

[Tapez le titre du document]

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention d'un diplôme de Master en Biologie

Option : *Microbiologie Fondamentale et Appliquée*

Thème

L'intérêt de spermogramme et Spermoculture dans l'exploration de la stérilité des couples

Présenté par :

Mlle. Rehamnia Asma

Mlle. Bettahar Ahlem

Soutenu le devant le jury :

Mr Cheriguene .A Professeur à l'université de Mostaganem

Président

Mr Bahri foud Professeur à l'université de Mostaganem

Examineur

Mr Ittalhi Mehdi docteur en Hématologie Hopital d'Ain Tedles

Encadreur

Année universitaire 2015-2016

Dédicace

Avant tout grâce à dieu que je suis arrivé là.

Je dédie ce mémoire à:

Mes grands-parents

A mon cher père qui a toujours été là pour moi, et qui m'a donné un magnifique monde de labeur et de persévérance. J'espère qu'il trouvera dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.

A celle qui m'a transmis la vie, l'amour, le courage, à toi maman toutes mes joies, mon amour et ma reconnaissance

A mes chères sœurs Salima, Sihem, Rahef.

A mes chères frères Amine, Abdelhak, Redouane, Ibrahim, Mohamed. Pour leur soutien moral et leur sacrifice le long de ma formation.

A mon Homme OUSSAMA

A mon cher amie, mon binôme Asma et toute la famille Bettahar, Mokhtar et Benmhidi

A tous ceux que j'aime de loin et de près.

A toute ma promotion Microbiologie Fondamentale Appliquée

2015-2016

Ahlem

Remerciement

Nous remercions notre profonde gratitude à ALLAH le tous puissant qui nous a donné la volonté et le courage pour la concrétisation de ce modeste travail.

On a le plaisir de remercier tous les enseignants qui ont contribué à notre formation d'écoles primaire jusqu'à ce jour. Nous remercions notre encadreur Dr. Ittalhi Mehdi pour tout son conseil et ses orientations, tout au long de réalisation. A tous les ingénieurs et les laborantins qui nous a aidé et encouragé de terminer ce travail, plus particulièrement nous vous remercions pour votre gentillesse. A toute l'équipe de l'hôpital d'Ain Tedeles et toute personne, qui a guidé et aidé pour réaliser ce projet. Nous remercions considérablement le membre de jury Mr Bahri .F et Mr.Chériguenne . A.

Dédicace

Pour tous ceux que j'aime, je dédie cette mémoire, ce fruit de plusieurs années

A :

Mes très chers parents que j'estime beaucoup pour leur tendresse et compréhension pour leur soutien moral et matériel soutenue encouragé pour arriver à ce niveau universitaire que j'ai souhaité tellement leur présence.

A mon mari, celui qui m'a indiqué la bonne voie en me rappelant que la volonté est la clé de toute réussite...

A mes grands parents que dieu les gardes A mes frères et ma sœur que j'aime énormément :

Alaa, Abd el Rahim, Imad el dine et Fakhre el dine

A toute ma famille sans exception, et ma belle famille .

A mon amie et binôme : Ahlem

A tous mes amies : Amina, Sabrina, Soumia .

A toute la promotion microbiologie Fondamentale et applique 2015-2016

Et enfin à ceux qui mont aide à réaliser cette mémoire.

Asma.

Résumé:

La stérilité masculine est, encore appelée infertilité masculine. IL s'agit de l'impossibilité pour un homme d'assurer une procréation du fait d'une défaillance qualitative ou quantitative du sperme.

L'infertilité masculine est à l'origine de plus d'un tiers des infertilités du couple. Elle est en relation avec une alteration quantitative et/ou qualitative du sperme (liquide seminal et spermatozoids) d'origine congénitale ou acquise.

On parle classiquement de stérilité seulement après 2 ans de rapports sexuels normaux, en fréquence et en qualité, sans contraception au sein d'un couple vivant régulièrement ensemble.

L'évaluation du sperme se fait sur des examens biologiques appelée Spermogramme, et spermoculture. Le spermogramme s'intéresse à un certain nombre de critères qui sont: le volume de l'éjaculat, le nombre des spermatozoids, La mobilité des spermatozoids et le pourcentage de spermatozoids à forme normal. Et pour la spermoculture est un examen bactériologique permettant de détecter une éventuelle infection au sein du sperme.

Ces différents critères peuvent varier dans des proportions importantes en fonction de l'âge, des saisons et du délai d'abstinence. Il a été défini des critères minimums par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) pour parler de sperme normalement fertile:

-Pour la concentration: 20 millions / ml de spermatozoids.

-Pour la mobilité: 40% de formes mobiles à 1 heure.

-Pour les formes normales: 50% de formes normales.

-Pour le volume de l'éjaculat: 2 à 6 ml, après 3 j d'abstinence.

-présence des germes pathogène : 0.

La différence biologique entre sujet fertile et stérile est liée à ces paramètres Spermatiques avec en premier la morphologie, en deuxième la mobilité et enfin la numération des spermatozoids. Tous les degrés existent entre l'absence totale de formation de spermatozoids (azoospermie) et une production à la limite de la normalité (oligo- asthénospermie).

stérilité masculine, infertilité, sperme, spermatozoids, Spermogramme, spermoculture.

LISTE DES ABREVIATIONS.

- **DHT:** Dihydrotestosteroe.
- **OMS:** Organisation Mondiale de la Santé.
- **TH:** Test de Hühner.
- **IVG:** Interruption volontaries de grossess.
- **AM:** Index d'Anomalies Multiples.
- **FSH :** Hormone folliculo-stimulante - Dosage sanguine.
- **ADN :** Acide désoxyribonucléique.
- **PH :** Potential hydrogen.
- **ATP:** L'adénosine-5'-triphosphate.

- **PMA:** La procreation médicalement assister.

- **TPC:** Test Post Coïtal.

Liste des figures

Figure N°01: Schéma simplifié d'une portion transversale de tube séminifère montrant les différentes étapes de la spermatogénèse.....	P(07)
Figure N°02: Schéma simplifié de la morphogénèse du spermatozoïde au cours de la spermatogénèse	P(07)
Figure N°03: les anomalies de spermatozoïde.....	P(10)
Figure N°04 : Matériels et produit	P(15)
Figure N°05 : bulletins du patient	P(18)
Figure N°06 : Examen macroscopique.....	P(18)
Figure N°07 : la coloration MGG	P(19)
Figure N°08 : ensemencement sur les milieux.....	P(20)
Figure N°09 : L'antibiogramme	P(23)
Figure N°10 : Asthénospermie	P(24)
Figure N°11: Oligoasthénospermie	P(25)
Figure N°12 : Azoospermie.....	P(26)

Liste des tableaux

Tableau N°01 : Le spermogramme selon l'OMS	(11)
Tableau N°02 : Principaux agents pathogènes pouvant être isolés dans le sperme.....	(12)
Tableau N°03 : Azoospermie.....	(24)
Tableau N°04 : Asthénospermie.....	(25)
Tableau N°05 : Oligoasthénospermie	(26)
Tableau N°06 : Résultats de l'étude macroscopique	(27)
Tableau N°07 : Résultats de l'étude microscopique.....	(27)
Tableau N°08 : les tests biochimique.....	(28)
Tableau N°09 :L'Antibiogramme	(29)

Sommaire

Introduction.....P01

Partie théorique

Chapitre :I La stérilité masculine.

I-1-Stérilité.....P02

I-1-2-Fécondité/Infécondité.....P02

I-1-3-Fertilité/Infertilité/Hypofertilité.....P02

I-1-4La stérilité masculine.....P03

I-1-5Etiologies de la stérilité masculine.....P03

I-1-6Cause principale : altération des spermatozoïdes et testicules.....P03

I-1-7Anomalies de sécrétion des hormones.....P04

Chapitre: II Rappel anatomiques et physiologiques

II-1-TesticulesP05

II-2-L'épithélium séminifèreP05

II-3-La spermatogenèse.....P06

II-3-Maturation des spermatozoïdes.....P08

II-4-Modifications membranairesP08

II-5-Établissement de La mobilité et modifications complexes du métabolismeP08

II-6-Poursuite de la compaction du noyauP09

II-7-Dépendance aux œstrogènes et androgènesP09

II-8-Anomalies.....P09

Chapitre: III spermogramme et Spermoculture

III-1-Spermogramme.....P11

III-2-SpermocultureP11

III-3-SpermocytogrammeP12

Introduction:

Dans le monde entier, la stérilité représente un problème social et de santé majeur, elle est due à des facteurs masculins (notamment l'absence de spermatozoïdes anormaux) ou trop peu nombreux et dans 35% des cas aussi, elle résulte de facteur féminin (y compris des problèmes d'ovulations des trompes de Fallope bouchées au marquées de cicatrices et l'endométriase).

D'autre cas, elle est causée par une association des facteurs masculins et féminins ou alors elle ne peut s'expliquer.

Dans la vaste majorité des infécondités d'origine masculine, des anomalies quantitatives et qualitatives des spermatozoïdes sont en causes. Ces cellules à nulles autres pareilles, cellules terminales trouvant leur original niveau testiculaire, cellules au destin physiologique unique, la fécondation, cellules dont l'accomplissement fonctionnel dépend dans une large mesure de la maturation physiologique complexe qu'elles subissent dans le tractus génital de l'homme puis de la partenaire sont l'objet d'étude principal du biologiste de la reproduction.

Les méthodes d'exploration du sperme et des spermatozoïdes reposent sur des procédures essentiellement manuelles faisant notablement intervenir le facteur humain. Ainsi, la biologie de la reproduction, à la différence de la majorité des actes de la biologie polyvalente moderne, demeure une pratique artisanale. Sa valeur son utilité dans la prise en charge clinique de l'homme et du couple dépendent tout autant des formations spécifiques théoriques et pratique sac complies, de l'application rigoureuse des procédures recommandées, ou encore, de l'évaluation régulière de la qualité de la phase analytique, principalement subjective par nature

Divers sujets sont abordés dans le Coran pour inviter les gens à croire. mentionnés comme preuves de l'existence de Dieu. Plusieurs versets invitent l'être humain à réfléchir sur sa propre création. Ces versets rappellent à l'homme comment il est venu au monde, quelles sont les étapes qu'il a traversées et quelle est la nature de son essence : bismillah al Rahman al Rahim : *(Il a créé l'homme d'une goutte de sperme; et voilà que l'homme devient un disputeur déclaré)*. Sourate el nahle 4, et sourate el qi yama 37 *(N'était-il pas une goutte de sperme éjaculé)*, sourate el mu 'minoune 14 *(Ensuite, Nous avons fait du sperme une adhérence ; et de l'adhérence Nous avons créé un embryon ; puis, de cet embryon Nous avons créé des os et Nous avons revêtu les os de chair. Ensuite, Nous l'avons transformé en une tout autre création. Gloire à Allah le Meilleur des créateurs !)* Sadaka Allah el adim

Partie théorique

Chapitre : I

I-Définitions:

I-1-1 Stérilité

Setting me souvent employé à tort définit les rares situations où l'obtention d'une grossesse naturelle est impossible, par exemple, les deux cas cités ci-dessus de l'azoospermie (vérifiée sur plusieurs examens) ou de l'obstruction bilatérale des trompes (**Schill, W.-B. ; Comhaire 2008**)

I-1-2 Fécondité/Infécondité

Le concept est celui d'un état: avoir été impliqué (ou non) à un moment donné dans l'obtention d'une grossesse/ la naissance d'un enfant (fécondité/infécondité) Selon l'OMS, l'infécondité (infertility en anglais) est définie comme l'absence de survenue d'une grossesse après un an au moins de Rapports Sexuels non protégés. Cette définition de mesure controversée pour ce qui est de la durée. Entoutcas, il faut revenir sur le rôle du facteur temps. Il faut aussi souligner que l'infécondité touchant le couple en cours d'exploration peut avoir concerné lors d'union(s) passée(s) l'un ou d'autre des partenaires: cette information (ou son contraire: grossesses, enfants, fausses couches, IVG, etc...) est particulièrement important à noter. (**Schill, W.-B. ; Comhaire (2008)**)

I-1-3 Fertilité/Infertilité/Hypofertilité

Le concept est celui de la capacité: les facteurs Clinique et biocliniques considérés comme nécessaires pour parvenir à une grossesse ont-ils réunis chez l'un et d'autre des partenaires? On emploie souvent à tort ces termes pour faire référence à la fécondité/infécondité, une des causes probables étant la non correspondance des termes en français et en anglais: en anglais, un fecundity=infertilité et infertility= infécondité! (**Sites thématiques de l'Agence de la Biomedicine**)

On ne devrait employer le terme L'infertilité que si l'on a l'assurance qu'un facteurs ou un ensemble de facteurs compromettent très fortement la probabilité de grossesse. En dehors de cas extrêmes comme l'azoospermie ou l'obstruction bilatérale des trompes, il n'est pas possible d'assurer que la grossesse ne pourra survenir. Le facteur temps importe beaucoup. Il est clair aussi que la mise en évidence de plusieurs facteurs négatifs diminue d'autant la probabilité d'observer la grossesse dans un délai acceptable, une année par exemple. Pour ces raisons, il est donc plus logique d'utiliser le terme d'hypofertilité plutôt que celui L'infertilité.

Lors que le partenaire masculin a déjà été responsable d'une grossesse, avec la partenaire présente ou une autre partenaire et quelque soit le temps écoulé depuis cette grossesse, on emploie généralement le terme L'infertilité secondaire, même chose pour la partenaire avant antérieure ment été enceinte au sein de ce couple ou d'une union précédente.

Concernant l'homme dans cette situation (fécond mais secondaire, même hypofertile), la chance d'obtention d'une grossesse est statistiquement plus importante qu'en cas d'infécondité première, certaines étiologies comme des anomalies congénitales, étant moins probables. Au contraire l'examen retrouvera plus souvent une étiologie acquise telle une obstruction épидидymaire ou les séquelles d'une orchite, pouvant conduire à des anomalies perméables quantitatives et/ou qualitatives sévères (**Berg U, Brucker C, Berg FD (1997)**).

I-1-4 La stérilité masculine :

La stérilité est dite primaire s'il n'y a jamais eu de grossesse reconnue (l'homme n'a jamais eu d'enfant), et secondaire s'il y a déjà eu une fécondation quelconque et à la durée de la grossesse.

Globalement, la fécondité augmente jusqu'à l'âge de 25 ans, puis se stabilise et diminue.

En pratique, un bilan diagnostique complet est nécessaire lorsqu'un couple désire un enfant ne parvient pas à démarrer une grossesse après deux ans de rapports sexuels complets, suffisamment fréquents (2 à 3 fois par semaine) et sa contraception (volontaire ou non).

L'approche la plus logique est donc une première consultation où le mari et la femme sont présents, l'infertilité peut être le fait, à des degrés divers, des deux partenaires plus la femme est jeune, plus grande et l'implication masculine.

L'interrogatoire du couple est le premier temps de la consultation, il va recueillir des renseignements

sur l'ancienneté de l'infécondité, mais aussi sur la fréquence et la qualité du couple ainsi que sur la contraception antérieurement utilisée par le couple, ou le couple précédent s'il y en a eu. Viendra ensuite l'interrogatoire du mari, son âge, sa profession (éléments particulièrement s'il a été exposé à une source de rayons X, à la chaleur intense, à des pesticides, à du cadmium).

On recherchera également une éventuelle ingestion de plomb et on tiendra compte de la consommation de tabac et d'alcool. (Auger J, Mesbah M, Huber C (1997))

I-1-5 Etiologies de la stérilité masculine

Théoriquement, l'homme peut concevoir des enfants tout au long de sa vie, puisqu'il produit des spermatozoïdes en flux continu à partir de la puberté.

I-1-6 Cause principale : altération des spermatozoïdes et testicules

Les causes de stérilité chez l'homme sont généralement plus simples que chez la femme. L'infertilité est le plus souvent le résultat d'une altération des spermatozoïdes :

- soit les testicules fabriquent trop peu ou pas du tout de spermatozoïdes,
 - soit les testicules fonctionnent normalement, mais ce sont les voies excrétrices qui sont atteintes,
 - dans certains cas rares, le sperme remonte dans la vessie au moment de l'éjaculation.
- Infertilité : causes hormonales, génétiques, infectieuses, environnement

Les causes d'altération des spermatozoïdes peuvent être multiples :

- Infection aiguë par exemple ou d'infection chronique :

Certaines maladies infectieuses ou états inflammatoires (oreillons) peuvent provoquer une infection des organes génitaux ou une inflammation et une atrophie des testicules. Elles sont en cause dans 5% environ des cas d'infertilité masculine

I-1-7 Anomalies de sécrétion des hormones: La fabrication des spermatozoïdes peut être atteinte: le testicule n'est pas stimulé ET ne les fabrique plus.

- Anomalies génétique (rare): Dans certain cas, comme les cas de mucoviscidose :
 - les voies excrétrices n'existent pas,
 - il existe des anomalies dans la fabrication des spermatozoïdes.

Ces cas doivent faire l'objet d'un dépistage avant tout traitement de la stérilité pour éviter de mettre au monde d'un enfant lui-même atteint de mucoviscidose.

- Atteintes traumatiques
 - Possibles après une intervention chirurgicale sur les organes génitaux, lésant les canaux de transport des spermatozoïdes.
 - C'est le cas parfois lors d'une intervention chirurgicale motivée par une torsion des testicules ou une absence de descente de bourses.
 - Parfois, les testicules fonctionnent normalement, mais ce sont les canaux qui sont abîmés. (Chemes EH, Rawe YV. (2003))

Chapitre: II

II-1-Testicules :

Les testicules sont des glandes qui produisent la testostérone, la principale hormone masculine responsable du développement des organes génitaux. SA production, au commencement de la puberté, provoque les changements destinés à transformer le garçon en homme, en déterminant l'apparition des caractères sexuels mâles secondaires. Les testicules sont également le lieu de la spermatogenèse (fabrication des spermatozoïdes) qui commence à la puberté et continue pendant toute la vie de l'homme. On voit donc que si les filles naissent avec toute leur réserve d'ovules, les hommes ne commencent à fabriquer des spermatozoïdes qu'à la puberté. Toujours à la différence d'une femme, l'homme renouvelle, toute sa vie durant, sa réserve de cellules reproductrices ou gamètes. À partir de la puberté, les testicules produisent en permanence de nouveaux spermatozoïdes. Ces derniers voyagent à partir des testicules à Travers le canal déférent, sorte de tube situé à l'intérieur du pénis, où ils se mélangent à un liquide produit par la prostate et les glandes séminales. Ce mélange de liquide et de spermatozoïdes est appelé « sperme ». Le sperme, émis par le pénis lorsqu'un homme éjacule, est expulsé par l'urètre, qui est le canal qui conduit l'urine du rein à la vessie. Chaque goutte de sperme contient des dizaines de milliers de spermatozoïdes de taille microscopique. Un seul spermatozoïde atteint l'utérus et féconde l'ovule. (-M.Catala.(2006)

II-2-L'épithélium séminifère (Figure 1) :

À chacun des trois grands types de cellules germinales, spermatogonies, spermatocytes, spermatozoïdes, correspondent les trois grandes phases du processus spermatogénétique. Dans l'ordre mentionné ces cellules sont localisées de la base vers la lumière du tube. Les cellules de Sertoli assurent leur soutien et s'étendent sur toute la hauteur de l'épithélium séminifère. Elles entourent les cellules de la lignée germinale et sont considérées comme le véritable « chef d'orchestre » de la spermatogenèse, seules cellules pouvant communiquer directement avec toutes les autres catégories cellulaires constituant le tube séminifère. Brièvement, elles ont un rôle de soutien et de protection des cellules germinales, de nutrition des cellules germinales, elles contrôlent la libération des spermatozoïdes dans la lumière des tubes, sont capables de phagocytose, de synthèses (inhibiteurs, etc...) et sont stimulées par la FSH. Leur cytoplasme présente de fins prolongements de la lame basale à la lumière. Il existe des systèmes de jonctions sériées différenciant le compartiment basal du compartiment adluminal. Les cellules germinales souches ou spermatogonies présentent différents types cytologiques en fonction de leur rôle (réservation ou prolifération) ET des divisions successives. Ces cellules sont en relation les unes avec les autres par des points intercellulaires. Les spermatozoïdes sont les

cellules issues de la dernier division des spermatogonies (C. **Thibault**, M.C. **Levasseur(2001)**)

II-3-La spermatogenèse:

La spermatogenèse se met en place à la pubertés. Elle se définit comme UN processus de multiplication ET de différenciation cellulaires partant des cellules souches pour aboutir à la formation des spermatozoïdes testiculaires. Elle comporte trois grandes étapes:

- Phase de multiplication des cellules souches
- La méiose
- La spermatogenèse

Au cours de la phase de multiplication, les cellules germinales souches ou spermatogonies se divisent par mitoses (il existe un compartiment de spermatogonies de réserve non appliquées dans ce processus et les deux types de spermatogonies présentent des caractéristiques cytologiques différentes). Au terme de ces divisions commence la méiose, processus de divisions successives des spermatocytes diploïdes aboutissant à la formation de spermatozoïdes haploïdes présentant les caractéristiques suivantes:

- 1) Une synthèse d'ADN avec répllication des filaments chromosomiques (stade préleptotène),
- 2) la pro phase Elle-même avec ses cinq stades le protène, zygotène, pachytène, diplotène et diacynèse caractérisées par des aspects cellulaires différents et la présence dans le noyau de chromosomes appariés (il faut particulièrement noter la séparation du bivalent sexuel des 22 bivalents autosomiques lors du stade pachytène et la formation de chiasmes à l'origine des «crossing over», échanges de matériel génétique entre chromosomes homologues paternel et maternel au stade diplotène)
- 3) La séparation des chromosomes homologues paternel ET maternel et la formation de spermatocytes de 2^{ème} ordre comportant des chromosomes constitués de deux chromatides, à l'issue de la première division méiotique et,
- 4) Leur division rapide avec une répartition de chaque chromatide dans les deux cellules filles, les spermatozoïdes haploïdes.

La dernière phase appelée spermatogenèse (Figure 2) concerne la métamorphose des spermatozoïdes en spermatozoïdes. À partir de ce stade il n'y a plus de divisions cellulaires mais des processus morphogénétiques extrêmement complexes à l'échelle moléculaire et cellulaire qui vont particulièrement concerner la réorganisation du noyau, la mise en place de l'acrosome à partir de l'appareil de Golgi, la formation et l'assemblage des structures flagellaires et la perte de la majeure partie du cytoplasme. À l'issue de cette phase, les spermatozoïdes matures devenues spermatozoïdes testiculaires se détachent de l'épithélium séminifère (spermiation) pour être excrétés dans la lumière des tubules. Chez l'homme, la durée d'un cycle de spermatogenèse complet est d'environ 60 jours. (E.Knobille, J.D.Neill,(1994))

Figure N°01 : **Schéma simplifié d'une portion transversale de tube séminifère montrant les différentes étapes de la spermatogenèse.**

Compartiment basal (A) ; Compartiment adluminal(B)

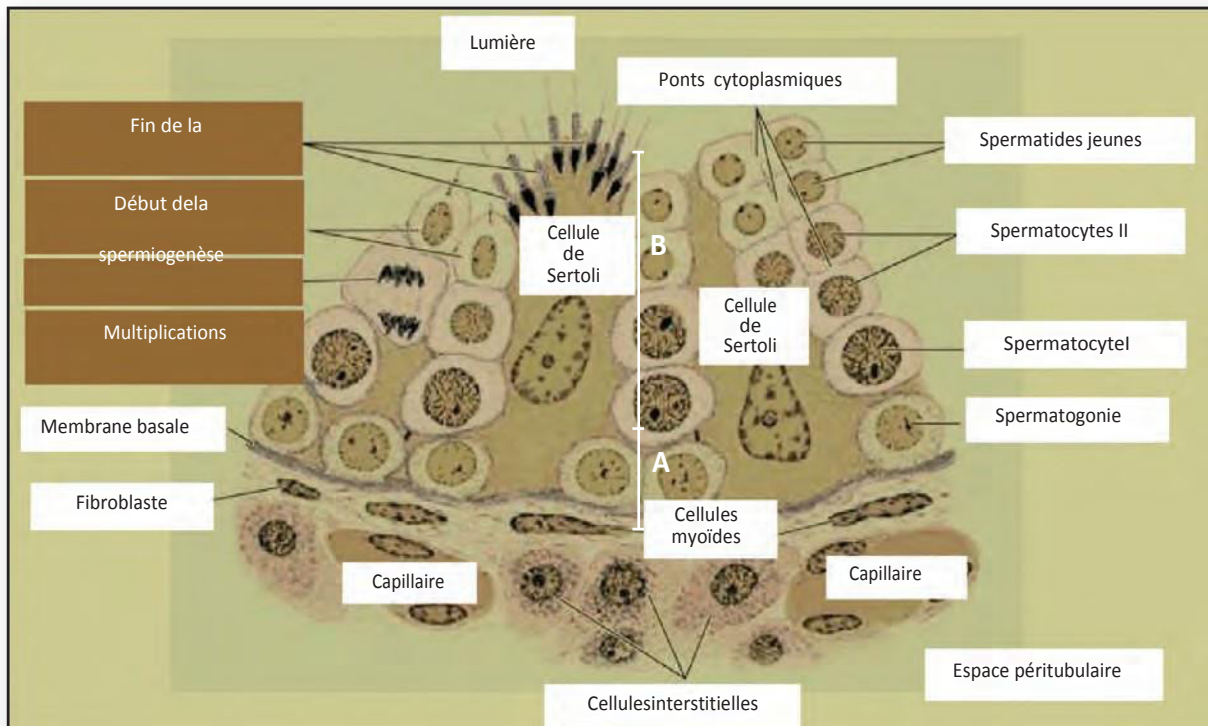
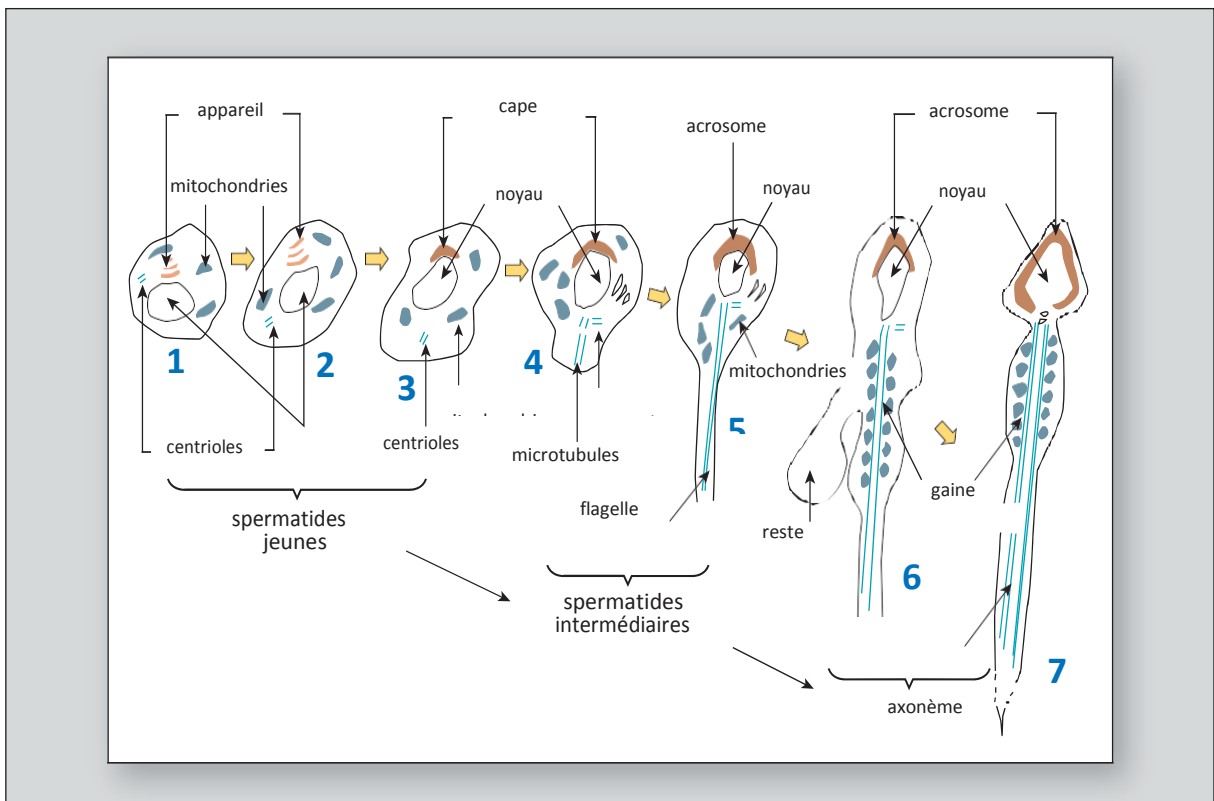


Figure N°02 : Schéma simplifié de la morphogénèse du spermatozoïde au cours de la spermatogénèse



II-3-Maturation des spermatozoïdes:

Les spermatozoïdes, cellule terminale hautement différenciée est une cellule orientée, avec une taille, une forme et des axes de symétrie déterminés. Il ne comporte que les constituants utiles à la fécondation qui sont emboîtés les uns dans les autres, maintenant entre eux d'étroits rapports de proximité. La morphologie générale du spermatozoïde éjaculé est similaire à celle du spermatozoïde testiculaire. Le spermatozoïde humain normal mesure environ 60 μm de long et est essentiellement constitué de trois parties : la tête, le court flagella (Figure 4). L'ultra structure du spermatozoïde humain normal est très bien documentée, depuis de nombreuses années. La figure 4 qui suit donne une représentation schématique d'ensemble de l'organisation ultra structurale du spermatozoïde humain éjaculé normal. La maturation des spermatozoïdes lors de leur transport dans l'épididyme est un processus indispensable pour la fécondation. Au cours du transit épидидymaire, les spermatozoïdes rencontrent des environnements variés notamment dans la composition en protéines. (Perreault S.D. and Rogers B.J. (1982))

II-4-Modifications membranaires :

Dans la partie proximale (tête) de l'épididyme, les spermatozoïdes sont principalement soumis à l'action d'enzymes et exposés à des protéines susceptibles de modifier leurs membranes. Dans la partie moyenne (corps) de l'épididyme, prédominent d'autres types de protéines et d'enzymes, notamment celles associées au transport des stérols, modulant la composition lipidique de leur membrane et permettant l'ancrage de protéines jouant un rôle majeur dans la liaison avec la zone pellucide. En fin, dans la partie distale (queue) de l'épididyme, les spermatozoïdes font face à des activités antimicrobiennes croissantes, à des activités croissantes d'enzymes lytiques, sont exposés à des protéines impliquées à la fois dans la liaison à la zone pellucide et la fusion ovocytaire, et à des agents de décapage permettant leur survie notamment avant l'éjaculation. Au terme du transport épидидymaire, la localisation des protéines dans des domaines membranaires précis tout comme l'équipement membranaire final en sucres et en peptides dépendant d'enzymes modulant leur adjonction ou au contraire leur extraction conditionnent des étapes clés comme par exemple, la liaison à la zone pellucide ou encore la fixation à l'ovocyte. (C. Patrat, C. Serres and P. Jouannet (2000))

II-5-Établissement de la mobilité et modifications complexes du métabolisme :

La capacité à un déplacement autonome, témoin de la viabilité et de l'intégrité structurale du spermatozoïde, est initiée au cours du transit épидидymaire. C'est la première conditionnée ces saires mais non suffisante pour qu'il puisse féconder. Il n'existe pas de modifications morphologiques du flagelle discernables lors du transport épидидymaire. Le pourcentage de spermatozoïdes mobiles augmente régulièrement, de la tête où ils sont très peu nombreux et présent en mouvement pour l'essentiel non progressif jusqu'à la queue où ce pourcentage est élevé et la majorité des spermatozoïdes sont animés d'un mouvement progressif. Les mécanismes précis de l'initiation et du développement du mouvement des spermatozoïdes

humains lors de leur passage dans l'épididyme ne sont que partiellement connus. La concentration en AMP cyclique, en calcium l'effet «permissif» d'une augmentation du pH seraient les facteurs principaux de l'initiation de la mobilité des spermatozoïdes immatures. (

Wassermann nPM. (1999)

II-6-Poursuite de la compaction du noyau :

La compaction de la chromatine initiée dans les étapes finales de la spermatogenèse se poursuit lors du transit épидидymaire. Cette compaction s'agit de l'élargissement de la chromatine à mesure de la progression dans l'épididyme ET est en rapport avec une augmentation significative du nombre de ponts disulfure.(Kamischke A et Nieschlag E. (2002)

II-7-Dépendance aux œstrogènes et androgènes :

La fonction épидидymite est contrôlée de manière complexe par plusieurs hormones et facteurs de croissance. La testostérone est le facteur principal intervenant dans son développement, son maintien et la maturation des spermatozoïdes. Elle est détectée dans la lumière de l'épididyme mais on trouve également en moindre quantité de la 5 alpha-DHT. Il ne semble pas exister de gradient tout à fait le long de l'épididyme. Les données suggèrent que la testostérone à ce niveau provient des testicules. À côté de cela, l'épididyme adulte humain est pourvu de nombreux récepteurs aux androgènes supportant l'idée que la structure et la fonction de l'épididyme humain sont principalement contrôlées par la testostérone, des données indiquant que la distribution des récepteurs est région-spécifique. L'épididyme humain comporte aussi d'assez nombreux récepteurs aux œstrogènes.L'administration d'œstrogènes résulte en une baisse significative de la testostérone et de la 5 alpha-DHT épидидymaire, pouvant possiblement retentir sur la maturation normale des spermatozoïdes. Les œstrogènes régulent la contractilité de l'épididyme et modulent l'expression de gènes impliqués dans l'absorption du fluide des canaux efférents et de l'épididyme.(Jouann et PetSoumahA,(1984)

II-8-Anomalies :

- Une [oligospermie](#) quand la concentration est inférieure à 20 millions/ml.
- Une [azoospermie](#) quand il y a une absence totale de spermatozoïdes dans le sperme.
- Une [asthénospermie](#) quand le nombre de spermatozoïdes mobiles est inférieur à 60%.
- Une [tératospermie](#) quand il existe plus de 50% de spermatozoïdes anormaux.
- Une aspermie, quand il y a une absence de sperme.
- Une oligoasthénospermie quand la baisse du nombre de spermatozoïdes est inférieure à 20 millions par millimètre et la baisse de mobilité inférieure à 40% (Kamischke A et Nieschlag E. (2002)

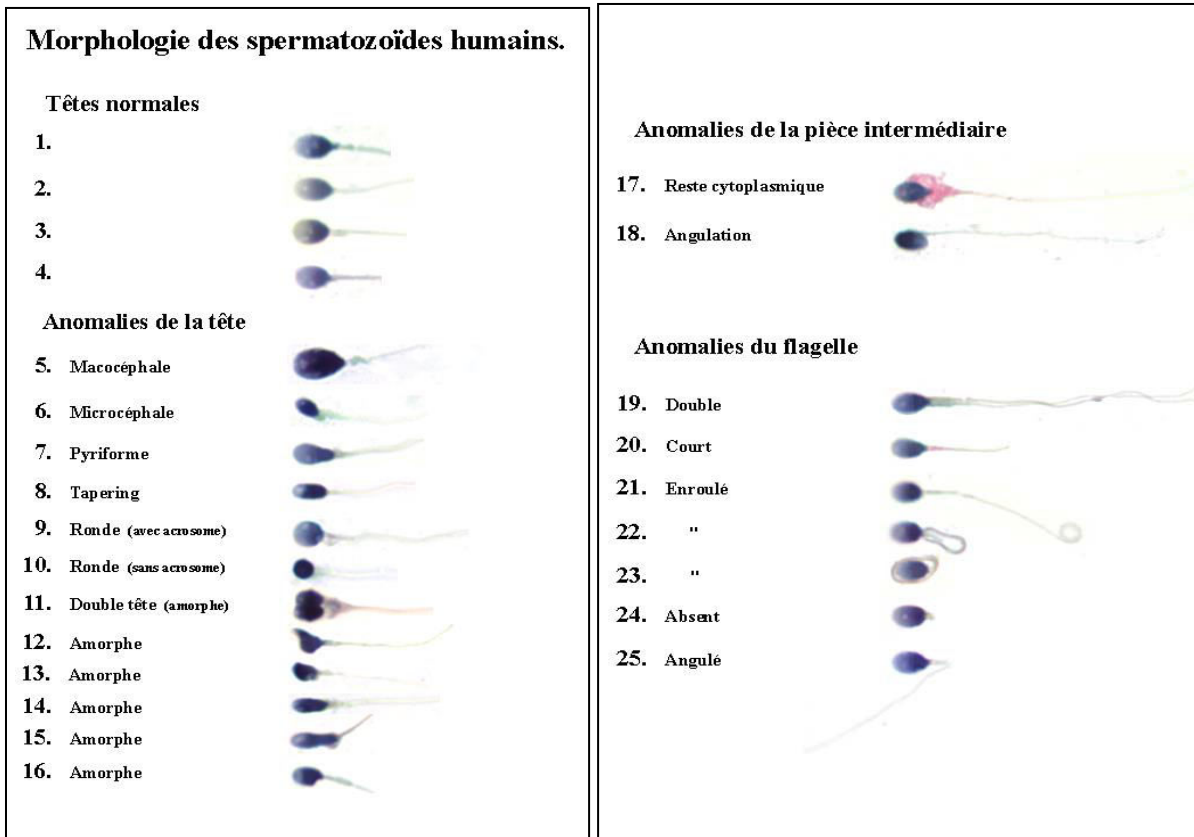


Figure N°03: les anomalies de spermatozoïdes

Chapitre: III

III-1-Spermogramme :

Cet examen médical est le plus souvent prescrit dans le cadre d'un bilan d'infertilité d'un couple. Il permet d'analyser le [sperme](#) et de vérifier l'absence d'anomalies. Le spermogramme consiste principalement à compter et à étudier la vitalité des [spermatozoïdes](#). Le recueil s'effectue dans un laboratoire spécialisé en effectuant une masturbation, en l'absence d'infection et après une abstinence d'au moins trois jours. Il est conseillé de ne pas prendre de bain chaud pendant les jours qui précèdent le recueil. Le sperme doit être rapidement analysé après l'[éjaculation](#).

La qualité du sperme varie souvent pur un même individu au cours du temps. 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(. **MaklerA, David, Blumenfeld Z et Better OS(1981)**)

Volume	nl ou plus
PH	7,2 ou plus
Numération des spermatozoïdes	20 x 10 ⁹ /l ou plus
Concentration totale des spermatozoïdes	40 x 10 ⁶ spermatozoïdes ou plus par éjaculation
Mobilité	50 % ou plus de spermatozoïdes mobiles (avec progression vers l'avant) (grade A+B) ou 25 % ou plus de spermatozoïdes mobiles avec une progression linéaire rapide (A) dans les 60 minutes qui suivent l'éjaculation
Morphologie	15 % ou plus de spermatozoïdes à morphologie normale
Viabilité	50 % ou plus de spermatozoïdes viables (ne prenant pas la couleur)
Leucocytes	Moins de 1 x 10 ⁹ /l

Le Spermogramme selon l'OMS:

Tableau N°01: Le Spermogramme selon l'OMS

III-2- La Spermoculture :

Comme son nom l'indique, la Spermoculture désigne la culture du sperme pratiquée dans le but de détecter d'éventuels microbes. Cet examen médical est généralement préconisé afin d'évaluer les propriétés fécondantes des spermatozoïdes d'un individu. À ce titre, la Spermoculture est généralement associée à un spermocytogramme ou à un spermogramme. Prescrite par un andrologue, la Spermoculture donne une indication quant à la thérapeutique devant être mise en place si nécessaire. Les bactéries de type gonocoque, mycoplasme, chlamydiae ou entérobactéries sont majoritairement recherchées.

Spermoculture est un examen bactériologique permettant de détecter une éventuelle infection au sein du sperme. A quoi sert la spermoculture ? Généralement associée au spermogramme ou au spermocytogramme, la spermoculture est prescrite dans l'exploration de l'infertilité masculine ainsi que dans la procréation médicalement assistée (PMA). En cultivant le sperme dans différents milieux appropriés à la croissance bactérienne, cet examen médical, prescrit par un andrologue, permet de rechercher des microbes et autres bactéries tels que les chlamydiae, les gonocoques, les mycoplasmes ou les entérobactéries. Ainsi, cet examen d'aide au diagnostic permet de contrôler les fonctions fécondantes ou la mobilité du spermatozoïde et, le cas échéant, de mettre en place une stratégie thérapeutique adaptée. (Liu DY and Baker HW (1994)).

Tableau N°02: Principaux agents pathogènes pouvant être isolés dans le sperme

Principaux agents pathogènes pouvant être isolés dans le sperme	
Adulte jeune	Sujet débilité
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Agents des MST
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Germes banals : Staphylocoques
<i>Mycoplasme, Ure plasma</i>	Entérobactéries, Pseudomonas spp
<i>Mycobacterium tuberculoses</i>	Mycobactéries
Germes banals	

III-3-Spermocytogramme :

Le Spermocytogramme est un examen pratiqué dans le cadre de l'analyse de la fécondité masculine. Il est généralement associé au [spermogramme](#). Le Spermocytogramme s'attache à l'analyse des [spermatozoïdes](#) en tant que cellules, c'est-à-dire à leur morphologie (étude des anomalies de la tête, de la pièce intermédiaire et du flagelle) et de leur constitution, notamment au niveau des [chromosomes](#) transportés. Il s'effectue au microscope en laboratoire, à l'aide de colorants spécifiques à chaque élément. Il est pratiquement établi à partir d'un frottis fixé et coloré soit par le réactif de Shorr, ou de Papanicolaou modifiée, soit par des réactifs « rapides » que l'on trouve aujourd'hui sur le marché.

[Tapez le titre du document]

Le réactif de Giemsa peut être utilisé pour rechercher les différents types de leucocytes. (**Liu DY and Baker HW (1994)**).

Partie expérimentale

IV-1-Objectif de travail :

L'objectif de ce travail est d'évaluer la fréquence de la stérilité masculine d'origine infectieuse, et d'autre part d'identifier les bactéries responsables de cette infection :

IV-1-2-Lieu de travail :

Nous avons effectué notre stage au niveau du laboratoire de l'hôpital d'Ain Tedles.

IV-1-3-L'origine et nombre des patients :

Les dix patients étaient des externes orientés par des médecins urologues et des gynécologues.

IV-2-Matériels et produits :

IV-2-1 Le Spermogramme et Spermocytogramme :

a-Appareils : Microscope optique.

b-Verrerie : Pipettes Pasteur ; Lames et lamelles

c-Autres matériels : crachoir, Anse de platine.

D- les produits : , les colorants (Giemsa et May-Grunwald), Ph mètre, l'huile d'immersion

IV-2- 2-la Spermoculture :

a-Appareils : Bec Benzène, Autoclave, Incubateur, Réfrigérateur, Microscope optique

b-Verrerie : Pipettes Pasteur ; Lames et lamelles

c-Autres matériels : crachoir, Boîtes de Pétri, Anse de platine, Portoirs, Pince.

d-Milieus des cultures : GN ; Chapman ; gélose de Sabouraud ; gélose au sang ; BCP. (Annexes).

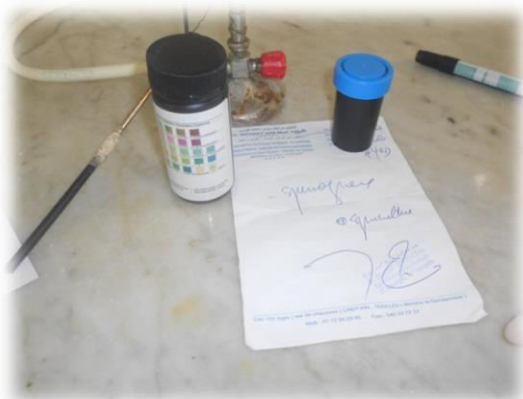


Figure N°04 : Matériels et produit

IV-2-3 Technique générale :

C'est toujours le résultat de l'analyse sémiologique qui impose la technique d'AMP à utiliser dans le couple infertile, que la stérilité soit d'origine masculine, féminine ou mixte.

En plus de l'analyse de première intention qui porte essentiellement sur l'évaluation de la qualité et de la quantité du sperme (numération, mobilité, morphologie), on sera amené, dans un certains cas, à effectuer des analyses complémentaires permettant d'affiner le diagnostic.

IV-2-4-Prélèvement :

Cet examen doit être réalisé à distance (1 mois) d'une infection, fièvre, intervention chirurgicale, traitement ..., pouvant influencer les résultats.

Le prélèvement est effectué de préférence au laboratoire, mais peut se faire à votre domicile

1-Dans tous les cas prendre rendez-vous avant le jour de l'examen.

1- Conditions de recueil

- De bonnes conditions de recueil du sperm sont indispensables pour Une interprétation correcte de l'examen.

2- Abstinence

- Le recueil doit se faire après **3** jours minimum, **5** jours maximum d'abstinence sexuelle.

IV-2-5-Heure de prélèvement

- Le recueil doit se faire le matin avant 10 heures ET **être réalisé de préférence au laboratoire .**

IV-2-6-Réalisation du Prélèvement

- Uriner avant le recueil.
- Faire Une toilette soigneuse à l'aide d'un savon antiseptique ou d'une lingette désinfectant. Effectuer ensuite UN rinçage abondant.
- Le Prélèvement est. à réalisé par masturbation uniquement. Recueillir le sperm dans le flacon sterile fourni par le laboratories. Ne pas utiliser de preservative.
- IL est. important de Recueillir la totalité de l'éjaculat. En cas de pert, le préciser sur le formulaire au verso.

- Identifier le flacon avec vos **NOM, PRENOM, DATE DE NAISSANCE** et **IV-IV-2-7-Heures de recueil**
- Remplir les renseignements demandés au verso avant le Prélèvement.
- Si le recueil a lieu au domicile, IL est important de passer au préalable au laboratoire pour prendre le matériel (flacon + emballage adéquate). Dans ces conditions il faut reporter le flacon bouché au laboratoire dans les **30 minutes** qui suivent l'éjaculation en maintenant le flacon au chaud dans l'emballage fourni par le laboratoire.

IV-3-1-Le Spermogramme

IV-3-2-La liquéfaction:

Avant de commencer l'analyse du sperme, une période de temps doit être accordée pour la Liquéfaction. La durée normale de liquéfaction est de 30 minutes. Si celle-ci n'est pas réalisée à l'intérieur de ce délai, on dira qu'elle est lente plutôt que normale.

À l'aide d'une pipette ou d'un cylindre gradué, le volume de l'éjaculat est mesuré.

IV-3-3-La viscosité:

Celle-ci s'évalue selon 4 niveaux à l'aide d'une pipette :

Viscosité normale : si l'échantillon se sépare bien Goutte à goutte;

Viscosité 1 : si l'échantillon forme un filet liquide entre chaque goutte;

Viscosité 2 : si l'échantillon est suffisamment visqueux pour que le filet soit continu;

Viscosité 3 : si l'échantillon est tellement visqueux qu'il ne peut s'écouler par la pipette.

IV-3-4-Le pH :

Celui-ci est mesuré à l'aide de papier pH.

IV-4-1Le Spermocytogramme:

IV-4-2-La mobilité

Pour évaluer la mobilité, un examen à l'état frais doit être effectué : placer 10 microlitres (μL) de sperme entre une lame et une lamelle. Un décompte est réalisé en visualisant au moins 200 Spermatozoïdes (2×100) et l'évaluation des grades se fait comme suit :

Grade A : progression rapide : les spermatozoïdes bougent bien en ligne droite à travers le champ du microscope;

Grade B : progression lente : les spermatozoïdes bougent lentement, en zigzaguant;

Grade C : agitation sans progression : les spermatozoïdes bougent mais n'avancent pas (Seules les flagelles bougent).

Grade D : immobiles : les spermatozoïdes sont complètement immobiles.

IV-4-3-La coloration MGG:

La coloration modifiée MGG permet la coloration des régions acrosomales et postacrosomales de la tête, de la pièce intermédiaire et du flagelle du spermatozoïde. Monter la préparation avec un liquide de montage.

IV-4-3-1-La coloration MGG:

L'examen bactériologique des spermatozoïdes se fait par ensemencement des spermatozoïdes sur des milieux de culture appropriés. Le but est de rechercher et isoler les germes pathogènes.

les bactéries à rechercher systématiquement sont *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* Germes banals : *Staphylocoques*, *Streptocoque* , *Mycoplasma*, *Ureaplasma* *Entérobactéries*, *Pseudomonas spp* , *Mycobacterium tuberculosis*.

IV-5-2Etude de cas N°1 :

IV-5-2-1-bulletins du patient :

- Le Prélèvement n°1:
 - Le nom: A
 - Le prénom: S
 - Age: 32 ans
 - Nombre des enfants: 2
- Examens demandés: Spermogramme, Spermoculture.

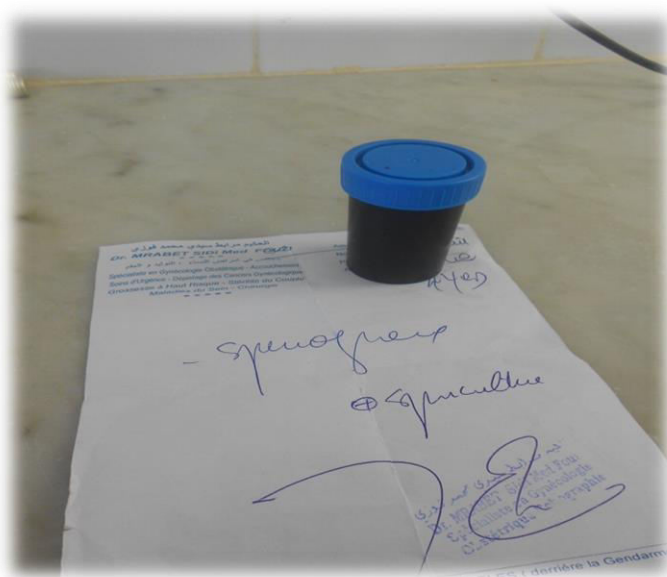


Figure N°05 : bulletins du patient

IV-5-2-2-protocole expérimentale :

Examen macroscopique du sperme :

- Notez la couleur et le volume.
- Mésure de PH.
- La viscosité.

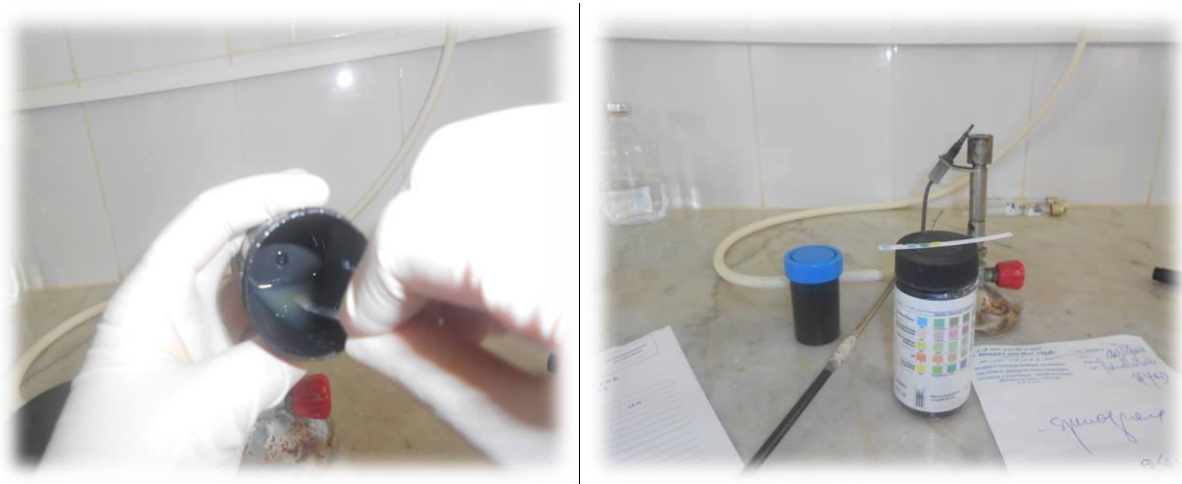


Figure N°06 : Examen macroscopique

IV-5-3 Examen microscopique :

- An d'état frais: sur lame on depose 2 gouttes de sperm pour détecté la mobilité.

IV-5-3-1la coloration MGG :

Fixation d'un frotti (un étalement de goutte du sperme sur la lame) Laisser la lame sécher à l'air.

Placer le frottis fixé sur le support de coloration recouvrir la lame avec le May-Grünwald pendent 5 minute ; recouvrir la lame avec le Giemsa pendent 20 minute.

Rincé brièvement l'eau courante et laisser sécher le frottis ; la lecture au microscope a l'objectif x 100.



Figure N°07 : la coloration MGG

IV-5-3-2-L'isolement des microorganismes : ce fait dans la zone stérile toujours.

Nous allons faire un ensemencement en stries à l'aide d'une anse stérile sur les milieux à partir des spermes.

Incubés à 37°C pendant 18 à 24h.



Figure N°08 : ensemencement sur les milieux

IV-5-3-3-Identification :

L'identification des bactéries est basée sur l'étude de leurs caractères morphologiques, culturels et biochimiques.

IV-5-3-4Examen macroscopique:

Les milieux ensemencés sont mis à observés après 18 à 24 h pour détecter une éventuelle croissance. Dans ces études on prend en compte les caractères suivants : la forme, l'aspect, la couleur des colonies et aussi l'odeur.

IV-5-4- Examen microscopique :

IV-5-4-1-observation microscopique a l'état frais :

Sur une lame dégraisse on dépose une goutte d'eau physiologique stérile dans laquelle on dilue une colonie de la bactérie étudiée en suite on recouvre cette lame par une lamelle et on observe au microscope.

IV-5-4-2- coloration de Gram:

Cette études est réalise, par une coloration de Gram qui permet de connaitre le type de Gram de la bactérie (positif ou négatif) ainsi que leur morphologie (bâtonnet ou cocci).

IV-5-4-3-Coloration :

Placer le frottis fixé sur le support de coloration recouvrir la lame avec le cristal violet pendant une minute. Rejeter le colorant et rincer à l'eau courant pour éliminer toute trace de cristal violet en excès.

Rincé après décolorer par le différenciateur rapide (alcool) et rincé rapidement à l'eau ; recouvrir la lame avec la Fushine pendant une minute.

Rincé brièvement l'eau courante et laisser sécher le frottis ; la lecture au microscope a l'objectif x 100.

IV-5-5Tests biochimiques :

L'études micro et macroscopique est suivi par un ensemble des tests biochimiques basés sur la recherche du pouvoir fermentatif des sucres, production du gaz, la mobilité, utilisation du citrate, recherche d'oxydase, catalase, acétone, et test de rouge de méthyle.

IV-5-5-1- Fermentation des sucres (Lac, Glu, Sac) et production du gaz et d'H₂S :

C'est un milieu solide coulé en pente contenant du thiosulfate, des ions ferreux, de la lysine du glucose, du galactose et des éléments nutritifs permettent la multiplication et la croissance des bactéries. Sur ce milieu on peut rechercher les caractères suivants:

Fermentation du lactose milieu rouge vire au jaune (indicateur coloré rouge de phénol) ;

Fermentation du glucose :

La production ou non de gaz sous forme de bulles d'air ; production de H₂S.

IV-5-5-2-L'utilisation du citrate:

On aensemencé en surface par stries le milieu de citrate de Simmons qui est un milieu synthétique qui contient le citrate tri sodique comme une seule source de carbone.

IV-5-5-3-Production d'oxydase:

Ce test est basé sur la détection de la production de l'enzyme cytochrome oxydase par des bactéries à coloration de Gram négative.

Il s'agit de mettre en contact une colonie bactérienne avec un disque d'oxydase. Une réaction positive se traduit par l'apparition d'une coloration violette, soit immédiatement, soit après quelques secondes. La lecture est limitée à 30s.

IV-5-5-4-Recherche de la catalase:

La catalase est une enzyme qui décompose l'eau oxygénée en eau et oxygène gazeux. La méthode consiste à prélever une colonie du germe à étudier sur l'extrémité d'une pipette pasteur formée que l'on plonge ensuite dans un millilitre d'eau oxygéné.

IV-5-6-L'antibiogramme :

IV-5-6-1-Définition d'antibiotique :

Est une substance antimicrobienne d'origine biologique, qui est capable d'inhiber la multiplication ou la lyse entière des bactéries

L'action de cet antibiotique sur une souche bactérienne aboutit à deux états :

-l'arrêt de la multiplication des bactéries (effets bactériostatique)

-La destruction des bactéries (effet bactéricide)

IV-5-6-2-Définition d'antibiogramme :

C'est un qui consiste à provoquer la capacité d'un antibiotique d'inhiber la croissance d'un germe.

On les met en contact l'un de l'autre durant une période normale de croissance

La méthode consiste à utiliser les petits disques de papier imbibé d'antibiotique et ont déposé sur la gélose

Il suffit de noter après 24H d'incubation, s'il y'a une zone d'inhibition de croissance autour de l'antibiotique pour en apprendre son efficacité

IV-5-6-3-Technique :

- Méthode de diffusion en milieu solide :

Cette méthode consiste à utiliser des petits disques de papier imbibé d'antibiotique avec une pince métallique ou à l'aide d'un distributeur, sur une

Gélose milieu Mueller-Hinton, après avoir ensemencé la gélose par une suspension bactérienne, on laisse sécher 15mn à 37c°. Il faut déposer les disques à 15 min de la périphérie de la sans oublier d'appuyer légèrement pour assurer le contact avec les milieux, incubé ensuite à 37c° pendant 24H.

- La lecture :

La lecture se traduit par diffusion dans le milieu en créant soit une zone d'inhibition autour du disque soit sensible, soit résistant, on mesure le diamètre de la zone avec le pied à coulisse

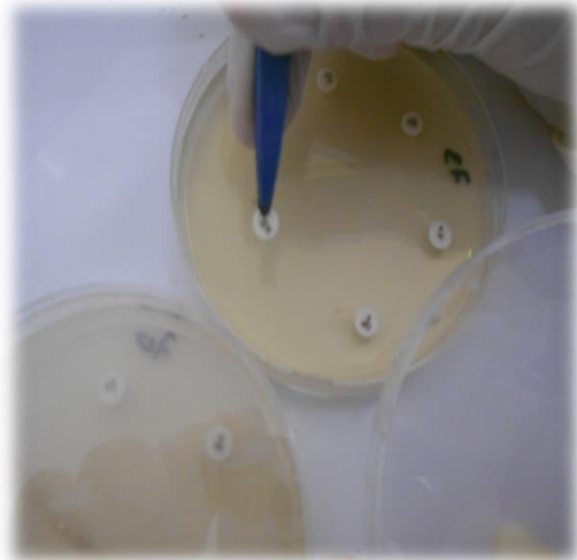
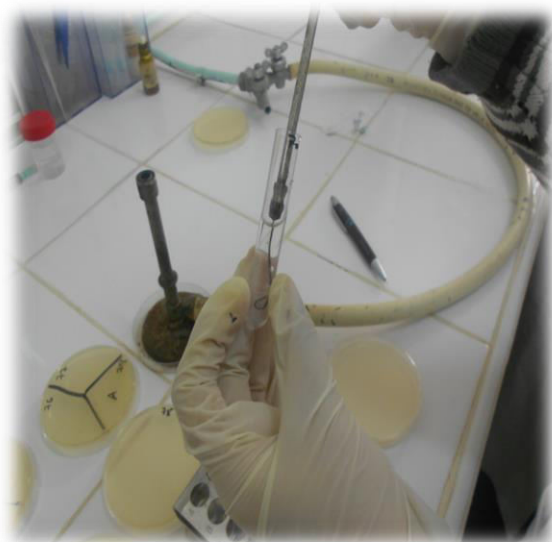


Figure N°09 : L'antibiogramme

IV-5-6-3-Etude de cas N°2 :

- Le Prélèvement n°2:
 - le nom : H
 - Le prénom : A

[Tapez le titre du document]

-Age: 27 ans.

En répète la même méthode de manipulation précédente

Chapitre : V résultats et discussions

V-Résultats de spermogramme :

Tableau N°03: Azoospermie

	3eme cas 42ans	7eme cas 28ans	10eme cas 35 ans
VOLUME	0,5ML	1ML	0,5ML
PH	7	8	7
Viscosité	-	-	-
Couleur	Blanchâtre	Blanchâtre	Blanchâtre
Odeur	Aucun	aucun	aucun
Numération	00 Millions	00 Millions	00 Millions
Mobilité	00%	00%	00%
Morphologie	0 Spermatozoïde microcéphale 0 Spermatozoïde macrocéphale 0 Spermatozoïde agglutiné		
Leucocytes	Normale		

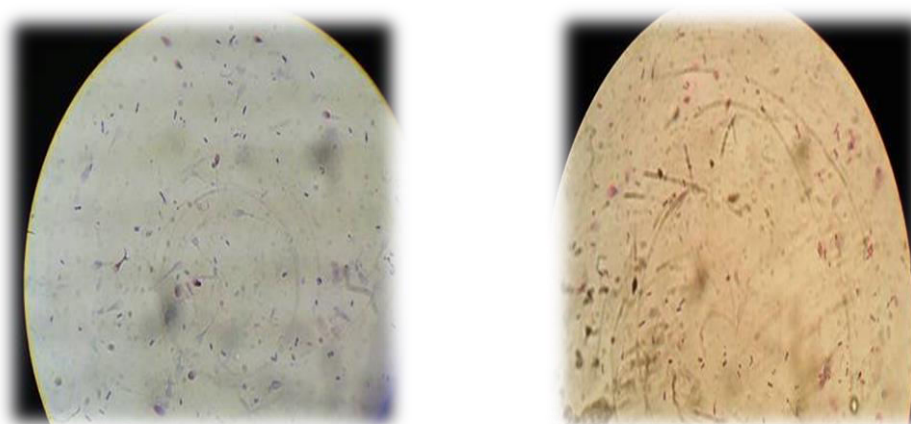


Figure N°10 : Azoospermie

Tableau N°04: Asthénospermie

α	2eme cas 27ans	4eme cas 40 ans	5eme cas 25 ans	8eme cas 31 ans
VOLUME	2	4	5	8
PH	9	8	9	9
Viscosité	+	+	+	
Couleur	Jaunâtre	jaunâtre	Blanchâtre	jaunâtre
Odeur	Aucun	Aucun		
Numération	5 Millions	4 Millions	3 Millions	5 Millions
Mobilité	35%	30%	<25%	<20%
morphologie	Spermatozoïde microcéphale 30%	Spermatozoïde macrocéphale 25%	Spermatozoïde agglutiné 20%	Spermatozoïde macrocéphale 30%
Leucocytes	- - -	- - -	- - -	+++

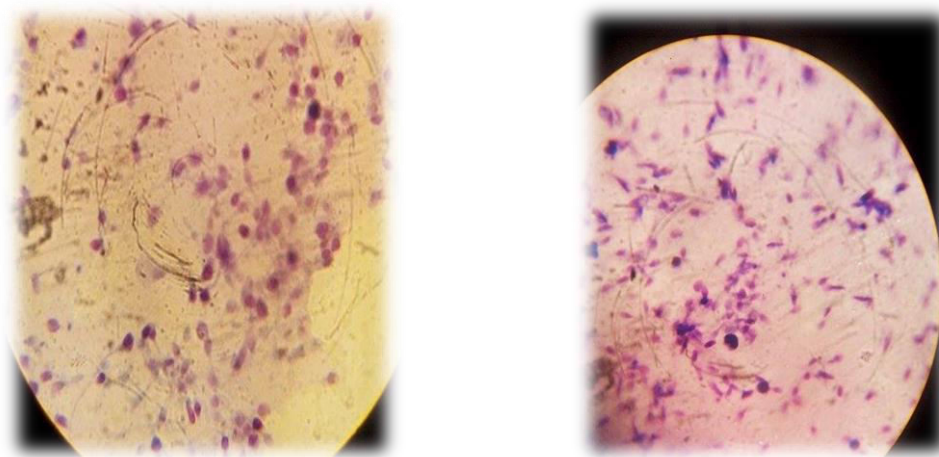


Figure N°11: Asthénospermie

	1^{er} cas 32 ans	6eme cas 50 ANS	9eme cas 25ans
VOLUME	5ML	6ML	4 ML
Ph	7	9	7
Viscosité	+	+	+
Couleur	Jaunâtre	Jaunâtre	Jaunâtre
Odeur	Fétide	Fétide	Fétide
Numération	05 MILLIONS	0Millions	02 millions
Mobilité	<25% 100%	<20% 100%	<27% 100%
Morphologie	Spermatozoïde agglutiné 10%	Spermatozoïde microcéphale 30%	Spermatozoïde macrocéphale 18%
Leucocytes	++++		

Tableau N°05 : Oligoasthénospermie

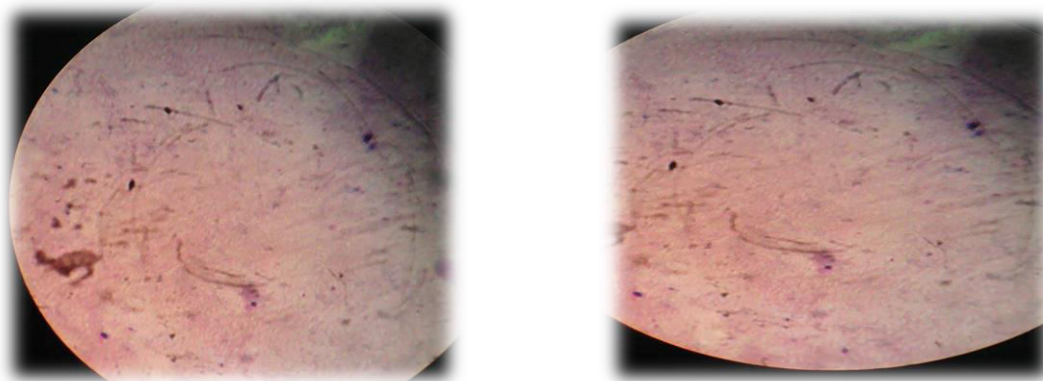


Figure N°12: Oligoasthénospermie

V-1-Spermoculture

Tableau N°06: Résultats de l'étude macroscopique

	La forme	La couleur	La taille	L'aspect de la surface
1 ^{ere} cas 32 ans	Arrondi	Jonatre	3 à 4 mm	Bombé opaque à contour net
2 ^{eme} cas 27 ans	Arrondi	Blanchatre	2 à 3 mm	Humide et briant
3 ^{eme} cas 42 ans	Bord irrégulier	Transparente	0.5 à 1 mm	Bombé régulier
4 ^{eme} cas 40 ans	des boites stériles			
5 ^{eme} cas 25 ans	des boites stériles			
6 ^{eme} cas 50 ans	Arrondi	Jonatre	3 à 4 mm	Bombé opaque à contour net
7 ^{eme} cas 28 ans				
8 ^{eme} cas 31 ans	Arrondi Bords irréguliers	Jonatre Bleu vert	3 à 4 mm 2 à 3 mm	Bombé opaque à contour net brillantte
9 ^{eme} cas 25 ans	Arrondi	Jonatre	3 à 4 mm	Bombé opaque à contour net
10 ^{eme} cas 35 ans	des boites stériles			

Tableau N°07 : Résultats de l'étude microscopique.

	L'état frais	Après coloration du Gram
1 ^{ere} cas 32 ans	Culture positive : présence de germe immobile	Les bactéries dites gram positif, colorées en violet, présentent se forme des cocci.
2 ^{eme} cas 27 ans	Culture positive : présence de germe mobile	Les bactéries dites gram négative, colorées en rose, présentent se forme des cocci bacille .

[Tapez le titre du document]

3 eme cas 42 ans	Culture positive : présence de germe immobile	Les bactéries dites gram positif, colorées en violet, présentent se forme des coccis
-----------------------------------	---	---

6 eme cas 50 ans	Culture positive : présence de germe immobile	Les bactéries dites gram positif, colorées en violet, présentent se forme des coccis
-----------------------------------	---	---

7 eme cas 28 ans	Culture positive : présence de germe immobile	Les bactéries dites gram positif, colorées en violet, présentent se forme des coccis
-----------------------------------	---	---

8 eme cas 31 ans	Culture positive : présence de germe immobile et imobile	Les bactéries dites gram négative, colorées en rose, présentent se forme des bacilles et Les bactéries dites gram positif, colorées en violet, présentent se forme des coccis
-----------------------------------	--	---

9 eme cas 25 ans	Culture positive : présence de germe immobile	Les bactéries dites gram positif, colorées en violet, présentent se forme des coccis
-----------------------------------	---	---

9 eme cas 25 ans	Culture positive : présence de germe immobile	Les bactéries dites gram positif, colorées en violet, présentent se forme des coccis
-----------------------------------	---	---

Tableau N°8 : les testes biochimiques :

Teste souches	TSI					Catalase	cit	Man	Mob	Oxydase
	G	L	S	G'	H					
1 ere cas 32 ans	+	+	+	/	-	+	/	+	-	-
2 eme cas 27 ans	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-
3 eme cas 42 ans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6 eme cas 50 ans	+	+	+	/	-	+	/	+	-	-
7 eme cas 28 ans	+	+	+	/	-	+	/	+	-	-
8 eme cas 31 ans	-	-	-	-	-	+		-	-	+
	+	+	+	/	-	+	/	+	-	-
9 eme cas 25 ans	+	+	+	/	-	+	/	+	-	-

G : glucose

L : lactose

S : saccharose

cit : citrate de Simmon

man : mannitol

mob : mobilité.

+ : positive

- : négative

Tableau N°09 :L'Antibiogramme

Les germes	L'antibiotique	Résulta
<i>Staphylococcus aureus</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Gentamycine - Bactrime - Pristinamycine - Tetramycine - Erythromycin 	<ul style="list-style-type: none"> - 25mm - 20 mm - 15 mm - 15 mm - IM (intermédiaire) -
<i>Escherichia coli</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Gentamycine - Bactrime - Pristinamycine - Tetramycine - Erythromycin 	<ul style="list-style-type: none"> - 20 mm - 15 mm - 12 mm - Résistant - Résistant
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Gentamycine - Bactrime - Pristinamycine - Tetramycine - Erythromycine 	<ul style="list-style-type: none"> - 12 mm - Résistant - Résistant - Résistant - Résistant
<i>Stréptococcus</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Gentamycine - Bactrime - Pristinamycine - Tetramycine - Erythromycine 	<ul style="list-style-type: none"> - 18 mm - 15 mm - 20 mm - IM (intermédiaire) - 10 mm

V-2-L'interprétation des résultats :

➤ Pour les patients suivants :

1 ere cas (32 ans), 6 eme cas (50 ans) et le 9 eme cas (25 ans) les résultats de ces spermogramme montre des oligoasthénospermie comme de suivant :

- Volume : 5 ml pour le 1 er cas , 6 ml pour le 6 eme cas et 4 ml pour le 9 eme cas .
- PH :8 , La viscosité : (+) , la couleur jaunâtre et l'odeur fétide pour les 3 patients .
- La mobilité : 1 er cas < à 25% , 6 eme cas < à 20 % et le 9 eme cas < à 27%

- Numération : 5 million pour 1 er cas , 6 eme cas 4 million et 9 eme cas 2 million, présence des leucocytes.

La culture de ces prélèvements montre des résultats sur des milieux de culture usuels (GN, GS, BCP, Chapman, et le sabourand) l'isolement montre des colonies arrondis de couleur jaunâtre, cultures positives présence des germes immobiles sous formes des coccis a Gram positives pour les 3 patients.

V-2-1-'identification biochimique :

- Les germes présents dans les 3 cas dégrade (le glucose, saccharose et le lactose) catalase et mannitol sont positive par contre l'oxydase négative.
- Enfin, après tous les analyses bactériologiques le germe a isolé c'est le *staphylococcus aureus* le responsable d'une stérilité masculine chez les 3 patients 1 er cas (32 ans), 6 eme cas (50 ans) et le 9 eme cas (25 ans).

➤ Pour les patients :

2 eme cas (27 ans), 4 eme cas (40 ans), 5 eme cas(25 ans) et le 8 eme cas (31 ans) : les résultats de spermogramme montre que les patients des Asthénospermies , leur résultats comme suivant :

- Le volume : 2 eme cas 2 ml , 4 eme et 8 eme cas 4 ml et pour le 5 eme cas 5 ml.
- PH généralement 9
- La viscosité une (+) pour tous les cas, l'odeur aucun, la numération entre 3 million et 5 million.
- La mobilité < à 35% pour 2 eme cas et 25% 4 eme cas , le 5 eme cas et 8 eme cas la mobilité est < à 20%.
- Les leucocytes : absence totale chez le 2 eme, 4 eme et le 5 eme cas, pour le 8 eme cas présence de nombreux leucocyte.

La spermoculture de ces prélèvements sur les milieux de culture usuel montre des colonies arrondis avec une couleur jaunâtre , culture positive présence des germes mobiles sous forme des coccis bacilles à Gram négative pour le 2 eme cas.

L'isolement de 8 eme cas montre des colonies arrondis avec une bords irrégulière, la couleur jaunâtre pour la plus part des colonies et bleu vert pour le reste, culture positive présence des germes mobiles et immobiles (des bactéries colorés en rose présentent sous forme des bacilles sont des Gram négative et d'autres bactéries colorés en violet présentes sous forme des coccis sont des Gram positive.

- L'isolement de 4 eme et 5 eme cas des cultures négatives (on à des boites stériles).
- L'identification (les tests biochimique) :

2 eme cas les tests (glucose, saccharose et le lactose) sont positifs par contre le Catalase , Citrate de Simmon et le Mannitol sont négatifs.

Le 8 eme cas ; on à deux bactéries , la bactérie a Gram positif dégrade (glucose, saccharose et le lactose) aussi le catalase et le mannitol sont positifs .

La bactérie a Gram négative les tests (glucose, saccharose et le lactose) sont négatifs par contre le catalase et l'oxydase sont positifs .

Après tous les analyses bactériologiques les germes que nous avons trouvés dans les prélèvements sont :

- 2 eme cas : *Escherichia coli* responsables d'une stérilité masculine.
 - 8 eme cas : *pseudomonas* et *staphylococcus aureus* une association de deux germes responsables d'une stérilité masculine
 - La cause d'une stérilité masculine chez le 4 eme et le 5 eme cas sont origine ce n'est pas l'infectieuse (hormonale ou environnement).
- Pour les patients : 3 eme cas (42 ans), 7 eme cas(28 ans) et le 10 eme cas(35 ans) ;

Les résultats de spermogrammes montre que les patients ces des azoospermies (absence total des spermatozoïdes dans le sperme).

Et pour La culture sur les milieux usuels on à des résultats positifs pour le 3 eme et le 7 eme cas par contre le 10 eme les résultats sont négatives (des boîtes stériles).

- Le 3eme cas on a des colonies à bord irrégulière transparente, culture positive présence des germes immobiles coccis a Gram positif, les tests biochimique confirme que le germe isolé c' est le streptocoque.
- Le 7 eme cas : on observe des colonies arrondis de couleur jaunâtre, cultures positives présence des germes immobiles sous forme des coccis a Gram positive.
- Après l'identification biochimique le germe isolé c'est le *staphylococcus aureus* responsable d'une stérilité masculine.

Conclusion

Conclusion :

Le problème de l'infertilité masculine est devenu une cause importante dans la stérilité des couples.

Pour cela devant toute stérilité d'une couple, essayé toujours de commencé à explorer le sexe masculin.

Annexes 1

Gélose Mueller-Hinton

- infusion de viande de bœuf :300,0 ml
- peptone de caséine :..... 17,5 g
- amidon de maïs :..... 1,5 g
- agar :..... 17,0 g
- pH =7,4

Annexes 2

La gélose de au pourpre de bromocrésol

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone.....5,0 g
- Extrait de viande3,0 g
- Lactose10,0 g
- Pourpre de bromocrésol.....25,0 mg
- Agar agar bactériologique.....13,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,0 ± 0,2.

Annexes 3

La gélose de Sabouraud

- Peptone.....10 g
- Glucose massé.....20 g
- Agar-agar.....15 g

-Eau distillée (qsp).....1000 ml

Annexes 4

Le Gélose nutritive

-Peptone.....5g ;

-Extrait de viande.....3g;

-Extrait de levure.....1g

-Na Cl.....1g;

-Agar-agar.....15g /1L.

-L'eau distillé compléter1000ml ; pH=7.

Annexes 5

La gélose Chapman

-Peptone10g

-Extrait de viande de bœuf1 g

-Chlorure de sodium.....75g

-Mannitol10g

-Rouge de phénol.....0,025g

-Agar-agar :.....15g

-Eau distillée :.....1 Litre

-pH = 7.

Annexe6

-L'antibiogramme :

10.1-Définition d'antibiotique :

Est une substance antimicrobienne d'origine biologique, qui est capable d'inhiber la multiplication ou la lyse entière des bactéries

L'action de cet antibiotique sur une souche bactérienne aboutit à deux états :

- l'arrêt de la multiplication des bactéries (effets bactériostatique)
- La destruction des bactéries (effet bactéricide)

10.2-Définition d'antibiogramme :

C'est un qui consiste à provoquer la capacité d'un antibiotique d'inhiber la croissance d'un germe.

On les met en contact l'un de l'autre durant une période normale de croissance

La méthode consiste à utiliser les petits disques de papier imbibé d'antibiotique et ont déposé sur la gélose

Il suffit de noter après 24H d'incubation, s'il y'a une zone d'inhibition de croissance autour de l'antibiotique pour en apprendre son efficacité

Technique :

- Méthode de diffusion en milieu solide :

Cette méthode consiste à utiliser des petits disques de papier imbibe d'antibiotique avec une pince métallique ou à l'aide d'un distributeur, sur une

Gélose milieu Mueller-Hinton, après avoir ensemence la gélose par une suspension bactérienne, on laisse sécher 15mn à 37c°. Il faut déposer les disques à 15 min de la périphérie de la sans oublier d'appuyer légèrement pour assurer le contact avec les milieux, incuber ensuite à 37c° pendant 24H.

- La lecture :

La lecture de traduit par diffusion dans le milieu en créant soit une zone d'inhibition autour du disque soit sensible, soit résistant, on mesure le diamètre de la zone avec le pied à coulisse

BIBLIOGRAPHIE

- (1)- Schill, W.-B. ; Comhaire, F.H. ; Hargreaves, T.B. (Réd.) Traité d'andrologie à l'usage des cliniciens. Traduction française, R.Mieusset, 2008.Springer, Paris
- (2)- Sites thématiques de l'Agence de la Biomédecine:
 - procreationmedicale.fr
 - dondovocytes.fr
 - dondespermatozoides.fr
- (3)- Berg U, Brucker C, Berg FD (1997). Effect of motile sperm count after swim-up on outcome of intrauterine insemination. *Fertile Sterile*, 67, 4, 747-50.
- (4) - Auger J, Mesbah M, Huber C, Dadoune JP. Aniline blue staining as a marker of sperm chromatin defects associated with different semen characteristics discriminates between proven fertile and suspected infertile men. *Int J Androl*. 1990 ;13 : 452-62
- (5)- Chemes EH, Rawe YV. (2003). Sperm pathology : a step beyond descriptive morphology. Origin, characterization and fertility potential of abnormal sperm phenotypes in infertile men. *Hum Reprod Update*. 9, 405-428.
- (6) -M.Catala. Embryologie: Développement précoce chez l'humain, 2006,3ème ed .Abrégé Masson éditeur.
- (7)-C. Thibault, M.C. Levasseur. La reproduction chez les mammifères et l'homme. Nouvelle édition entièrement fondue et mise à jour, 2001, Ellipses Marketing Editions.
- (8)_E.Knobille, J.D.Neill, eds .The Physiology of Reproduction .New York : Raven Press;1994
- (9)-Perreault S.D. and Rogers B.J. (1982) Capacitation pattern of human spermatozoa. *Fertil. Steril.*, 38,258-260.
- (10) - C. Patrat, C.Serresand P. Jouannet. The acrosome reaction in human spermatozoa. *Biology of the Cell* 2000, 92,255–266
- (11)- [Wassermann nPM.\(1999\)Mammalian fertilization: Molecular Aspects Gamete adhesion,exocytosis and fusion.](#) *Cell* 96 :175-183
- (12)-Kamischke A et Nieschlag E. (2002) Update on medical treatment of ejaculatory disorders, *Int. J. Androl.*, 25,333-344.
- (13)-Jouann et PetSoumahA, Ejaculation retrograde et fertilité, dans «L'éjaculation et ses perturbations» J Buvat et P Jouannet édés, pp 62-68, SIMEP, Lyon1984.

- (14)- [Makler A, David, Blumenfeld Z et Better OS, Factors affecting sperm motility, VII: Sperm viability as affected by change of pH and osmolarity of semen and urine specimens. Fertile. Sterile. 1981, 36,507-511.](#)
- (15)- Liu DY and Baker HW (1994). Macrodome status and morphology of human spermatozoa bound to the zona pellucida and oolemma determined using oocytes that failed to fertilize in vitro. Hum. Reprod. 9,673-9.