospermie
23	33	08/03/2014	Mb30, Im70	30%	N30, An70	39 mil/ml	13.10 ⁶	03	+	-	ANT
24	36	08/03/2014	Mb90, Im10	90%	N80, An20	224 mil/ml	56.10 ⁶	04	-	-	Sans particularité
25	32	12/03/2014	Mb40, Im60	40%	N50, An50	135 mil/ml	54.10 ⁶	2,5	-	+	ANT
26	38	12/03/2014	Mb00,Im100	00%	N00,An100	80milles/ml	04.10 ⁶	02	+	-	Oligo ANT sévère
27	33	16/03/2014	Mb20, Im80	20%	N20, An80	82 mil/ml	55.10 ⁶	1,5	+	-	Hypospermie+ANT sévère
28	32	16/03/2014	Mb20, Im80	20%	N20, An80	38 mil/ml	15.10 ⁶	2,5	+	+	ANT+Leucospermie
29	33	16/03/2014	Mb30, Im70	30%	N30, An70	17 mil/ml	84.10 ⁶	2,5	+	+	OligoANT+Leucospermie
30	40	16/03/2014	Mb70, Im30	70%	N80, An20	120 mil/ml	80.10 ⁶	1,5	+	-	Asthenospermiemodérée+Hypospermie+ Leucospermie
31	31	20/03/2014	Mb40, Im60	40%	N35, An65	120 mil/ml	48.10 ⁶	2,5	+	-	ANT+Pyospermie
32	45	20/03/2014	Mb05, Im95	05%	N10, An90	03 mil/ml	06.10 ⁶	0,5	+	+	OligoANT sévère+Leucospermie
33	31	20/03/2014	Mb70, Im30	70%	N70, An30	120 mil/ml	120.10 ⁶	01	+	+	Asthenospermiemodérée+Pyospermie+ Hypospermie
34	41	24/03/2014	Mb15, Im85	15%	N30, An70	119 mil/ml	17.10 ⁶	07	+	-	ANT+Hyperspermie modérée
35	37	24/03/2014	Mb20, Im80	20%	N30, An70	12 mil/ml	12.10 ⁶	01	-	-	Hypo-oligo-ANT
36	50	24/03/2014	Mb90, Im10	90%	N75, An25	75 mil/ml	50.10 ⁶	1,5	+	-	Liquide laiteux et dense
37	28	27/03/2014	Mb20, Im80	30%	N30, An70	13 mil/ml	05.10 ⁶	2,5	+	-	Oligo-ANT+Liquide trop visqueux
38	40	27/03/2014	Mb85, Im15	85%	N70, An30	200 mil/ml	200.10 ⁶	01	+	-	ANT modérée+Hypospermie
39	42	31/03/2014	Mb10, Im90	10%	N20, An80	40 mil/ml	20.10 ⁶	02	+	-	Oligo-ANT+Liquide trop visqueux
40	36	31/03/2014	Mb10, Im90	10%	N20, An80	14 mil/ml	07.10 ⁶	02	+	-	Oligo-ANT+Pyospermie
41	31	31/03/2014	Mb50, Im50	50%	N50, An50	02 mil/ml	06.10 ⁶	02	+	-	Oligo-ANT -On note nombreux reste cytoplasmique qui interférer avec numération normal des spermatozoïdes
42	31	03/04/2014	Mb30, Im70	30%	N20, An80	51 mil/ml	17.10 ⁶	03	+	+	ANT+Leucospermie
43	39	03/04/2014	Mb05, Im95	05%	N00,An100	36 mil/ml	7,2.10 ⁶	05	+	-	ANT+Leucospermie
44	32	07/04/2014	Mb00,Im100	00%	N10, An90	102 milles	7,2.10 ⁶	1,5	+	+	ANT+Leucospermie+Hypospermie

Abréviations

Mb : mobile

Im : immobile

N : normal

An : anormal

ANT : astheno-necro-teratospermie

[] : Concentration

V : volume

Ch : chlamydia

Myco : mycoplasma

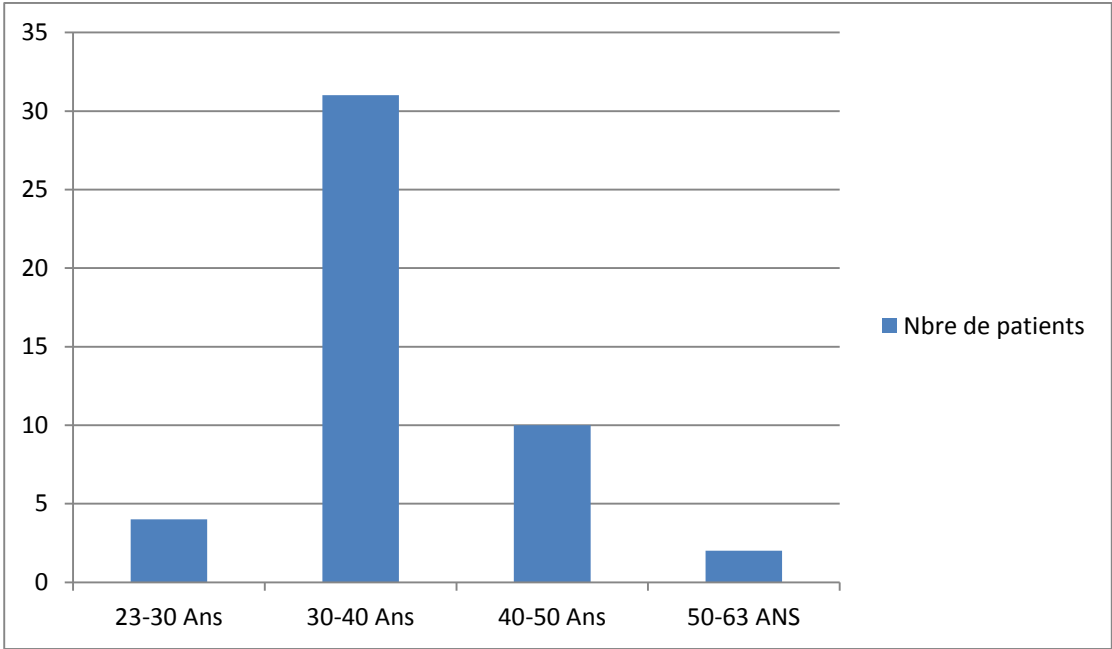


Figure 13: Répartition du Nombre de 56 malade selon l'âge

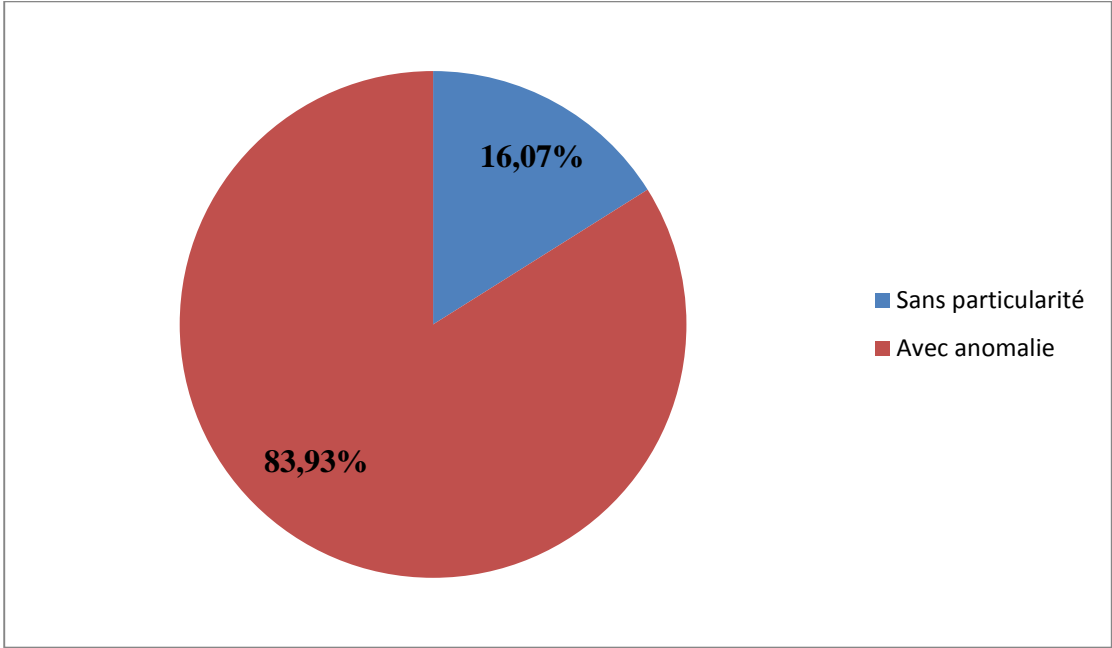


Figure 14: Répartition du nombre des 56 patients sans particularité et avec anomalie en 3 mois.

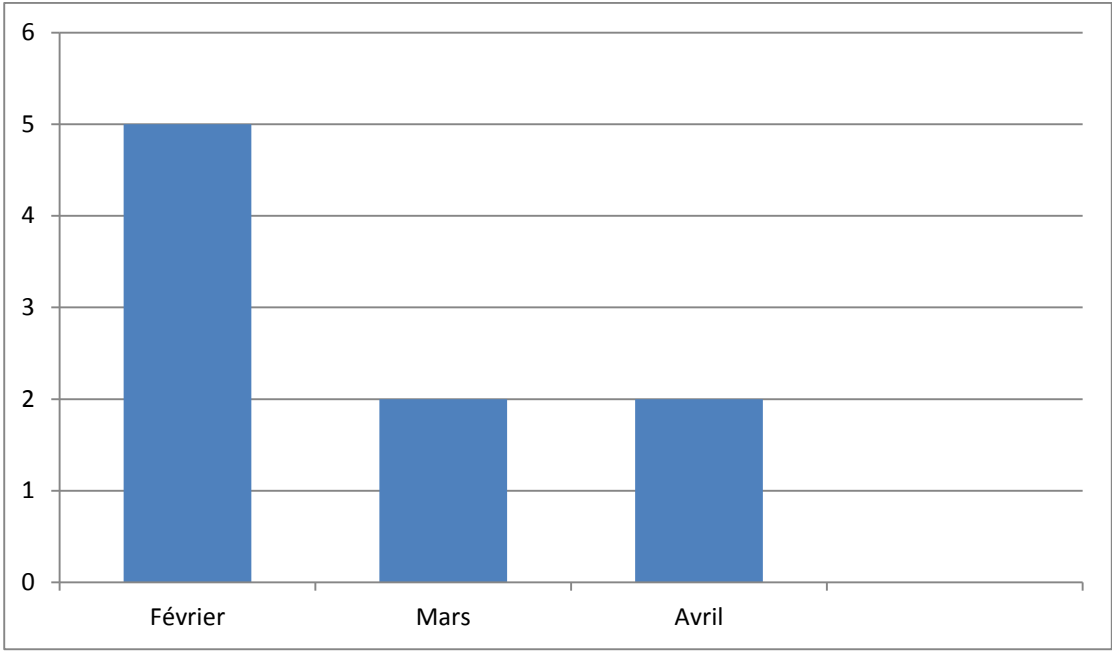


Figure 15: Répartition de nombre de 56 patients sans particularité selon le mois

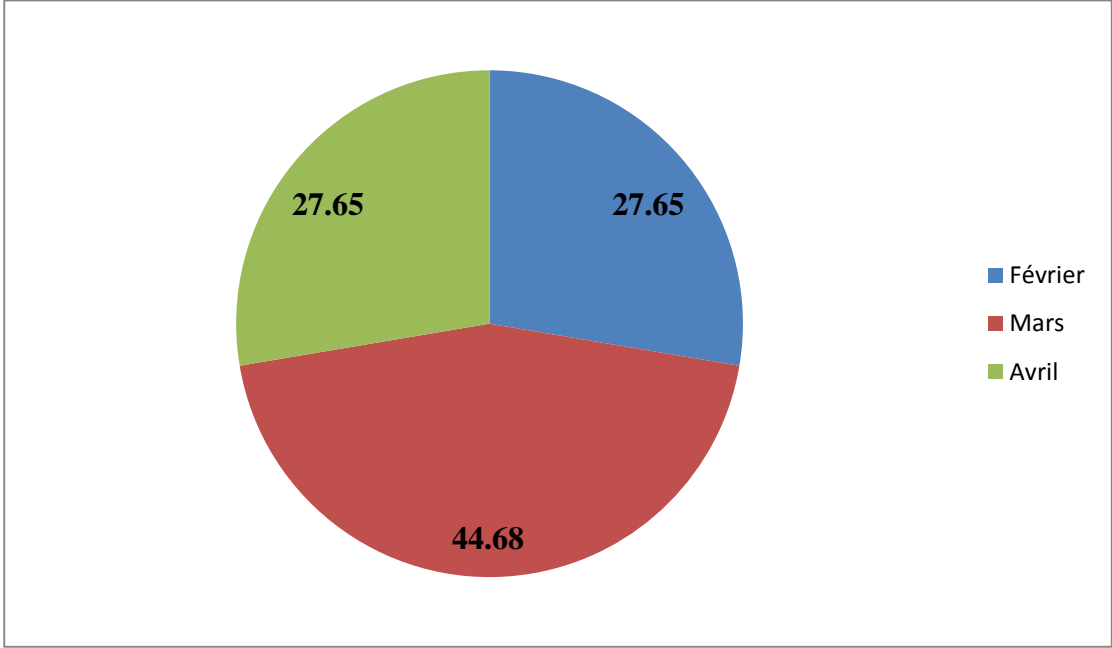


Figure 16: Répartition du nombre des 56 patients avec anomalie selon le mois

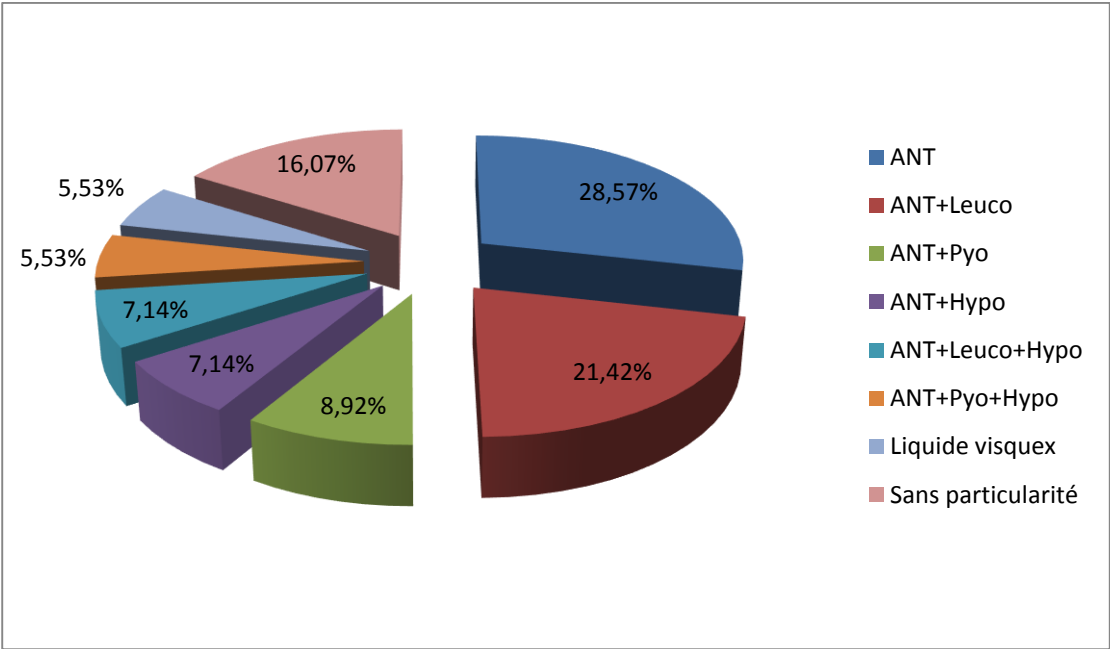


Figure 17: Répartition du nombre de 56 patients selon l'anomalie

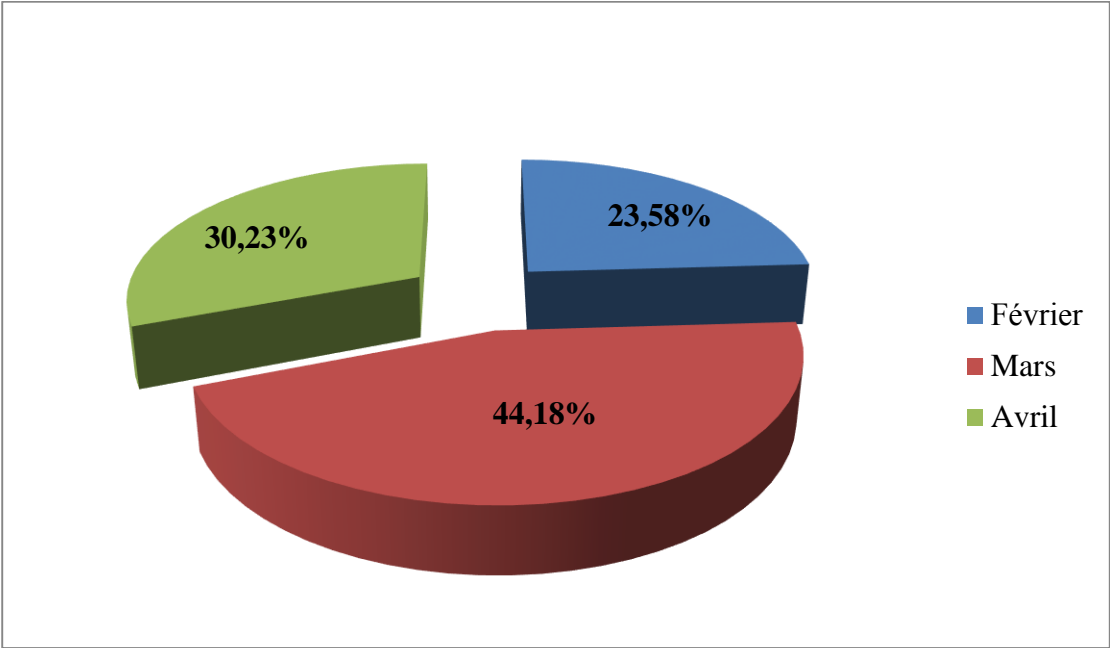


Figure 18: Répartition de nombre de 56 patients infecté par Chlamydiae selon le mois

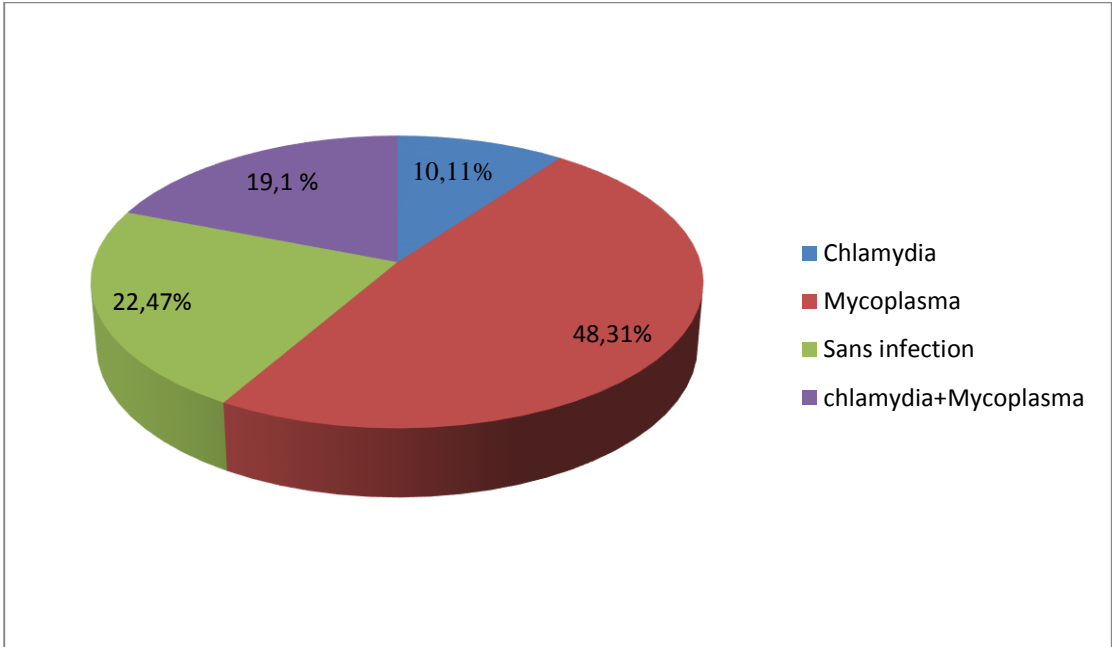


Figure 19: Répartition de nombre de 56 patients selon le spermoculture

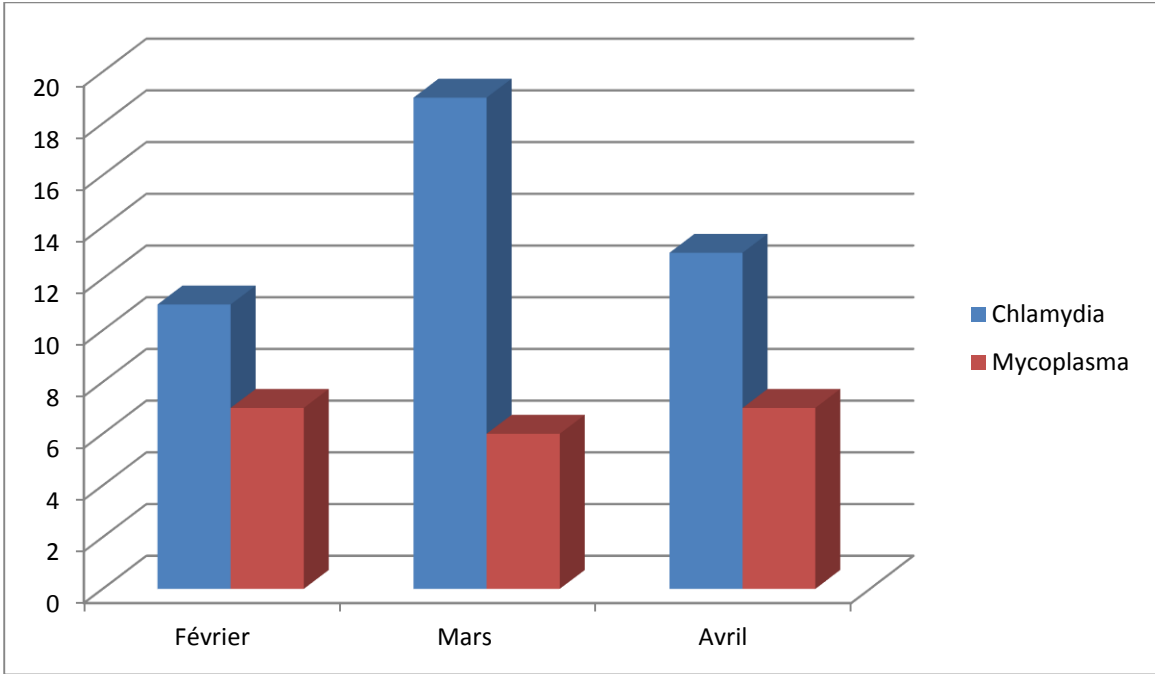


Figure 20: Répartition de nombre de 56 patients infecté par Chlamydia et Mycoplasma selon le mois

1. Cadre d'étude

Sur une période de 03 mois (de février à avril 2014), nous avons effectué dans le laboratoire d'exploration biologique de la Grande Clinique Mezdaouet Khenchela, Une étude prospective sur les anomalies de la qualité du sperme (spermogramme) qui affectent la fertilité masculine dans la région de Khenchela, les tests sont effectués sur 56 patients dont l'âge varie de 23 à 63 ans sous la demande d'un médecin.

Le spermocytogramme avec une spermoculture (recherche de germes banaux) et la recherche de germes intracellulaires (Chlamydia et Mycoplasme).

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

- Pot stérile (pour la récolte de sperme)
- lames et lamelles
- Tube à hémolyse (tube sec)
- Micropipettes + lambeaux
- Les cellules de mallasiez
- Microscope optique
- Portoir
- Etuve réglée à 37
- Eprouvette graduée
- Bandelette multi paramètre (PH, protéine...)
- Boîtes de pétriés
- Tube à visse
- Bec benzène
- Pipette pasteur
- Ance de platine

- Formole pour tué les spermatozoïdes
- Bleu de méthylène
- Coloration de Gram (violet de Jensen, lugol, éthanol, fischine)
- Gélose nutritive
- Gélose Chapman
- Gélose Chocolat
- Gélose Mc conckey
- Muller Hinton

2.2. Méthodes

2.2.1. Techenique d'analyse de sperme

1. Spermogramme

1.1. Conditions de recueil de sperme

Le sperme est recueilli au niveau de laboratoire, par masturbation, dans un réceptacle stérile. Il est indispensable d'examiner une éjaculation recueillie en totalité, Une abstinence sexuelle de 3 à 5 jours est conseillée avant le recueil, ce délai influence le volume et la numération.

Lors de l'éjaculation, le sperme coagule pour se liquéfier progressivement à température de 37°C, généralement en une vingtaine de minutes et l'examen est débuté à partir de ce moment et avant la première heure. [53]

1.2. Paramètres mesuré dans le spermogramme

A.Examen macroscopique: l'examen macroscopique permet d'évaluer un certain nombre de paramètres selon le protocole suivant :

➤ **Liquéfaction:** on met le sperme recueilli dans l'étuve pendant une période de 15 à 30 min. Il prend normalement moins de 20 minutes pour l'échantillon dépasser d'une épaisseur de gel en un liquide. [54]

➤ **Le volume:** il est mesuré de façon précise a l'aide d'une pipette calibrée; il est normalement compris entre 2 à 6 ml. Un volume trop faible peut évoquer une éjaculation incomplète, et en cas d'absence totale d'éjaculat on note une aspermie.

➤ **Le pH:** il est mesuré à l'aide d'un papier indicateur de pH sur lequel on dépose une goutte de sperme; attendre 20-30 secondes (la couleur doit être uniforme) la couleur de la zone imprégnée est comparée à une échelle de lecture. [54]

➤ **La viscosité:** est évaluée semi quantitativement en observant la manière dont le sperme s'écoule à l'extrémité de la pipette.

A.Analyse microscopique : L'analyse microscopique est réalisée, après préparation des échantillons et grâce à une observation sous un microscope photonique, aux grossissements 40x.

B.Mobilité des spermatozoïdes :

La méthode d'évaluation de la mobilité des spermatozoïdes est basée sur un examen directe entre lame et lamelle, et le résultat est exprimé en % après la lecture de plusieurs champs microscopiques (afin de vérifier l'homogénéité de la lame). Cette mobilité est estimée selon l'OMS (1999), en 4 indices d'intensité:

Grade A (rapide progressive), spermatozoïdes nagent et avancent rapide en ligne droite mouvement fléchant. [55]

GradeB (lente et progressive), des spermatozoïdes nagentent avant, mais soit en une ligne courbe ou tordu, ou lentement (motilité linéaire ou non linéaire). [55]

GradeC (non progressive), spermatozoïdes déplacent leurs queues, mais ne pas aller de l'avant (motilité local uniquement). [55]

GradeD (immobiles), spermatozoïdes ne se déplacent pas du tout. [55]

➤ **La vitalité (pourcentage de spermatozoïdes vivants):** les spermatozoïdes considérer comme vivant sont ceux qui sont en mouvement et le % de la mobilité égale le % de la vitalité. [56]

La numération: Elle est appréciée par comptage des spermatozoïdes dans une cellule de Mallassiez, après immobilisation des spermatozoïdes et une dilution 1/20 de sperme dans une solution de formole (50 µl de sperme pour 950 µl de formol). [56]

Bien homogénéiser le mélange (sperme+diluant) et l'introduire 10µl par capillarite dans

Chacune des chambres de la cellule. Seul les spermatozoïdes entiers sont comptés (tête + flagelle).

D. Calcule de la concentration: on effectue le calcule de la concentration des spermatozoïdes, on utilise l'équation suivante. [57]

$$\text{Concentration} = X \times 20 \text{ (dilution)} \times 1000 \text{ (v en cm}^3\text{ml)} = X \times 20000/\text{ml.}$$

➤ Cas de forte concentration prévisible, on fait le comptage de 2 carreaux non consécutifs ; Si z le nombre de spermatozoïdes comptes;

$$\text{Concentration} = Z \times 20 \text{ (dilution)} \times 50000 \text{ (v en cm}^3\text{ml)} = Z \times 10^6/\text{ml}$$

Toutes les concentrations sont exprimées en millions $\times 10^6/\text{ml}$. [57]

➤ **Les Leucocytes:** le principe de la détermination de la concentration de leucocytes est le même que celui de la concentration des spermatozoïdes. [58]

Le même principe de comptage et de calcul pour déterminer la concentration en million/ml. Ce compte est fait dans le même temps que celui des spermatozoïdes.

➤ **Agglutination:** est définie par l'attachement de spermatozoïdes mobiles entre eux, l'agglutination est évaluée sur au moins 10 champs pris au hasard et le degré d'agglutination est notée en %. [58]

1.3. L'analyse morphologique des spermatozoides « Spermocytogramme »

L'analyse de la morphologie des spermatozoïdes et effectue sous microscope soit après coloration a l'éosine soit à état frais est le résultat et exprimé en % des formes normales et anormales (anomalies de la tête, Les anomalies de la pièce intermédiaire, Anomalies du flagelle). [58]

1.4. Spermoculture

Examen direct: L'examen directe est fait à l'état frais du sperme entre lame et lamelle pour viser la présence de levure soude parasites notamment le *Trichomonas Vaginalis*, la coloration de bleu de méthylène pour observer les leucocytes et leur types afin d'orienté de diagnostic, la coloration de Gram permet la recherche de l'existence ou non de diplocoques a gram négatif *NeisseriaGonorrhoeae*, de levure de cocci a Gram positif de bacilles à gram négatif. [59]

Culture: le prélèvement et ensemencé sur une gélose chocolat, chapman et un milieu sélectif pour les bacilles a Gram (-)

1.4.2. Chlamydia Ag

Dosage immunochromatographique basé sur la fixation direct d'anticorps monoclonaux pour la détection visuelle de l'antigène de Chlamydiae dans des échantillons endocervicaux et urétraux, en vue de contribuer au diagnostic des infections à Chlamydia [74]

Ce test de chlamydia de cypress diagnostics est un essai qualitatif rapide à usage diagnostique in vitro pour la détection de Chlamydia trachomatis, directement d'un écouvillon endocervical féminin et d'un écouvillon urétral masculin/féminin. Ce test est conçu pour faciliter le diagnostic des infections à Chlamydia. [74]

A. Principe

Le test chlamydia de cypress diagnostics est un essai immunologique qualitatif rapide basé sur le principe immunochromatographique. (Dans la procédure d'essai, un échantillon clinique est obtenu et placé dans un tube d'extraction A. Après deux minutes une solution d'extraction B est ajoutée au tube. 3 gouttes (environ 150 µl) d'échantillons. La membrane est pré-enrobée d'un anticorps monoclonique lipopolysaccharide (LPS) spécifique au genre sur la région de bande de test (T) et d'un anticorps anti-souris caprin sur la région de la bande de contrôle (C). [74]

Pendant les tests, l'échantillon est amené à réagir avec les particules colloïdales d'or qui ont été enrobées d'un anticorps anti-chlamydia monoclonal, après quoi il migre latéralement à travers la membrane par action capillaire. Si l'échantillon contient l'antigène de Chlamydia, une bande colorée avec un complexe anticorps spécifique-Chlamydia anticorps spécifique de particules de conjugué colloïdal va se former sur la membrane dans la région de la bande de test (T). Si l'antigène de Chlamydia n'est pas présent, une ligne rose va uniquement se former sur la région de la n*bande de contrôle (c). Pour servir de contrôle procédural, une bande colorée au niveau de la région de la bande de contrôle (C) va toujours apparaître sans tenir compte de la présence de l'antigène de Chlamydia. [74]

Contenu du kit

- 20 dispositifs de test.
- Solution d'extraction A – contenant 0,2 M hydroxyde de sodium (7,5 ml)
- Solution d'extraction B : contenant 0,2 M acide hydrochlorique.
- Ecouvillons endocervicaux stériles à bout Coton : 10.
- Ecouvillons urétraux stériles : 10.
- Tubes d'extraction – 20.
- 1 notice d'instructions.

B. Matériels supplémentaires nécessaires :

- Un récipient pour la collecte de l'échantillon.
- Minuterie.

C. Conservation et stabilité

Les réactifs d'extraction et les dispositifs de test de Chlamydia peuvent être conservés à n'importe quelle température entre 4 et 30 ° C dans leur pochette d'origine scellée.

La trousse reste stable jusqu'à la date imprimée sur l'étiquette de la boîte et/ou sur la pochette. N'utilisez pas des trousses de dosage dont la date de validité est dépassée et ne les congelez pas. [75]

D. Précautions

- Le test est uniquement destiné à usage diagnostique in vitro et réservé à l'usage professionnel. Utilisez le test uniquement selon les instructions accompagnant le trousse.
- Ne mélangez pas de réactifs provenant de différents lots de trousse de test.
- Faire preuve des précautions qui s'imposent pour la collecte, la manipulation, le stockage et l'élimination des échantillons et de contenu du kit utilisé. Utilisez des vêtements de protection adéquats (gants, blouse de laboratoire, lunette de sécurité)

lorsque vous manipulez les échantillons. Evitez tout contact entre les mains, les yeux ou la bouche lors du prélèvement et du test des échantillons, réactifs et contrôle seront manipulés comme s'ils contenaient des agents infectieux.

- Ne pipetez aucun matériel à la bouche. Ne fumez pas, ne mange pas et ne buvez pas dans les endroits où les échantillons ou le matériel de la trousse sont conservés.

- La solution d'extraction A contient de hydroxyde de sodium (solution basique) tandis que la solution d'extraction B contient l'acide hydrochlorique (solution acide). Si l'une des solutions entre en contact avec la peau ou les yeux, rince abondamment à l'eau.

- Utiliser uniquement des écouvillons fournis avec le kit ou des écouvillons avec tige à bout Rayonne ou Dacron de manière à obtenir des échantillons endocervicaux.

- Après l'exécution du dosage, stérilisez les écouvillons et les dispositifs utilisés à l'autoclave pendant 20 minutes à 121 ° C. A la place, vous pouvez également les traiter par une solution d'eau de Javel à 0,5- 1 % .éliminez les matériels dans des sacs destinés aux déchets biologiques dangereux.

- Tout comme avec toutes les trousse diagnostiques, un diagnostic clinique définitif ne doit pas être basé sur les résultats d'un dosage unique, mais il uniquement être posé par le médecin après examen de l'observation clinique et des données de laboratoire.

[75]

E. Collecte et stockage des échantillons

La qualité des échantillons obtenue est d'une importance extrême. La détection de Chlamydia exige une technique de collecte vigoureuse et totale qui fournit un matériau cellulaire de préférence à simple fluides corporels.

F. Pour des échantillons urétraux :

- Utiliser l'écouvillon urétral ou des écouvillons à tige en fil à bout en fibre standard pour le recueil de l'échantillon urétral. Indiquer aux patients de ne pas uriner une heure au moins avant la collecte de l'échantillon.

- Insérer l'écouvillon dans l'urètre sur 2 à 4 cm, tourner pendant 3 à 5 secondes, puis retirer.

- Placer l'écouvillon sur le tube d'extraction si le test doit être exécuté immédiatement. [76]

Ne pas placer l'écouvillon dans un dispositif de transport contenant un agent étant donné que l'agent de transport interfère avec l'essai.

Si un test immédiat n'est pas possible, l'échantillon du patient sera placé dans tube de transport sec en vue du stockage ou du transport. Les écouvillons peuvent être stockés pendant 4 heures à la température de réfrigération (4 à 8 ° C). Ne pas congeler. Tous les échantillons devraient être portés à une température ambiante de 10 à 30° C avant le test. [76]

G. Procédure

- Revoir les instructions pour la « collecte de l'échantillon ». ne pas ouvrir les pochettes tant que l'on n'est pas prêt à exécuter l'essai. Les réactifs et les échantillons d'essai doivent être portés à la température ambiante avant l'essai.

- Pour éviter la contamination croisée, ne pas laisser la pointe du flacon de réactif entrer en contact avec les écouvillons échantillons ou les tubes d'extraction. [77]

H. Extraction de l'échantillon

Pour les échantillons d'écouvillons endocervicaux ou urétraux :

- Placer un nouveau tube d'extraction dans la zone désignée du poste de travail. Ajouter 6 gouttes de solution d'extraction A dans le tube d'extraction. [78]

- Immerger l'écouvillon du patient dans le tube d'extraction et extraire pendant 2 minutes à la température ambiante. [78]

- Pendant l'extraction, imprimer un mouvement circulaire de manière à faire rouler l'écouvillon contre le côté du tube d'extraction afin d'exprimer le liquide de l'écouvillon et de la réabsorber. [78]

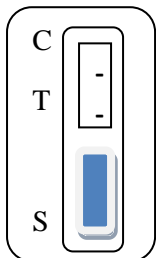
- A la fin de la période d'extraction, ajouter 6 gouttes de solution B. Comprimer fermement l'écouvillon contre le tube de manière à exprimer le plus de liquide possible de l'écouvillon. Eliminer l'écouvillon en suivant les directives relatives à la manipulation d'agent infectieux. [78]

- L'échantillon extrait peut rester à la température ambiante pendant 60 minutes sans influencer le résultat de test de Chlamydia. [78]

I. Procédure d'essai

- Suivre les instructions relatives à la collecte et l'extraction de l'échantillon. [78]
- Enlever le dispositif de test de l'antigène de Chlamydia de sa pochette de protection et le placer sur une surface propre, sèche et plane. Etiqueter le dispositif avec l'identification du patient ou du contrôle. [78]
- Placer le capuchon sur le tube d'extraction. Ajouter 3 gouttes (environ 150µl) de l'échantillon extrait du tube d'extraction dans le réservoir à l'échantillon. [78]
- Attendre l'apparition de bande(s) coloré(s). Les résultats du test seront lus dans les 10 minutes qui suivent l'addition de l'échantillon extrait au réservoir à échantillon (s). En fonction de la quantité d'organisme antigène de Chlamydia sur l'écouvillon, un résultat positif peut être visible après 1 minute déjà. Toutefois, pour confirmer un résultat négatif, la période de réaction complète de 15 minutes est nécessaire. Ne pas interpréter le résultat après 20 minutes. [78]

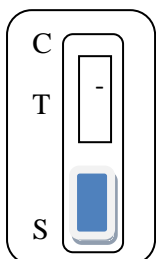
G. Interprétation des résultats



Positif

Deux lignes colorées doivent être observées dans la fenêtre de visualisation. La ligne dans la région de test (T) est la ligne de sondage ; la ligne dans la région de contrôle (C) est utilisée pour indiquer le fonctionnement correct du dispositif.

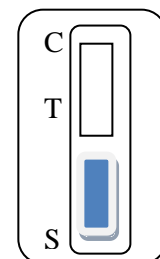
L'intensité de la couleur de la ligne de test peut être plus faible ou plus forte que celle de la ligne de contrôle. [79]



Négatif

La ligne de contrôle apparaît dans la fenêtre du test, mais la ligne n'est pas visible. [79]

Non valable



Aucune ligne n'apparaît dans la région du contrôle. En aucun cas, on n'identifiera pas un échantillon positif avant la formation de la ligne de contrôle dans la zone de

visualisation. Si la ligne de contrôle ne se forme pas, le résultat du test n'est pas concluant et l'essai doit être répété. [79]

K. Limites de la procédure

Le test Chlamydia de cypress Diagnostics ne différencie pas spécifiquement *C. trachomatis*, *C. pneumonia* ou *C. psittaci*. La détection de Chlamydia dépend du nombre d'organisme présents dans la solution. Ceci peut être influencé par les méthodes de collecte de l'échantillon et les facteurs du patient comme l'âge, les antécédents de maladies sexuellement transmissibles, la présence de symptômes, etc. [80]

L. Contrôle de qualité

Un contrôle de procédure est compris dans le test de Chlamydia de cypress Diagnostics. Une ligne rose qui apparaît dans la région de contrôle (C) indique une exécution appropriée et des réactifs fonctionnels.

Les bonnes pratiques de laboratoire recommandent l'utilisation de contrôle externe afin de garantir le bon fonctionnement de la méthode de test. [80]

-Caractéristiques de performances

Spécificité

L'anticorps utilisé dans le test de Chlamydia de Cypress Diagnostics a, comme on a pu le démontrer, détecté les 15 serovars de Chlamydia psittaci et de Chlamydia. En outre, des souches de Chlamydia psittaci et de Chlamydia pneumonia ont été testées avec le test d'antigène de Chlamydia et ont fourni un résultat positif. [81]

La réactivité croisée avec d'autres organismes a été étudiée en recourant à des suspensions de 10^6 CFU/ml. Les organismes suivants n'ont pas été détectés avec ce test de Chlamydia :

Acinetobacter spp, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Nisseria catarrhalis*, *Gardnerella vaginalis*, *Neisseria meningitides*, *streptococcus faecalis*, *Nisseria lactamica*, *streptococcus faectium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Trichomonas vaginalis*.

[81]

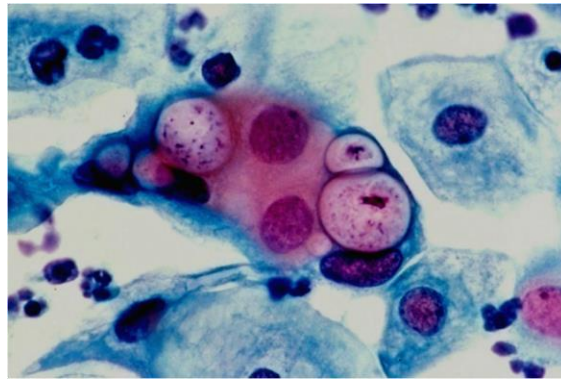


Figure 11 : Chlamydiae dans des Vacuoles. [81]

1.4.3. Mycoplasma IST 2

Diagnostic des mycoplasmes urogénitaux (culture, identification, numération indicative, test de sensibilité)

A. Introduction et objet du test

Mycoplasma IST 2 est un kit complet destiné au diagnostic des mycoplasmes urogénitaux. Il permet la culture, identification, la numération indicative et la détermination de sensibilité aux antibiotiques d'*Ureaplasma spp.* et de *Mycoplasma hominis*. [58]

Note : L'espèce *Ureaplasma urealyticum* a été divisée en 2 nouvelles espèces nommées *ureaplasma parvum* et *Ureaplasma urealyticum*. Dans l'utilisation de la galerie, elles sont considérées toutes les deux comme *Ureaplasma spp.* le symbole *Uu* présent dans les différents tableaux, ainsi que sur la galerie et la fiche de résultat représente *Ureaplasma spp.* [58]

B. Principe

Mycoplasma IST 2 associe un bouillon de culture sélectif à une galerie comprenant 22 tests. [59]

Le bouillon est adapté à la croissance optimale des Mycoplasmes (PH, substrat, association de plusieurs facteurs de croissance).

La présence de substrats spécifiques (urée pour *Ureaplasma spp.*, et angine pour *M. hominis*) et d'un indicateur (rouge de phénol) permet, en cas de culture positive, de visualiser un changement de couleur de bouillon lié à une augmentation du PH.

La sélectivité vis à vis de la flore de contamination éventuellement présente dans le prélèvement est apportée par l'association de 3 antibiotiques et d'un antifongique. [59]. Le bouillon est réparti, après ensemencement, dans la galerie.

Cette galerie permet d'obtenir simultanément :

- L'identification
- La numération indicative,
- La sensibilité vis-à-vis des antibiotiques [59]

Présentation

REF 42 505	Coffret de 25 tests
Mycoplasma R 1 :	Bouillon
	25 flacons de 3,1 ml
Mycoplasma R2 :	Lyophilisat
	25 galeries de 22 tests
Mycoplasma IST 2 :	25
Couvercle d'incubation :	
Notice :	1

Composition et reconstitution des réactifs du coffret

a.Flacons Mycoplasma R 1 :

Chaque flacon contient 3,1 ml d'un bouillon renfermant des éléments nutritifs sables, nécessaires pour la préparation de l'échantillon .Il assure la sélectivité vis-à-vis des principales bactéries Gram(+) et Gram(-) et permet la reprise du réactif Mycoplasma R 2. [60]

b. Flacons Mycoplasma R 2 :

Chaque flacon contient 1ml de bouillon Urée-Arginine sous forme lyophilisée. Après reprise du Mycoplasma R 2 par 3 ml de Mycoplasma R 1, la composition est conforme à la formule suivante :

Tableau 4 : Composition (Mycoplasma R 1+Mycoplasma R 2)

Formule théorique :	
Ce milieu peut être ajusté et/ou supplémenté en fonction des critères de performance imposés.	
Peptone de viande (porcin-bovin)	8g
Peptone de caséine (bovin)	8 g
Extrait de levure	4g
Chlorure de sodium	3,5g
Chlorhydrate d'arginine	5g
Chlorhydrate de cystéine	0,1g
Urée	0,05g
Rouge de phénol Mélange Poly Vitex TM	10 ml
Sérum de cheval	100 ml
Mélange d'antibiotiques	10 ml
Eau purifiée	1 l
PH 6,3	

- le PH du bouillon Urée-Arginine LYO 2 peut diminuer au cours du temps jusqu'à la valeur de 6.0. Cette diminution n'affecte pas les performances du produit [60].

c. Galerie Mycoplasma IST 2 :

La galerie comprend 22 tests et se divise en 3 parties :

1. Identification (cupules n=1 à 3) Tableau 5

Cupule n=1 (0) : témoin de croissance

Cupule n=2 (Uu) : identification Ureaplasma spp.

Cupule n=3 (Mh) : identification M. HOMINIS [60]

Cupules	Tests	Substrat principaux
N=1	0 (témoin)	Rouge de phénol (0,05 g/l)
N=2	Uu	Rouge de phénol (0,05 g/l) Lincomycine
N=3	Mh	Erythromycine

2. Numération indicative (cupule n=4 et 5) Tableau 6

Cette partie permet de déterminer si le titre en Mycoplasmes dans le prélèvement est égal ou supérieur à un seuil établi à 10^4 UFC (unité formant colonie) :

-cupule n=4 ($Uu \geq 10^4$) : titre Ureaplasma spp. $\geq 10^4$ UFC dans le prélèvement.

-cupule n = 5 ($Mh \geq 10^4$) : titre M.hominis $\geq 10^4$ UFC dans le prélèvement.

Cupules	Tests	Substrats principaux
N=4	$Uu \geq 10^4$	Rouge de phénol (0,05 g/l) Lincomycine Agent d'inhibition
N=5	$Mh \geq 10^4$	Erythromycine Agent d'inhibition

3. Tests de sensibilité (cupule n=6 à 22) **Tableau 7**

Ces cupules permettent de tester la sensibilité de la souche vis-à-vis de

9 antibiotiques :

Cupules	Antibiotique Abréviation	et	Concentration mg/l
N=6 et 7	Doxycycline	DOT	
N=8 et 9	Josamycine	JOS	
N=10 et 11	Ofloxacin	OFL	
N=12 et 13	Erythromycine	ERY	
N=14 et 15	Tétracycline	TET	
N=16 et 17	Ciprofloxacine	CIP	
N=18 et 19	Azithromycine	AZI	

N=20 et 21	Clarythromycine	CLA	
N=22		PRI	

Remarque : les cupules non identifiées ne contiennent pas de substrat. [60]

Réactif et matériel nécessaire mais non fournis

a. Réactif / instrumentation :

- Huile de paraffine (Réf. 70 100)
- Pipette Electronique ATB (ou équivalent)

(Consulter bio Mérieux) [61]

b. Matériel

- Ecouvillons de prélèvement

- Pipette et micropipette (pour ensemercer la galerie)
- Etuve bactériologique

c. Réactif complémentaire

- Gélose A7 Mycoplasma

Précaution d'utilisation

- **Pour diagnostic *in vitro* uniquement**

- **Pour usage professionnel uniquement**

-Ce coffret contient des composants d'origine animale.

La maîtrise de l'origine et/ou de l'état sanitaire des animaux ne pouvant garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible, il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (ne pas ingérer ; ne pas inhaler). [62]

- Les prélèvements, cultures bactériennes et produitsensemencés doivent être manipulés de façon appropriée. Les techniques aseptiques et les précautions usuelles de manipulation pour le groupe bactérien étudié doivent être respectées tout au long de la manipulation ; se référer à « CLSI® M29-A, *protection of laboratory workers from occupationally acquired infections* ; approved Guideline-Révision en vigueur ».

Pour information complémentaire sur les précautions de manipulation, se référer à « *Biosafety in Microbiological and biomédical laboratories*-CDC/NIH [62]

Dernière édition », ou à la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation.

-Les milieux de culture ne doivent pas être utilisés comme matériau ou composant de fabrication. [62]

-Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption.

-Avant utilisation, laisser les réactifs revenir à température ambiante.

- Avant utilisation, s'assurer de l'intégrité du bouchon des flacons.

-Ne pas utiliser les réactifs dont l'emballage est détérioré.

-Ne pas utiliser des flacons présentant un trouble.

- Ne pas utiliser des galeries ayant subi une altération physique : cupule déformée, sachet déshydratant ouvert,...

-Les performances présentées sont obtenues avec la méthodologie indiquée dans cette notice. Toute déviation de méthodologie peut modifier les résultats.

-L'interprétation des résultats de test doit être faite en tenant compte de contexte clinique, de l'origine du prélèvement, des aspects micro et macroscopiques et éventuellement des résultats d'autres tests, en particulier des tests de sensibilité. [62]

Condition de stockage

Les galeries et flacons se conservent entre 2 C ET 8 C dans leur coffret jusqu'à la date de péremption. [63]

Echantillon (prélèvement et préparation)

- Ce kit peut être utilisé à partir de prélèvement :

-urétraux

-cervico-vaginaux

Les mycoplasmes ayant une grande affinité pour les membranes des cellules possible.

Les écouvillons en Alginate de calcium, Dacron ou polyester avec une tige aluminium ou plastique sont des matériaux recommandés. Les écouvillons coton avec tige en bois ne sont pas recommandés du fait de leur effet inhibiteur potentiel (12). [63]

-sperme

- D'autres échantillons peuvent être testés (urine,...) sous réserve de validation par l'utilisateur.

Effectuer le prélèvement avant toute antibiothérapie.

Une technique standardisée doit être mise en œuvre pour éviter les contaminations par d'autres germes.

Il convient de respecter les bonnes pratiques en termes de prélèvement, adaptées à la recherche des mycoplasmes. [63]

C. Mode opératoire

Introduction de l'échantillon :

- a. Laisser le flacon Mycoplasma R1 revenir à température ambiante.
- b. Après prélèvement placer immédiatement l'écouvillon ou le prélèvement liquide (200µl) dans le Mycoplasma R1. [64]

Traitement des flacons au laboratoire : Tableau 8

- Acheminer le flacon Mycoplasma R1 ensemencé au laboratoire de la lumière, le plus rapidement possible dès la réalisation de prélèvement.
- Veiller à respecter le délai maximum suivant en fonction de la température :

Température	18-25° C	2-8° C
Durée de conservation du Mycoplasma R1 ensemencé	5 heures	48 heures

Un non-respect de ces conditions peut engendrer des faux résultats. [64]

a. Préparation de l'inoculum

- Après homogénéisation, transférer 3 ml du mycoplasma R1 ensemencé dans le mycoplasma R2.
- Agiter au vortex jusqu'à dissolution complète du lyophilisat. [64]

b. Préparation de la galerie

- **Laisser la galerie revenir à température ambiante.**

Sortir la galerie de son emballage.

- Jeter le sachet de déshydratants.
- Mettre le couvercle
- Inscrire la référence de l'échantillon prélevé sur la languette latéral de la galerie. (Ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation). [64]

c. Incubation

- Repartir immédiatement le bouillon dans les 22 cupules tests de la galerie Mycoplasma IST 2 à raison de 55µl par cupule avec la pipette Electronique ATB™ (ou équivalent). [64]
- Ajouter ensuite 2 gouttes d'huile de paraffine dans chaque cupule. [64]
- Placer le couvercle sur la galerie.
- Incuber la galerie et le reste du flacon pendant 24 et 48 heures à 36°C ± 2°C. [64]

D. Lecture et interprétation

a. Urée –Arginine LYO 2 (Mycoplasma R1+Mycoplasma R2) :

- Lire la coloration du bouillon Urée-Arginine LYO 2 après 24 heures et 48 heures d'incubation. [65]

	Négatif	Positif
		(Ureaplasma spp.rt/ou M.hominis)
Coloration du bouillon	du jaune	Orange à rouge Uu : bouillon limpide (une légère opalescence due au relargage de l'écouvillon est possible) Mh ; bouillon légèrement opalescent

Tableau 9: Lecture de la coloration du bouillon Urée-Arginine LYO 2

NB : un bouillon trouble rend le test ininterprétable

b. Galerie Mycoplasma IST 2 :

- La lecture des cupules doit être effectuée :
 - A 24 heures uniquement pour la cupule n°4 ($Uu \geq 10^4$).
 - A 24 et 48 heures pour les autres cupules.
- Noter les résultats de lecture de la galerie sur la fiche de résultats en fin de notice. **Tableau 10**

	identification	numération	Tests de sensibilité (mg/l)
--	----------------	------------	-----------------------------

Cupule	0 témoin	Uu	Mh	Uu \geq	Mh \geq	DOT		JOS		OFL		ERY		TET		CIP		AZI		CLA		PRI
				10 ⁴	10 ⁴	4	8	2	8	1	4	4	8	4	8	1	2	0,12	4	1	4	2
Lecture positive	Orange à rouge			Rouge		Orange à rouge															Orange à rouge	
Lecture négative	Jaune*			Jaune à orange		Jaune															Jaune	
Interprétation de la positivité	Présence de :					La souche est :															La souche est :	
	Uu			Uu \geq	Mh \geq	-- sensible (S)															-sensible (S)	
	Et/ou	Uu	Mh	10 ⁴	10 ⁴	+- intermédiaire															(S)	
	Mh			UFC/prél	UFC/prél	++ Résistante (R)															+résistante (R)	

- Si la lecture du témoin est (-), ne pas lire les autres cupules.

En cas de titres faibles, le virage peut avoir lieu uniquement dans le flacon et non dans la cupule témoin de la galerie

(Le titre du prélèvement est trop faible pour permettre le virage). [65]

D. Contrôle qualité

Les galeries et milieux font l'objet de contrôle de qualité systématiques aux différentes étapes de leur fabrication. Un contrôle bactériologique des tests de la galerie est de plus réalisable par l'utilisateur avec la souche suivante :

Ureaplasma parvum (*Ureaplasma urealyticum* serovar 1) ATCC® 27813/7™ serovar1. [66]

E. Protocole :

- Réaliser une culture de la souche lyophilisée en bouillon Urée-Arginine LYO 2. [66]
- Incuber à 36°C ± 2°C jusqu'à obtention d'une culture suffisante (cf paragraphe Lecture et interprétation : Attention le virage du bouillon peut apparaître après 4 heures d'incubation) puis réaliser un repiquage dans un nouveau bouillon Urée-Arginine LYO 2 et incuber jusqu'à obtention d'une culture suffisante. [66]

- Transférer 15 à 30 µl dans un nouveau bouillon Urée-Arginine LYO 2 qui servira à ensemencer la galerie Mycoplasma IST 2. [66]
- **Résultats attendus**

Identification			Numération		Test de sensibilité																
					DOT		JOS		OFL		ERY		TET		CIP		AZI		CLA		PRI
0	Uu	Mh	Uu \geq 10 ⁴	Mh \geq 10 ⁴	4	8	2	8	1	4	1	4	4	8	1	2	0,12	4	1	4	2
24 h	+	+	-	+	-	-	-	-	-	v	-	-	-	-	-	+	v	-	-	-	-
48 h	+	+	-	-	-	-	-	-	v	-	-	-	-	-	+	v	-	-	-	-	-

Tableau11 : Contrôle qualité (protocole, résultats attendus)

Remarque :

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de prendre en compte la nature de l'application et la législation locale en vigueur pour mise en œuvre de contrôle de qualité (fréquence, nombre de souches, température d'incubation,...).

F. Limites de test

- Un prélèvement ne peut pas être considéré comme négatif avant 48 heures d'incubation.
- En cas de titre faible du prélèvement (bouillon Urée –Arginine LYO 2 positif)
Les cupules de la galerie peuvent ne pas virer ou bien présenter un virage aléatoire.
- La notion de numération donnée par les tests réalisés dans la galerie a une valeur indicative. La détermination exacte du titre peut être effectuée sur gélose (Gélose A7 Mycoplasma). [67]
- Les antibiotiques sont testés sur le prélèvement, sans tenir compte de la richesse de ce dernier en mycoplasmes. Il existe un effet inoculum qui s'observe plus particulièrement avec la tétracycline et la doxycycline.

Dans le cas de faibles titres, il peut y avoir une discordance entre la sensibilité réelle de la souche et le résultat donné par la galerie. [67]

- Un résultat négatif avec la plus faible concentration d'un antibiotique et positif avec la plus forte concentration est un non sens. Dans ce cas, refaire le test. [67]

Performances

Performances sur souches

- **Urée-Arginine LYO 2 (Mycoplasma R1 + Mycoplasma R2) :**

24 souches pures de mycoplasmesensemencées à 2 dilutions ainsi que 8 mélanges Ureaplasma spp. / M. hominis à 1 dilution ont été détectés positifs quelle que soit la dilution. [68]

Par ailleurs ,28 souches interférentes représentatives des différentes espèces pouvant être rencontrées dans le prélèvement uro-génitaux ont étéensemencées en bouillon mycoplasma R1 à raison de 200 µl/ flacon. [68]

Parmi ces 28 souches, seules 3 souches possédant une uréase ont entraîné un résultat faussement positif du bouillon Urée-Arginine LYO 2 (Mycoplasma R1 + Mycoplasma R2) à un inoculum > 10⁸ UFC/ ml. [68]

- **Galerie Mycoplasma IST 2 :**

Identification

8 souches pures de Mycoplasmes à 3 dilutions ainsi que 8 mélanges Ureaplasma spp. / M.hominis à 1 dilution ont été correctement identifiés avec la galerie Mycoplasma IST 2. [68]

Numération indicative

65 souches de mycoplasmes ont étéensemencées en dilution, d'une part sur gélose A7, d'autre part en galerie. L'étude a montré que le seuil de virage des cupules numération de la galerie (± 1 puissance de 10) a été concordant avec les numérations réalisées sur gélose pour 56 essais sur 65. [68]

Test de sensibilité

Les résultats obtenus sur des souches pures de mycoplasmes ont été les suivants :

	5 Uu à 3 dilutions (15 tests)	3 Mh à 3 dilutions (9 tests)
Doxycycline	15 s	7 s /2 l

Josamycine	15 s	9 s
Ofloxacin	8 S/7 l	5s /3 l / 1 R*
Erythromycine	15 s	9 R
Tétracycline	15s	6s /3 R
Ciprofloxacine	1 s / 8 l /6 R*	6s /3 l
Azithromycine	14 s / 1 l	9 R

- Les variations de sensibilité observées sont corrélées avec les niveaux de dilution de l'inoculum [68] **Tableau 12**

G. Evaluation externe

Une évaluation externe réalisée sur 98 échantillons (endocervicaux, urétraux et de sperme principalement) a permis d'obtenir les résultats suivants :

	Nombre d'échantillons	Résultats	
		Bouillon Arginine LYO 2	Urée- Galerie
Positifs Uu	39	39	35
Positifs Uu + Mh	7	7	6*
Négatif	52	52	52

*Pour le 7^{ème} mélange, seule la cupule des Uu a viré. [68]

H. Elimination des déchets

Les galeries non utilisé peuvent être éliminées comme déchets non dangereux.

Éliminer tous les réactifs utilisés ou les réactifs Mycoplasma R1 et R2 non utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux. [69]

Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon réglementations applicables. [69]

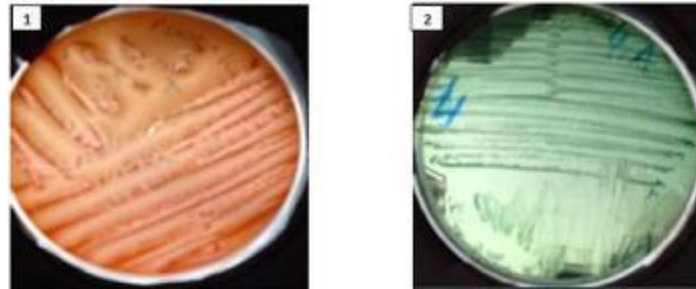


Figure 12: Mycoplasma dans un milieu de culture.

1.4.4. Résultats

Tableau13 : Données de spermogramme et spermoculture de 56 patients à la grande clinique mezdaouet de Khenchela.

Ref	Age	Date de prélèvement	Mobilité	Vitalité	Morphologie	Num Million/ml	/ml	V	Ch	Myc	Interprétation
1	29	10/02/2014	Mb80, Im20	80%	N80, An20	70mil/ml	20.10 ⁶	3,5	-	-	Sans particularité
2	37	10/02/2014	Mb50, Im50	50%	N40, An60	126mil/ml	31.10 ⁶	04	+	-	ANT
3	30	13/02/2014	Mb90, Im10	90%	N90, An10	117 mil/ml	47.10 ⁶	2,5	-	-	Sans particularité
4	32	13/02/2014	Mb50, Im50	50%	N50, An50	20 mil/ml	10.10 ⁶	02	+	-	ANT
5	32	13/02/2014	Mb20, Im80	20%	N20, An80	35 mil/ml	10.10 ⁶	1,5	+	+	ANT+ Leucospermie
6	37	13/02/2014	Mb20, Im80	20%	N20, An80	4,5 mil/ml	03.10 ⁶	1,5	+	+	OlgoANT+ Leucospermie
7	58	17/02/2014	Mb80, Im20	80%	N80, An20	240 mil/ml	80.10 ⁶	2,4	-	-	Sans particularité
8	32	17/02/2014	Mb80, Im20	80%	N80, An20	88 mil/ml	44.10 ⁶	02	-	-	Sans particularité
9	31	17/02/2014	Mb10, Im90	10%	N10, An90	14 mil/ml	04.10 ⁶	3,5	+	+	ANT+Oligospermie+Leucospermie
10	38	21/02/2014	Mb30, Im70	30%	N30, An70	156 mil/ml	62.10 ⁶	2,5	+	-	ANT sévère+Pyospermie
11	41	21/02/2014	Mb10, Im90	10%	N10, An90	60 mil/ml	12.10 ⁶	05	+	-	ANT sévère
12	34	21/02/2014	Mb20, Im80	20%	N20, An80	54 mil/ml	18.10 ⁶	03	-	+	ANT sévère+Pyospermie
13	33	25/02/2014	Mb10, Im90	10%	N40, An60	72 mil/ml	24.10 ⁶	03	+	-	ANT
14	30	25/02/2014	Mb30, Im70	30%	N30, An70	120 mil/ml	40.10 ⁶	03	+	+	ANT+Pyospermie
15	33	25/02/2014	Mb00,Im100	00%	N00,An100	1,6 mil/ml	36.10 ⁶	4,5	+	+	Oligo ANT sévère
16	23	28/02/2014	Mb80, Im20	80 %	N70, An30	66 mil/ml	11.10 ⁶	3,6	-	-	Sans particularité
17	28	28/02/2014	Mb10, Im 80	10%	N20, An80	09 mil/ml	09.10 ⁶	01	-	+	Oligo ANT
18	40	28/02/2014	Mb05, Im95	05%	N10, An90	136 mil/ml	46.10 ⁶	03	+	-	ANT
19	52	04/03/2014	Mb00,Im100	00%	N00,An100	800milles/ml	04.10 ⁶	0,5	+	+	OligoANT sévère+Hypospermie++
20	28	04/03/2014	Mb60, Im40	60%	N60, An40	97 mil/ml	39.10 ⁶	2,5	+	-	ANT modérée
21	32	04/03/2014	Mb85, Im15	80%	N80, An20	260 mil/ml	52.10 ⁶	05	-	-	Sans particularité
22	43	08/03/2014	Mb15, Im85	15%	N15, An85	56 mil/ml	28.10 ⁶	02	+	-	ANT+Leucospermie
23	33	08/03/2014	Mb30, Im70	30%	N30, An70	39 mil/ml	13.10 ⁶	03	+	-	ANT
24	36	08/03/2014	Mb90, Im10	90%	N80, An20	224 mil/ml	56.10 ⁶	04	-	-	Sans particularité
25	32	12/03/2014	Mb40, Im60	40%	N50, An50	135 mil/ml	54.10 ⁶	2,5	-	+	ANT
26	38	12/03/2014	Mb00,Im100	00%	N00,An100	80milles/ml	04.10 ⁶	02	+	-	Oligo ANT sévère
27	33	16/03/2014	Mb20, Im80	20%	N20, An80	82 mil/ml	55.10 ⁶	1,5	+	-	Hypospermie+ANT sévère
28	32	16/03/2014	Mb20, Im80	20%	N20, An80	38 mil/ml	15.10 ⁶	2,5	+	+	ANT+Leucospermie
29	33	16/03/2014	Mb30, Im70	30%	N30, An70	17 mil/ml	84.10 ⁶	2,5	+	+	OligoANT+Leucospermie
30	40	16/03/2014	Mb70, Im30	70%	N80, An20	120 mil/ml	80.10 ⁶	1,5	+	-	Asthenospermie modérée+Hypospermie+ Leucospermie
31	31	20/03/2014	Mb40, Im60	40%	N35, An65	120 mil/ml	48.10 ⁶	2,5	+	-	ANT+Pyospermie
32	45	20/03/2014	Mb05, Im95	05%	N10, An90	03 mil/ml	06.10 ⁶	0,5	+	+	OligoANT sévère+Leucospermie
33	31	20/03/2014	Mb70, Im30	70%	N70, An30	120 mil/ml	120.10 ⁶	01	+	+	Asthenospermie modérée+Pyospermie+ Hypospermie
34	41	24/03/2014	Mb15, Im85	15%	N30, An70	119 mil/ml	17.10 ⁶	07	+	-	ANT+Hyperspermie modérée
35	37	24/03/2014	Mb20, Im80	20%	N30, An70	12 mil/ml	12.10 ⁶	01	-	-	Hypo-oligo-ANT
36	50	24/03/2014	Mb90, Im10	90%	N75, An25	75 mil/ml	50.10 ⁶	1,5	+	-	Liquide laiteux et dense
37	28	27/03/2014	Mb20, Im80	30%	N30, An70	13 mil/ml	05.10 ⁶	2,5	+	-	Oligo-ANT+Liquide trop visqueux
38	40	27/03/2014	Mb85, Im15	85%	N70, An30	200 mil/ml	200.10 ⁶	01	+	-	ANT modérée+Hypospermie
39	42	31/03/2014	Mb10, Im90	10%	N20, An80	40 mil/ml	20.10 ⁶	02	+	-	Oligo-ANT+Liquide trop visqueux
40	36	31/03/2014	Mb10, Im90	10%	N20, An80	14 mil/ml	07.10 ⁶	02	+	-	Oligo-ANT+Pyospermie
41	31	31/03/2014	Mb50, Im50	50%	N50, An50	02 mil/ml	06.10 ⁶	02	+	-	Oligo-ANT -On note nombreux reste cytoplasmique qui interférer avec numération normal des spermatozoïdes
42	31	03/04/2014	Mb30, Im70	30%	N20, An80	51 mil/ml	17.10 ⁶	03	+	+	ANT+Leucospermie
43	39	03/04/2014	Mb05, Im95	05%	N00,An100	36 mil/ml	7,2.10 ⁶	05	+	-	ANT+Leucospermie
44	32	07/04/2014	Mb00,Im100	00%	N10, An90	102 milles	7,2.10 ⁶	1,5	+	+	ANT+Leucospermie+Hypospermie

Partie expérimentale

45	43	07/04/2014	Mb30, Im70	30%	N30, An70	44 mil/ml	44.10 ⁶	01	+	+	ANT+Pyospermie+Hypospermie
46	48	11/04/2014	Mb30, Im70	30%	N30, An70	80 mil/ml	80.10 ⁶	01	+	+	ANT+Pyospermie+Hypospermie
47	37	11/04/2014	Mb60, Im40	60%	N70, An30	24 mil/ml	12.10 ⁶	02	+	-	Asthenonecrospermie
48	31	15/04/2014	Mb05, Im95	05%	N00, An100	36 mil/ml	09.10 ⁶	04	+	-	ANT
49	35	15/04/2014	Mb30, Im70	30%	N30, An70	27 mil/ml	09.10 ⁶	03	+	-	ANT
50	36	19/04/2014	Mb35, Im65	40%	N40, An60	120 mil/ml	120.10 ⁶	02	+	-	ANT+Pyospermie
51	37	19/04/2014	Mb60, Im40	60%	N40, An60	60 mil/ml	20.10 ⁶	03	+	+	ANT+Leucospermie
52	34	22/04/2014	Mb90, Im10	90%	N90, An10	70 mil/ml	14.10 ⁶	0,5	-	-	Sans particularité
53	40	22/04/2014	Mb30, Im70	30%	N40, An60	93 mil/ml	20.10 ⁶	4,5	+	+	ANT+Leucospermie
54	30	25/04/2014	Mb90, Im10	90%	N85, An15	145 mil/ml	58.10 ⁶	2,5	-	-	Sans particularité
55	29	25/04/2014	Mb20, Im80	20%	N20, An80	33 mil/ml	33.10 ⁶	2,5	+	+	ANT+Leucospermie
56	36	25/04/2014	Mb20, Im80	20%	N20, An80	104 mil/ml	104.10 ⁶	04	+	-	Polyzoospermie+ANT sévère

Abréviations

[] : Concentration

An: anormal

ANT: astheno-necro-teratospermie

Ch : chlamydia

Im : immobile

Mb : mobile

Myco : mycoplasma

N : normal

V : volume

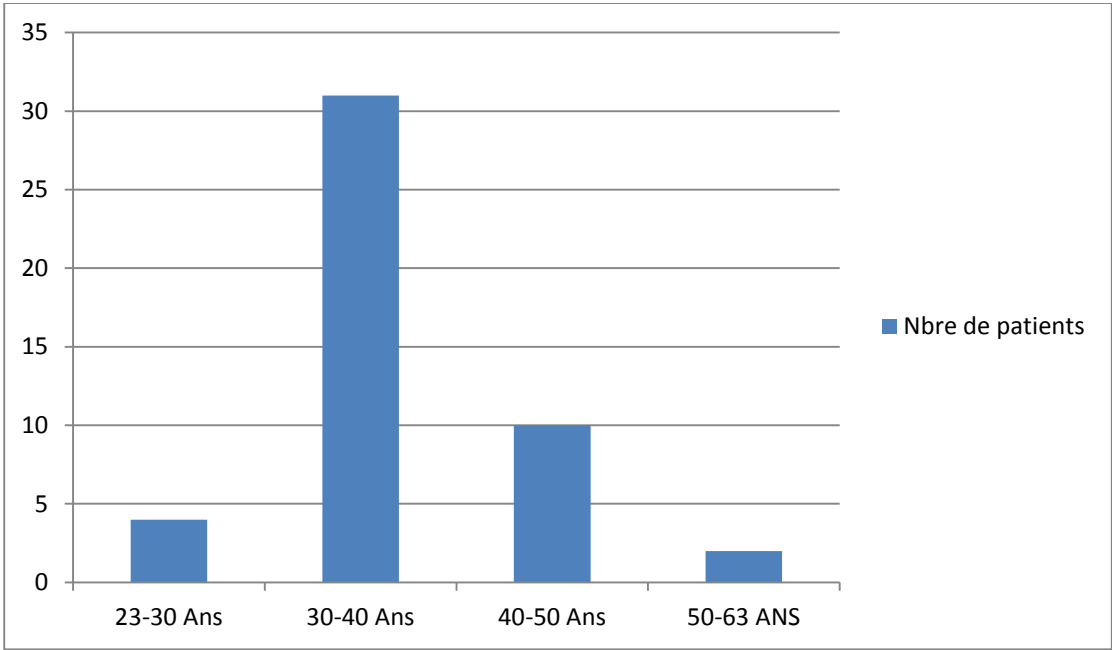


Figure 13: Répartition du Nombre de 56 malade selon l'âge

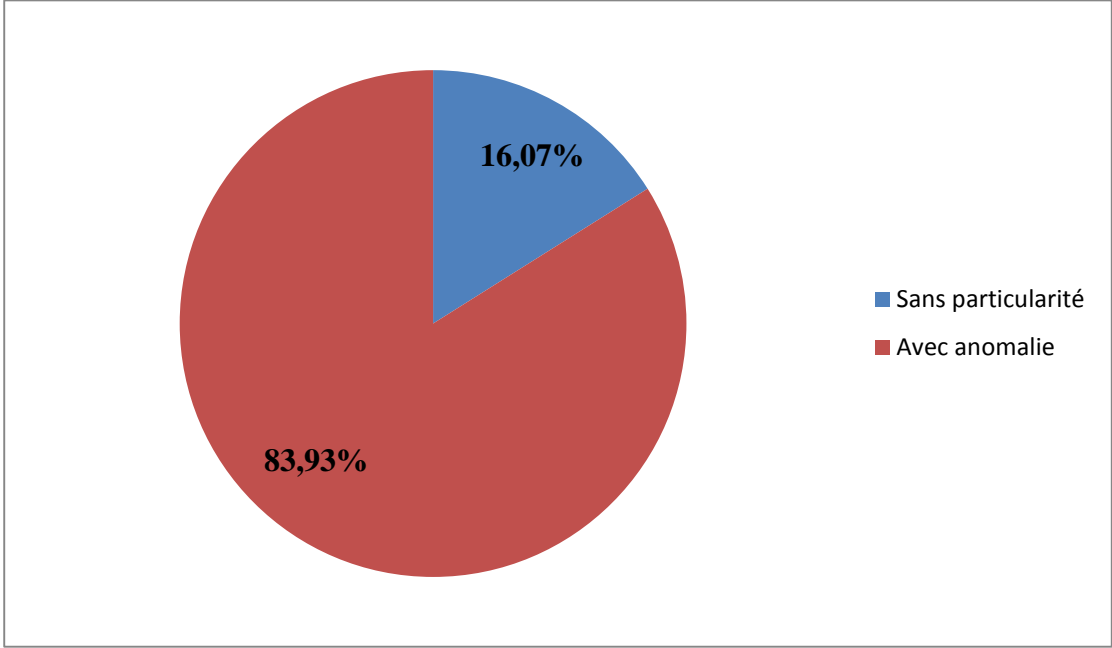


Figure 14: Répartition du nombre des 56 patients sans particularité et avec anomalie en 3 mois.

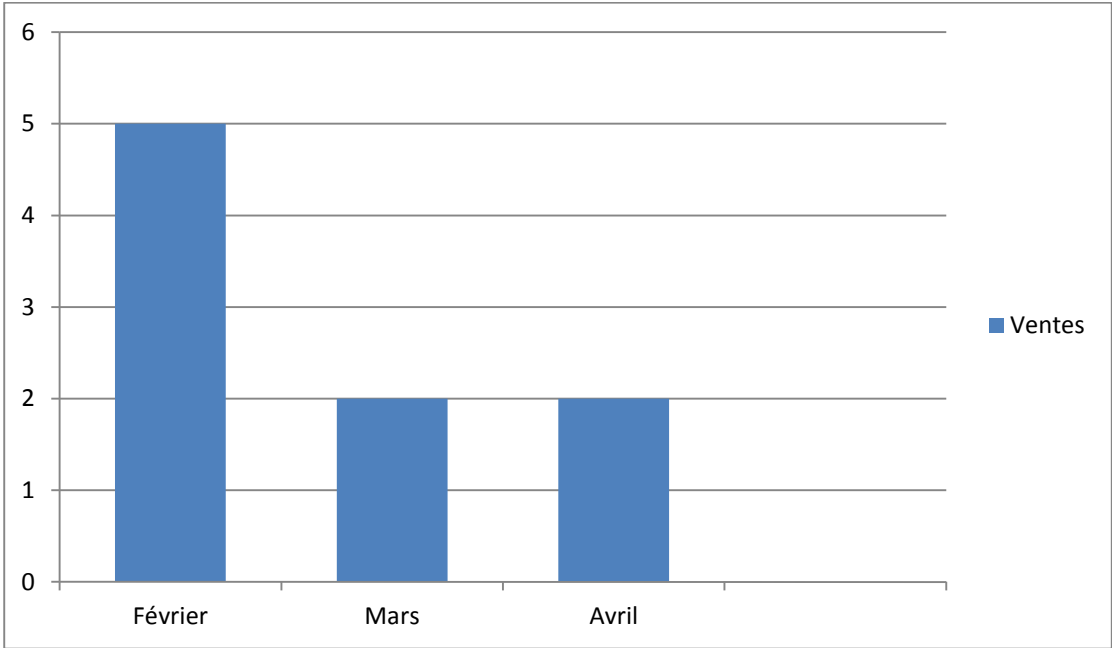


Figure 15: Répartition de nombre de 56 patients sans particularité selon le mois

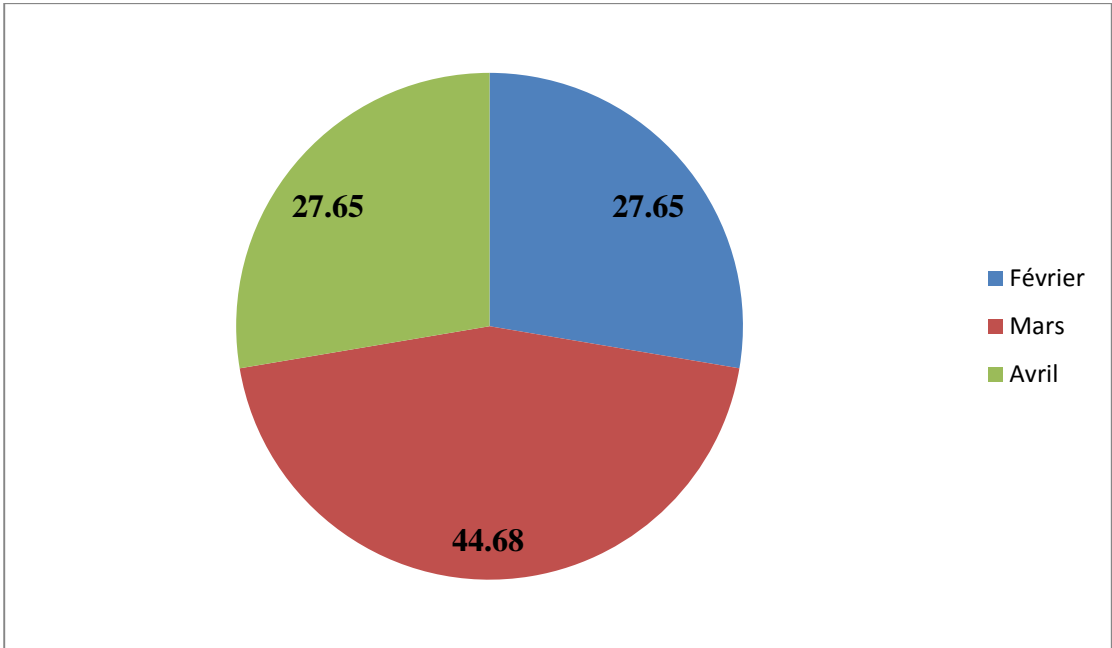


Figure 16: Répartition du nombre des 56 patients avec anomalie selon le mois

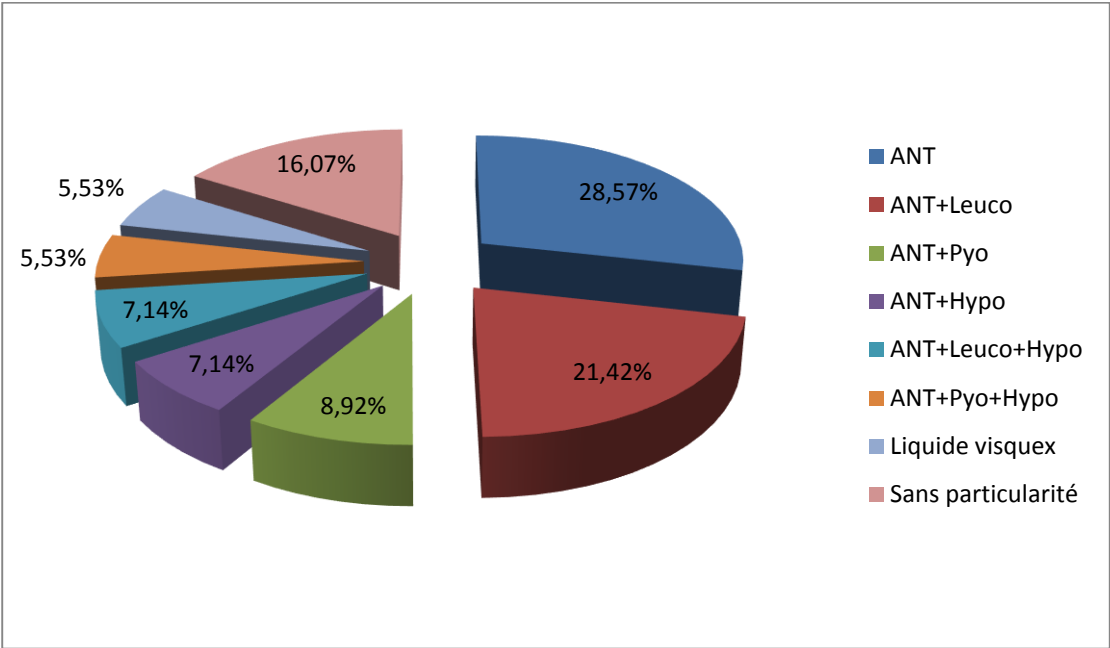


Figure 17: Répartition du nombre de 56 patients selon l’anomalie

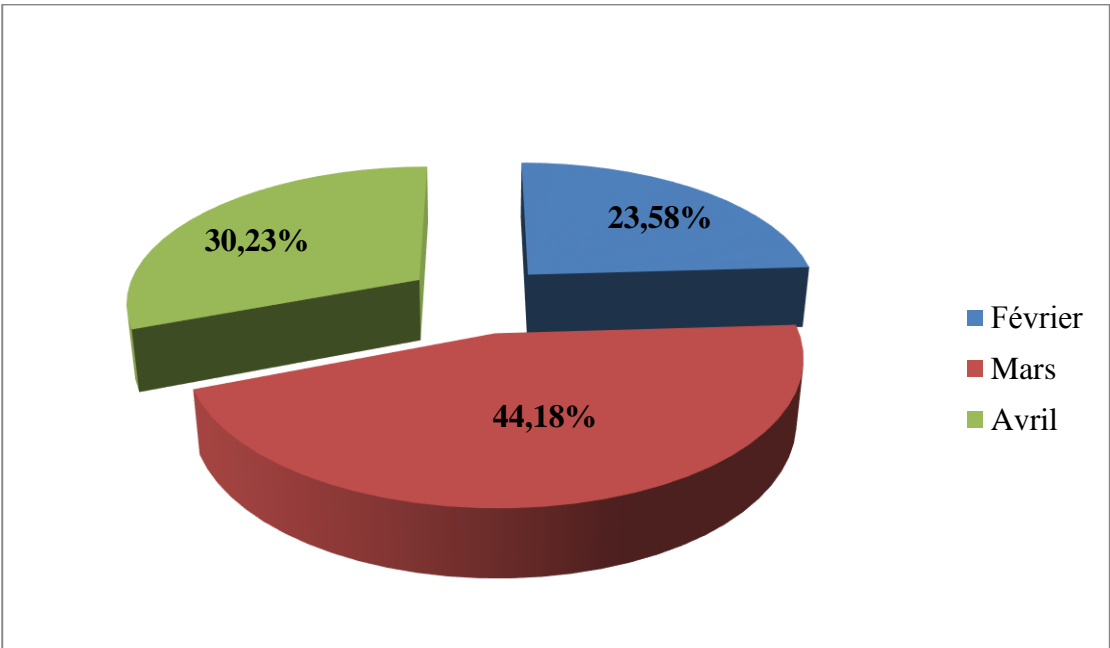


Figure 18: Répartition de nombre de 56 patients infecté par Chlamydiae selon le mois

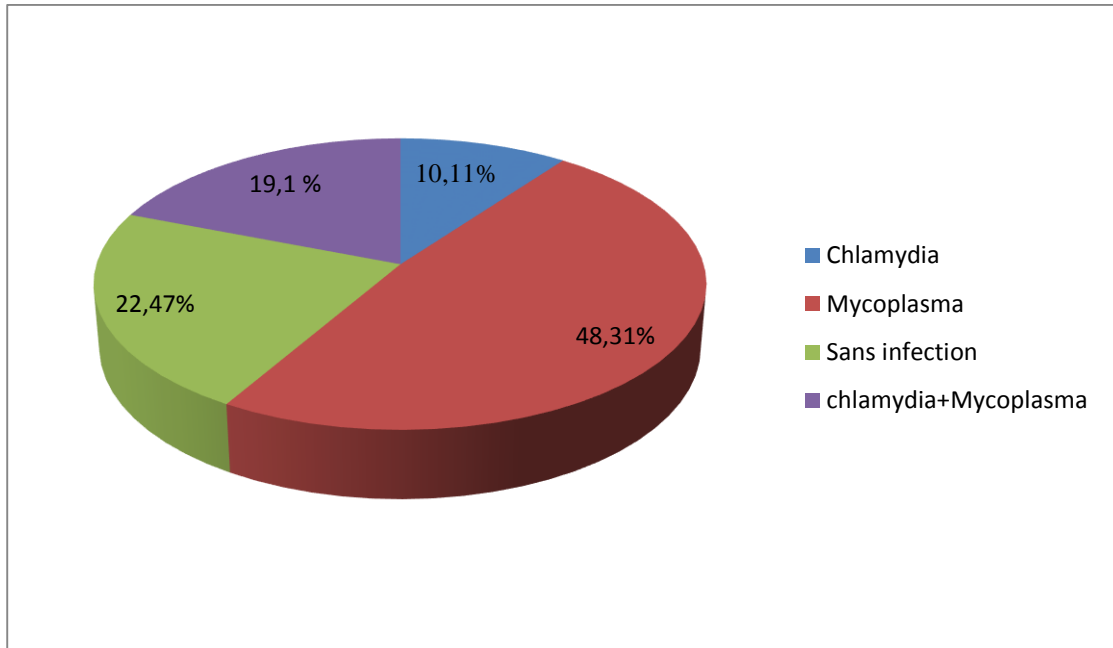


Figure 19: Répartition de nombre de 56 patients selon le spermoculture

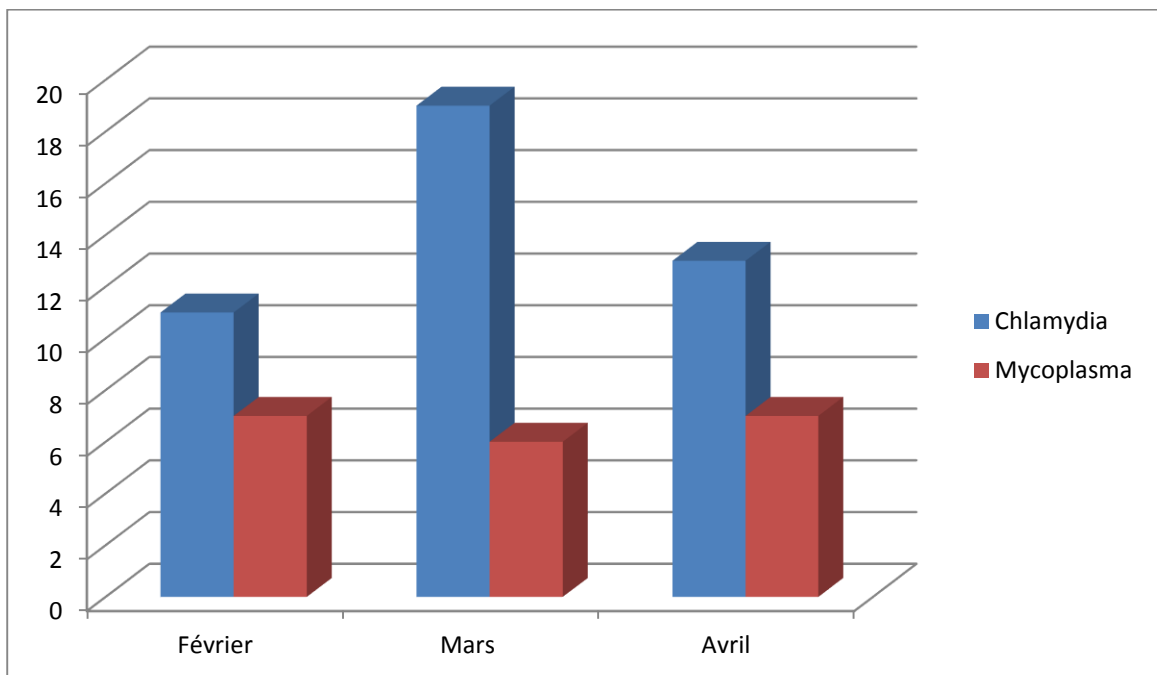


Figure 20: Répartition de nombre de 56 patients infecté par Chlamydia et Mycoplasma selon le mois

Discussion

Cette étude que nous avons menée à la Grande Clinique Mezdaouet à Khenchela nous a permis de se familiariser avec les techniques d'étude du spermogramme. Par ailleurs l'interprétation des résultats du spermogramme réalisée sur le 56 patients durant la période de notre stage entre février et avril 2014, nous a mené à conclure que L'infertilité masculine se définit par rapport aux valeurs du spermogramme normal. Cette infertilité peut avoir pour cause des anomalies du sperme ou des spermatozoïdes qui portent sur leur aspect, leur nombre, leur vitalité ou leur mobilité.

Parmi les 56 cas traité au laboratoire Grande clinique Mezdaout a khenchela entre février et avril 2014, nous avons remarqué que le nombre de patients âgés entre 30-40 ans est le plus élevé suivi de ceux âgés entre 40-50 ans, puis de 23-30 ans et le nombre de ceux âgé entre 50-63 ans est moins élevé (Figure)

Nous avons aussi remarqué que parmi les 56 patients, 16,07 % sont sans particularité avec un nombre élevé en février par rapport en mars et avril qui est égal, par contre 83,93 % sont avec anomalies avec un nombre élevé en mars suivi de celui en février puis en avril. (Figure 15).

Les types des anomalies rencontrés chez les 56 patients, sont ordonnés comme suivant : ANT (28,57%), ANT+Leucospermie (21,42%), sans particularité (16,07%), ANT+Pyospermie et ANT+Hypospermie+Leucospermie (7,14%), ANT+ Pyospermie + Hypospermie Liquide visqueux (5,53%). (Figure 12).

La spermoculture nous a montré que parmi les 56 patients, (10,11%) sont infectés par Chlamydia et l'infection par cette dernière et la plus répandue en mars (44,18%) puis en avril (30,23%) et enfin (23,58%) en février. Les patients infectés par Mycoplasma sont (48,31%), et nous avons aussi remarqué que l'infection par cette dernière est sans différence selon le mois. Les patients présentant les deux infections par chlamydia et Mycoplasma sont (19,1%) et évidemment (22,47%) (Figure 19) sont sans aucune infection. (Figure 18, Figure 19). L'explication de cette différence en infection peut être liée à l'environnement à l'état de santé.

Néanmoins, on ne peut pas conclure à une baisse de la fertilité masculine sur un seul spermogramme, car il existe des fluctuations spontanées de la spermatogenèse, qui est par ailleurs hypersensible à de nombreuses atteintes passagères (infections, baisse de

l'état général, problèmes psychologiques, etc.) qui peuvent passer inaperçues; c'est pourquoi il est nécessaire, avant de conclure, de pratiquer deux à trois spermogrammes en moyenne, à un bon mois d'intervalle, et réalisés par le même technicien.

Le diagnostic d'anomalies du spermogramme ne peut être porté que lorsque l'anomalie observée lors de l'analyse a été confirmée par au moins trois spermogrammes successifs, espacés de quelques semaines et faits dans de bonnes conditions. Par contre, d'autres renseignements sont importants [85].

- Existence d'une pyospermie (présence de pus dans le sperme), sous forme de leucocytes altérés. La pratique d'une spermoculture est alors indispensable pour mettre en évidence un germe et étudier sa sensibilité aux antibiotiques.
- Différenciation entre spermatozoïdes immobiles et spermatozoïdes morts,
- Dépistage d'une anomalie immunologique par dosage des auto-anticorps anti-spermatozoïdes, dans le liquide séminal, et au niveau des spermatozoïdes eux-mêmes. Il faut apprécier :
 - Les caractères physiques du sperme : quantité de l'éjaculat (Hypospermie: volume inférieur à 2 ml, Hyperspermie: volume supérieur à 6 ml), aspect et odeur, viscosité et liquéfaction (hyper-viscosité);
 - La concentration en spermatozoïdes, qui doit être supérieure à 20 000 par mm³; au-dessous de cette concentration, on parle d'oligospermie. Azoospermie : Pas de spermatozoïdes dans le sperme.
 - La mobilité : il semble que la mobilité soit le facteur le plus déterminant du pouvoir fécondant du sperme. On commence à parler d'asthénospermie au-dessous de 50 % après 1 heure ou moins de 30 % après 3 heures.
 - Le pourcentage des formes mortes : on parle de nécrospermie lorsque ce taux dépasse 30 %;
 - Le pourcentage des formes anormales sur un frottis, en s'attachant à caractériser avec précision les anomalies rencontrées ; au moins 50 % des spermatozoïdes doivent être normalement conformés; dans le cas contraire, on parle de tératospermie.

Bien sûr, ces anomalies peuvent coexister et on peut donc rencontrer une oligoasthénospermie par exemple. Néanmoins, certaines investigations ont un intérêt discuté: mesure du pH, mesure de la vitalité des spermatozoïdes dans le temps, dosage des différents constituants du liquide séminal.

Nous avons aussi réalisé des spermocultures (recherche de germes banaux) et de germes intracellulaires (Chlamydia et Mycoplasme) afin de détecter des infections possibles en cause et que nous a pu manipuler en domaine de microbiologie.

Cette étude nous a également montrée que d'autres analyses sont très importants pour diagnostiquer une infertilité masculine chez un patient et que malheureusement ne sont pas réalisées à Khenchela tels que les dosages biochimiques de certaines substances chimiques qui se trouvent normalement dans le sperme et qui sont sécrétées par les différents organes internes de l'appareil génital mâle, par exemple : zinc, citrate (ou acide citrique) et les phosphatases acides qui sont sécrétés par la prostate. Le fructose séminal, sécrété par la vésicule séminale, le L-carnitine, seminal neutral glucosidase, sécrétés par l'épididyme et AMH ou anti-Mullerian Hormon. Les dosages hormonaux qui peuvent être demandés en cas d'oligospermie sévère et d'azoospermie, les dosages plus utiles ce sont les dosages de la FSH et la testostérone parce qu'ils sont nécessaires pour déterminer l'origine d'une oligozoospermie et une azoospermie. L'étude de caryotype qui doit être réalisée devant une azoospermie sécrétoire et une oligospermie sécrétoire sévère (< 5 millions spermatozoïdes/ml) et La recherche des anomalies génétiques de la mucoviscidose (anomalies du gène CFRT) sont recherchées obligatoirement en cas d'azoospermie excrétoire due à des anomalies congénitales des canaux déférents et des canaux éjaculateurs, car la présence des mutations de la mucoviscidose impose de rechercher la présence de ces mutations chez le partenaire féminin. Des tests permettant la mise en évidence des auto-anticorps dans le sperme et qui entraînent des altérations dans la mobilité des spermatozoïdes (agglutinations spontanées des spermatozoïdes dans le sperme ou un abaissement de leur mobilité) et Le dosage des anticorps anti spermatozoïdes dans le plasma séminal et la circulation sanguine.

Conclusion

Cette étude, nous a conduits à conclure que le diagnostic de l'infertilité masculine à la Grande clinique Mezdaouet à khenchela est estimé selon les normes internationales de l'OMS par l'étude des spermogrammes et des sperocultures. Il est à noter que les diagnostics de l'infertilité masculine sont en totalité réalisés au niveau de cette clinique ce que nous conduit à dire que notre étude est d'une information et approche de l'infertilité masculine à khenchela. Néanmoins, nous avons remarqué que d'autres tests importants développés dans la discussion se sont pas pratiqués à Khenchela et qui sont nécessaires pour mettre en causes tous les facteurs limitant cette infertilité masculine, à titre d'exemple : les dosages hormonaux et biochimiques, les tests immunologiques et génétiques pour mieux orienter les solutions thérapeutiques possibles, car à notre connaissance, à Khenchela le traitement de l'infertilité masculine est inscrite par le médecin généralement pour une antibiothérapie plus d'autres médicaments qui vont avec l'état de santé du patient concerné ou bien il est orienté à d'autres diagnostics qui seront envisagé par lui même .

Actuellement, il existe des techniques utilisant le sperme et les spermatozoïdes dans le cadre de la procréation médicalement assistée (PMA) : **[84]**.

- Les inséminations artificielles (IA) :
 - o Les inséminations artificielles peuvent être réalisées :
 - soit avec le sperme préparé du conjoint (IAC) ;
 - soit avec le sperme préparé d'un donneur (IAD).
 - o Elles peuvent être :
 - soit des inséminations artificielles cervicale (IIC) c'est-à-dire au niveau du col utérin ;
 - soit des inséminations artificielles intra-utérines (IIU).
 - o Elles peuvent être réalisées :
 - soit lors d'un cycle ovulatoire naturel ;
 - soit après stimulation ovarienne ;
- Les fécondations in vitro (FIV) qui peut être :
 - soit des fécondations in vitro conventionnelles (FIV) par l'insémination des ovocytes in vitro, par les spermatozoïdes préparés du conjoint ou d'un donneur.

- soit la fécondation in vitro avec injection directe d'un spermatozoïde dans l'ovocyte (FIV) avec micromanipulation ou(ICSI) ; donc il s'agit d'une fusion d'un gamète mâle et d'un gamète féminin obtenu artificiellement.

- [1]-J. Schlosser, I. Nakib, F. Carré-Pigeon, F. Staerman., (2006). EMC Infertilité masculine: définition et physiopathologie. Urologie.
- [2]-Mauvais-Javis P., (1986). Médecine de la reproduction masculine. 2ème ed. Edition: Flammarion.
- [3]-JP Bailleul, B. Mauroy., (1991). Anatomie du testicule, des voies spermatiques et des bourses. EMC Urologie 18-600-A-10.
- [4]-E. Blanc, P. Meria, O. Cussenot., (1998). Anatomie chirurgicale des organes génitaux masculins externes. EMC Techniques chirurgicales – Urologie, 41-390.
- [5]-Empereire JC., (1995). Le praticien devant un couple stérile. Gynécologie Endocrinienne du Praticien. Bases Thérapeutiques et conduite pratique. 5ème édition refondue corrigée et augmentée. Editions Frison Roche, Paris: 90-104.
- [6]-Phillip E. Patton, MD and David E. Battaglia, Ph., (2005). Office andrology. Humana Press Inc.309:11-37.
- [7]-Boudry P., (2000). Mycoplasmes urogénitaux. Implications en pathologie humaine. Rev Assoc bel Technol Lab; 27 : 14-31.
- [8]-Blanc B. et Porcu G., (2002). Stérilité. Collection stratégie diagnostique et thérapeutique en gynécologie. Editions : Arnette. 19 p-462p.
- [9]-Kelton Tremellen., (2008). Oxidative stress and male infertility a clinical perspective. Human Reproduction Update, Vol.14, No.3 pp. 243–258.
- [10]-Hargreave TB., (1993). Male accessory gland infection. Andrology in the Nineties Review lecture; 4: 21-24.
- [11]-Lemmens G et al., (2004). Coping with Infertility: a Body-Mind Group Intervention Programme for Infertile Couples. Human Reproduction, 19(8):1917-1923.
- [12]-Robin G, et al., (2010). Bilan d'une azoospermie et evaluation histologique de la spermatogenèse. Annales de pathologie (2010), doi: 10.1016/j.annapat..03.015.
- [13]-Poongothai, J. (T. S. Gopenath, et al., (2009). "Genetics of human male infertility." Singapore Med J 50(4): 336-47.
- [14]-Darszon, A. P. Labarca, et al., (1999). Ion channels in sperm physiology. Physiol Rev 79(2): 481-510.
- [15]-Deslypere JP, Vermeulen A. (1999) : Leydig cell function in normal men: effect of age, lifestyle, residence, diet, and activity. J Clin Endocrinol Metabol; 59:955-62.

- [16]-Manjunath, P. And I. Therien., (2002). "Role of seminal plasma phospholipid-binding proteins in sperm membrane lipid modification that occurs during capacitation" *J Reprod Immunol* 53(1-2): 109-19
- [17]-Lindemann, C. B, et al. and K. S. Kanous., (1989). "Regulation of mammalian sperm motility." *Arch Androl* 23(1): 1-22.
- [18]-Rougerie G, Vidal R., (1979). La stérilité. Problème majeur en consultation gynécologique. Etude à propos de 7412 cas. Premières Journées Médicales du Gabon. *Med Afr Noire*
- [19]-Jian Pei Ph., (2005). Quantitative Evaluation of Spermatozoa Ultrastructure after Acupuncture Treatment for Idiopathic Male Infertility. *Fertility and Sterility*, 84(1):141-147.
- [20]-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.
- [21]-Wassarman, P. M., (1990). "Profile of a mammalian sperm receptor." *Development* 108(1): 1-17.
- [22]-Matzuk, M. M. and D. J. Lamb., (2008). The biology of infertility: research advances and clinical challenges." *Nat Med* 14(11): 1197-213.
- [23]-Auger J, Jouannet P., (2005). Age and male fertility: biological factors. *Rev Epidemiol Sante Publique*; 53:2S25-2S35.
- [24]-Flesch, F. M., E. Wijnand, et al., (2001). "Capacitation dependent activation of tyrosine phosphorylation generates two sperm head plasma membrane proteins with high primary binding affinity for the zona pellucida." *Mol Reprod Dev* 60(1): 107-15.
- [25]-Merviel P., (2003). Infertility of Couples. The First Consultation Approach. *Revue Praticien*, 53(4):429-35.
- [26]-Baldi, E., M. Luconi, et al., (2000). Intracellular events and signaling pathways involved in sperm acquisition of fertilizing capacity and acrosome reaction. *Front Biosci* 5: E110- 23.
- [27]-Bleil, J. D. and P. M. Wassarman.,(1980). Mammalian sperm-egg interaction: identification of a glycoprotein in mouse egg zonae pellucidae possessing receptor activity for sperm." *Cell* 20(3): 873-82.
- [28]-Jameson, R. M., (1981). "Clinical aspects of infections associated with male infertility: a review." *J R Soc Med* 74(5): 371-3.

- [29]-Millet D., (1981). L'alcalinisation cervico-vaginale dans le traitement de la stérilité du couple. *Gynecologie*; 32 : 355-358.
- [30]-Kidd SA, Eskenazi B, Wyrobek AJ., (2001). Effects of male age on semen quality and fertility: a review of the literature. *Fertil Steril*; 75:237-48.
- [31]-Rives N, Milazzo JP, Vaudreuil L, Macé B., (2005). Congélation du tissu germinal chez le garçon. *EMC Gynécologie Obstétrique et Fertilité*;33:615-619.
- [32]-Thonneau P. et Bujan L., (1993). Epidémiologie de l'infécondité masculine. *Rev. Prat.* (43) 8 : 936 – 940.
- [33]-Auger J, Jouannet P., (1993). Analyse du sperme et de l'interaction des spermatozoïdes avec le mucus cervical. *Manuel de Laboratoire de l'OMS*. Editions INSERM; Traduction.
- [34]-Gnoth C., (2005). Definition and Prevalence of Subfertility and Infertility. *Human Reproduction*,20 (5):1144-1147.
- [35]-Yanagimachi, R., (1994). "Fertility of mammalian spermatozoa: its development and relativity." *Zygote* 2(4): 371-2.
- [36]-Spira A., (1986). Epidemiology of Human Reproduction. *Human Reproduction*, 1:11-115.
- [37]-Thonneau P, Marchand S, Tallec A, Ferial ML, Ducot B, Lansac J, et al., (1988-1989). Incidence and main causes of infertility in a resident population (1,850,000) of three French regions *Hum Reprod* 1991;6:811—6.
- [38]-Mbadinga-Mupangu KN, Silou M, Binimbi M., (1993). Considerations on the spermogram and spermocytogram of Congolese diabetes. *Andrology in the Nineties*; 4 : 21-24.
- [39]-Souza CA, Cunha Filho JS, Santos D, Gratão AA, Filippon L, Tedesco C, Freitas F., (1997). sperm retrieval by percutaneous fine needle sperm aspiration compared with testicular sperm extraction by open biopsy in men with non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod*;12:1488-93.
- [40]-Kolettis P., (2003). Evaluation of the Subfertile Man. *American Family Physician*, 67:10.
- [41]-Pinatel M C., (1985). Spermogramme: technique de réalisation . *Ann.Biol.Clin* (43): 49 – 53.
- [42]-Deutscher M. P., (1990). Guide to protein purification. *Methods in enzymology*. N° 182 .Edition: Academic Press. USA
- [43]-Soufir J-C., (1983). Exploration biochimique du sperme humain. *Rev Prat.* (33) 57: 3141 –3147.

- [44]-Jezek D, Knuth UA, Schulze W., (1998). Successful testicular sperm extraction (TESE) in spite of high serum follicle stimulating hormone and azoospermia: correlation between testicular morphology, TESE results, semen analysis and serum hormone values in 103 infertile men. *Hum Reprod.* May; 13(5): 1230-4.
- [45]-Collodel, G. S. Capitani, et al., (2009)."Semen Quality of Male Idiopathic Infertile Smokers and Nonsmokers: An Ultrastructural Study." *J Androl.*
- [46]-Tardieu JC, Cribier B, Mezrahi P, Le Faou A., (1994). Urétrite masculine et fertilité in *Progrès en Andrologie* 5. La voie séminale et ses glandes; Chap 11 : 123-130.
- [47]-Wagner L., (2004). Androgènes, vieillissement masculin et fertilité. *Progrès en urologie* 14 5 :769 776.
- [48]-Passos EP., (2003). Follicle stimulating hormone as predictor of mobile spermatozoa in testicular biopsy of azoospermic patients. *Rev Assoc Med Bras.* 2003 Apr-Jun;49(2):167-72.
- [49]-Marcus ZH, Ejanashvili N, Meidan Y, Lewin L., (1993). Detection of infection in the genital tract. *Andrology in the Nineties*; 4: 21-24.
- [50]-Grimes, D. A. and L. M. Lopez., (2007). "Oligozoospermia," "azoospermia," and other semen-analysis terminology: the need for better science." *Fertil Steril* 88(6): 1491-4.
- [51]-De la Calle JFV, Rachou E, le Martelat MT, Ducot B, Multigner L, Thonneau PF., (2001). Male infertility risk factors in a French military population. *Hum Reprod*; 16: 481-486.
- [52]-Dor J, Homburg R, Rabau E., (1977). An evaluation of etiologic factors and therapy in 665 infertile couples. *Fertil Steril*; 28 : 718-722.
- [53]-Grimes, D. A. and L. M. Lopez., (2007). "Oligozoospermia," "azoospermia," and other semen-analysis terminology: the need for better science." *Fertil Steril* 88(6): 1491-4.
- [54]-Imade GE, Towobola OA, Otubu JAM, Sagay AS., (1993). Medico-social factors associated with male infertility. *Andrology in the Nineties*; 4: 21-24.
- [55]-Esposito, G. B. S. Jaiswal, et al. (2004). "Mice deficient for soluble adenylyl cyclase are infertile because of a severe sperm-motility defect." *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(9).
- [56]-Ren, D. B. Navarro, et al., (2001). "A sperm ion channel required for sperm motility and male fertility." *Nature* 413(6856): 603-9.

- [57]-Jung A. et Schuppe H.C., (2007). Influence of Genital heat stress on semen quality in humans *Andrologia* 39, 203–215.
- [58]-Bauriaud R., Seror C., Lareng M.B. et al. – sensibilité *in vitro* aux antibiotiques des mycoplasmes génitaux isolés à Toulouse. Etude de nouvelles molécules (macrolides et quinolones) – *Path. Biol.*, 1992,40, 479-482.
- [59]-Bebear C., Bebear C.M. – Infection humaines à mycoplasmes – *Rev. Fr. Lab.*, 2007, 391, 63-69.
- [60]-Bebear C.M., de Barbeyrac B., Pereyre S., Bebear C – Mycoplasmes et chlamydiae : sensibilité et résistance aux antibiotiques – *Rev. Fr. Lab.*, 2007, 391, 77-85.
- [61]-Bebear C., DE Barbeyrac B., Bernet C. et al. – Méthodes d'exploration des infections à mycoplasmes – *Ann. Biol. Clin.*, 1989, 47, 415-420.
- [62]-Bebear C., DE Barbeyrac B., Dewilde A. et al. – Etude multicentrique de la sensibilité *in vitro* des mycoplasmes génitaux aux antibiotiques – *Path. Biol.*, 1993.41, 4, 289-293.
- [63]- Bebear C., Renaudin H., Maugein J. et al. – Pristinamycin and human mycoplasmas: *in vitro* activity compared with macrolides and lincosamides, *in vitro* efficacy in *Mycoplasma pneumoniae* experimental infection – *Zbi-Bakt.*, 1990, 20, 77-82.
- [64]-Kenny G.E., Cartwright F.D. – Susceptibilities of *Mycoplasma hominis*, *M. pneumoniae*, and *Ureaplasma ureaticulum* to GAR-936, Dalbapristin, Dirithromycin, Evernimicin, Gatifloxacin, Linezolid, Moxifloxacin, Quinupristin-Dalbapristin, and Telithromycin Compared to their susceptibilities to reference macrolides, Tetracyclines, and Quinolones – *Antimicrob. Agent Chemother.* 2001, 45 (9), 2604-2608
- [65]-Kenny G.E., Cartwright F.D. – Effect of pH, inoculum size, and incubation Time on the Susceptibility of *Ureaplasma ureaticulum* to Erythromycin *in vitro* – *Clin. Infect. Dis.*, 1993, 17, Suppl. 1, 215-218
- [66]-Renaudin H., Bebear C. – Comparative *in vitro* activity of Azithromycin, Clarithromycin, Erythromycin and Lomefloxacin against *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma ureaticulum* – *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 1990, 9, 838-841.
- [67]-Taylor-Robinson D., Bebear C. – Antibiotic susceptibilities of mycoplasmas and treatment of mycoplasmal infections – *J. Antimicrob. Chemother.*, 1997, 40, 622-630.
- [68]-Ullmann U., Schubert S, Krause S. – Comparative *in vitro* activity of levofloxacin, other fluoroquinolones, doxycycline and erythromycin against

Ureaplasma ureaticulum and *Mycoplasma hominis*. J. Antimicrob. Chemother., 1999,43, Cuppl. C, 33-36.

[69]-Waites K.B., Bebear C.M., Robertson J.A., Talkington D.F., Kenny G.E. – Cumitech 34: Laboratory diagnosis of mycoplasmal infections – Ed American Society for Microbiology, 2001, 1-30.

[70]- F. Olivennes, A. Hazout, R. Frydman, Masson, « Assistance médicale à la procréation », Paris, 3^o édition, p. 39.

[71]- The epidemiology of infertility. Report of a WHO Scientific Group. Geneva, World Health Organization, 1975 (WHO Technical Report Series, No. 582).

[72]- Rowe PJ et al. WHO manual for the standardized investigation and diagnosis of the infertile couple. Cambridge, MA, Cambridge University Press, 1993.

[73]-Schacter, J. and Dawson, C.R. (1978) Human Chlamydia infection. PSG Publishing Company, Littleton, MA.

[74]-Stamm, W.E. (1999) *Chlamydia trachomatis* infections: progress and problems. *J infects Dis*179: s380-383.

[75]-Schachter, J. (1978) Chlamydial infections,parts 1-3. *N Engl J Med* 298: 428-435, 490-495, 540-549.

[76]-CDC (1985) *Chlamydial trachomatis* infections: Policy guidelines for prevention and Control. U.S. Department of Health and Human Services, public Health Services, Centers for Disease Control, Center for Prevention Services, Division of sexually Transmitted Disease, Atlanta.

[77]-Thomson, S.F. (1983) Epidemiology of sexually Transmitted *Chlamydia trachomatis* infections. *Epidem Rev* 5: 96-123.

[78]-Koskela, P., Anttila, T., Bjorge, T. et al. (2000) *Chlamydia trachomatis* infection as a risk factor for invasive cervical cancer. *Int J Cancer* 85: 35-39.

[79]-Washington, A.F. (1982) Update on treatment recommendations for gonococcal infections. *Rev infects Dis* 4 (suppl): S758-S771.

[80]-Hay, P. (1998) Chlamydial infection: who is at risk? *Practitioner* 242: 704-710.

[81]-Black, C.M. (1997) Current methods of laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections. *Clin Microbiol Rev* 10: 160-184.

[82]-Paavonen J., Eggert-kurse W. : Chlamydia trachomatis: impact on human reproduction. *Hum. Reprod.*, 1999 ; 5 : 433-447

[83]-Krieger JN, Riley DE, Roberts MC, et al. Prokaryotic DNA sequences in patients with chronic idiopathic prostitutes. *J Clin Microbiol*1996;34:3120–8.

[84] Human Developmental Genetics, Institute Pasteur, 75724 Paris, France - See more at: <http://www.pasteur.fr/fr/institut-pasteur/presse/documents-presse/infertilite-masculine-la-genetique-en-cause#sthash.1E1V8gfS.dpuf>

[85] Michel Briex. 2011, 15 Février. Forums, Gynweb.

Infertilité masculine,

Causes, Spermogramme et Spermoculture, chez des patients à Khenchela

Résumé

la réalisation d'un spermogramme, est l'un des premiers examens de l'exploration de la fertilité du couple. Cette étude montre les causes de l'infertilité masculine. Nous avons étudié les anomalies du spermogramme réalisées sur 57 patients âgés de 23 à 63 ans durant une période de 03 mois entre février et avril 2014 au laboratoire d'exploration biologique de la Grande Clinique Mezdaouet à Khenchela. Des spermogrammes et des spermocultures recherchant les germes Chlamydia et Mycoplasma en causes ont été analysés. Des répartitions de ces patients selon l'âge, le type d'anomalies et d'infection par Chlamydia ou Mycoplasma ont été conduites selon les mois de notre étude.

Nous avons remarqué que des tests importants ne sont pas effectués tels que les dosages hormonaux, Immunologiques ainsi que génétiques pour confirmer les causes exactes d'une infertilité et par conséquent programmer une solution définitive et efficace.

Mots clés : Infertilité, spermogramme, spermoculture, causes d'infertilité.

Abstract

Producing a semen analysis is one of the first examinations of the exploration of the fertility of the couple. This study shows the causes of male infertility. We studied the semen abnormalities performed on 57 patients aged 23 to 63 years during a period of 03 months between February and April 2014 at the biological exploration of the Great Mezdaouet Clinical laboratory Khenchela. Of spermogrammes and spermocultures seeking germs Chlamydia and Mycoplasma in cases were analyzed. Distributions of ages, types of abnormalities and infection by Chlamydia or Mycoplasma were conducted in months of our study.

We noticed significant tests are not carried out such as hormonal, genetic and Immunological assays to confirm the exact causes of infertility and therefore set a final and effective solution.

Keywords: Infertility, Spermogramme, Spermoculture, causes of infertility.

اللاخصوبة عند الرجال الاسباب تحاليل السائل المنوي (سبارموغرام) وزراعات الكشف للسائل المنوي عند مرضى
بخنشة

ملخص

تحليل السائل المنوي هو من بين التحاليل الأولى للكشف عن خصوبة الزوجين. هذه الدراسة تبين أسباب اللاخصوبة عند الرجال. لقد تمت دراسة تشوهات السائل المنوي لدى 57 مريضا تتراوح أعمارهم بين 23-63 عاما لمدة 03 اشهر بين فيفري وأفريل 2014 في مختبر الاستكشاف البيولوجي العيادة الكبرى مزداوت بخنشة. تحاليل السائل المنوي (سبارموغرام) وزراعات الكشف للسائل المنوي عن بكتيريا الكلاميديا والميكوبلازما المتسببة تم تحقيقها. لاحظنا ان اختبارات هامة مثل الفحوصات الهرمونية والجينية والمناعية لتأكيد الاسباب الحقيقية للعقم لا يتم اجرائها وبالتالي برمجة حل نهائي وفعال.

مفتاح الكلمات : اللاخصوبة, تحاليل السائل المنوي (سبارموغرام) , زراعات الكشف للسائل المنوي , اسباب اللاخصوبة

Nom : Bouhlala Prénom : Youcef	Date de soutenance : 25/06/2014
Master Académique	
Infertilité masculine, Causes, Spermogramme et Spermoculture chez des patients à Khenchela	
<p>Résumé</p> <p>la réalisation d'un spermogramme, est l'un des premiers examens de l'exploration de la fertilité du couple. Cette étude montre les causes de l'infertilité masculine. Nous avons étudié les anomalies du spermogramme réalisées sur 57 patients âgés de 23 à 63 ans durant une période de 03 mois entre février et avril 2014 au laboratoire d'exploration biologique de la Grande Clinique Mezdaouet à Khenchela. Des spermogrammes et des spermocultures recherchant les germes Clamydia et Mycoplasma en causes ont été analysés. Des répartitions de ces patients selon l'âge, le type d'anomalies et d'infection par Chlamydia ou Mycoplasma ont été conduites selon les mois de notre étude.</p> <p>Nous avons remarqué que des tests importants ne sont pas effectués tels que les dosages hormonaux, Immunologiques ainsi que génétiques pour confirmer les causes exactes d'une infertilité et par conséquent programmer une solution définitive et efficace.</p>	
Mots clés : Infertilité, spermogramme, spermoculture, causes d'infertilitie.	
Présidente : A.Bouakkez Examinatrice : R.Djemil Encadreur: F.Derouiche	Université Abbes Laghrour Khenchela Université Abbes Laghrour Khenchela Université Abbes Laghrour Khenchela