

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE DJILLALI LIABES-SIDI BEL ABBES
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE (SNV)
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

THÈSE

En vue de l'obtention du diplôme de

DOCTORAT EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité : Sciences Biologiques

Option : Biologie et physiopathologie de la reproduction

INTITULÉ

Déclin de la qualité du sperme humain et prise en charge thérapeutique de L'infertilité masculine dans l'Ouest algérien

Présentée par **M^{me} EL-HAINA Fatima Zohra**

Soutenue le /12/2016

Devant le jury composé de

Président	: M ^{me} ZAHZEH Touria	Professeur, UDL SIDI-BEL-ABBES
Examineurs	: M ^{me} AIT HAMADOUCHE Nadia	Professeur, Université d'Oran 1
	: M ^r SLIMANI Miloud	Professeur, Université de Saida
Directrice de thèse	: M ^{me} BENDAHDJANE Malika	Professeur, UDL SIDI-BEL-ABBES

Année universitaire : 2016-2017

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier notre Dieu tout puissant qui ma donné la patience et le courage pour la réalisation de ce travail.

Je témoigne en premier lieu ma énorme gratitude à mon Directeur de recherches *Pr BENDAHMANE Malika* pour m'avoir encadré et dirigé ce travail, pour sa patience, sa confiance et surtout pour ses précieux et judicieux conseils « Je dirai que c'est très peu de dire que j'ai beaucoup appris de vous».

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements et mon profond respect tout particulier au *Pr ZAHZEH Touria* pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury.

Je tiens à remercier *Pr AIT HAMADOUCHE Nadia*, *Pr SLIMANI Miloud* pour avoir accepté de faire partie de mon jury, mais surtout pour la qualité du jury. Toute ma reconnaissance et remerciements vont à *Pr KANDOUCI Baderdine* pour son accueil très chaleureux qu'il ma réservé au sein de son laboratoire et l'équipe de recherche.

Mes remerciements vont également aux médecins du service d'Anatomopathologie de CHU de SBA et aux médecins et biologistes du service Biologie de la Reproduction (laboratoire de fertilité) CHU Rijnland Leiderdorp au Pays -Bas.

J'exprime enfin, toute ma gratitude à nos enseignants du Département de Biologie pour la qualité de l'enseignement qu'ils nous ont prodigué au cours de notre cursus universitaire.

DEDICACES

Aux plus chères personnes du monde mes parents à qui je dois mon éducation et ma réussite. Que Dieu les garde pour moi en bonne santé

A mon marié qui ma beaucoup soutenu et encouragé tout au long du parcours universitaire

A mes enfants et ma sœur

*A toute ma grande famille oncles, tantes, cousins et cousines
et à tous mes amis(es)*

Fatima Zohra

RESUME

L'infertilité est un réel problème majeur de santé publique, elle concernerait 80 Millions de personnes dans le monde et 15% de la population Algérienne. Notre travail de recherche concerne une étude prospective et rétrospective réalisée entre 2000 et 2015 sur 188 jeunes partenaires âgés de 25 à 35 ans venant au service de Gynécologie du CHU de Sidi-Bel-Abbès pour explorer leur problème de conception. L'objectif principal a été de mesurer les changements opérés au niveau des paramètres spermatiques chez ces jeunes partenaires dans la région Ouest de l'Algérie au cours de cette dernière décennie. L'évaluation de la qualité de sperme chez ces jeunes hommes a permis de révéler un déclin des principaux paramètres spermatiques à savoir : la concentration des spermatozoïdes (-3.43% /an) et la morphologie normale du spermatozoïde (-1.05% /an) ($p < 0.0001$), par contre, une augmentation moyenne concomitante du nombre total de spermatozoïdes mobiles ($+5,8 \times 10^6$ /an), de la motilité progressive relativement rapide (+0.27%/an) ($p < 0.0001$) et du volume moyen de sperme (+0.1mL/an) a été notée. L'effet de l'environnement sur la fonction de reproduction est l'une des hypothèses principales évoquées pour expliquer ce phénomène. En effet, la recherche des causes de l'infertilité masculine a été également effectuée chez un autre groupe de patients (n=149) âgés de 25 à 55 ans grâce à une série d'examens: le spermogramme, le spermocytogramme, la spermoculture et le dosage hormonal. Les résultats obtenus de l'étude cytologique ont permis de révéler une prédominance de l'oligoasthénospermie (26.17%), le dosage hormonal de FSH nous précise l'origine de l'azoospermie dont 3.35% sécrétoire et 1.34% excrétoire. Une relation linéaire a été établie entre la présence des anomalies des spermatozoïdes et les facteurs de risques à savoir : le tabagisme (62.4%), le stress (10.7%) et la chaleur (3.35%). Certains antécédents médicaux tels que les oreillons (24.83%), la varicocèle (19.46%) et infections (31.54%) ont été également incriminés. Ces facteurs seraient vraisemblablement impliqués dans le dérèglement du processus de fabrication de spermatozoïdes. Quant aux résultats de la deuxième étude montrent que le taux de succès de l'insémination artificielle avec sperme du conjoint (IAC) (taux de grossesse /cycle) proposée aux couples infertiles suivis dans un centre médical Algérien et Hollandais est légèrement élevé chez les patientes Hollandaises (27.45%) par rapport à celui des algériennes (24.61%) et ceci lorsque le nombre de spermatozoïdes mobiles progressifs inséminés est supérieur à 2.2 millions mL⁻¹. En conclusion, la prise en charge thérapeutique des couples infertiles réside dans l'évaluation des connaissances de

Mots clés : Infertilité, Paramètres spermatiques, Facteurs de risque, Insémination artificielle, Prise en charge.

Abstract

Infertility is a major public health problem affecting 80 million people in the world and 15% of the Algerian population. Our research project involves a prospective, retrospective study carried out between 2000 and 2015 on 188 young partners patients aged 25 to 35 years who are exploring their conception problem at the Gynecology department of Hospital University of Sidi-Bel-Abbes. The main objective was to measure the changes in sperm parameters in these young partners in the western region of Algeria during the last decade. The results of sperm quality evaluation revealed a decline in sperm concentration (-3.43%/year) and in normal sperm morphology (-1.05%/year) ($p < 0.0001$), concomitant with an average increase in the number of mobile spermatozoa ($+5.8 \times 10^6$ /year), and in relatively rapid progressive motility (+0.27%/year) ($p < 0.0001$) and in sperm volume (+0.1 mL/year). The impact of the environment on reproductive function is one of the main hypotheses to explain this phenomenon. The research of the causes implicated in male infertility was also sought in another group of patients ($n=149$) aged from 25 to 55 years study showed a predominance of oligoasthenospermia (26.17%), the hormonal dosage of FSH informed us the origin of azoospermia of which 3.35% are secretary and 1.34% excretory. A linear relationship was established between the presence of sperm abnormalities and risk factors such as: tobacco smoking (62.4%), stress (10.7%) and heat (3.35%). Some medical history such as mumps (24.83%), varicocele (19.46%) and infections (31.54%) were also incriminated. These factors are likely to be involved in the dysregulation of the sperm production process. The results of the second study showed that the rate of success of artificial insemination with sperm of the spouse (IAC) proposed to the infertile couples followed in Algeria and Neetherland medical Center is slightly high in the Dutch patients (27.45%) compared to that of Algerians (24.61%) and this when the number of inseminated progressive spermatozoa is greater than 2.2 million mL^{-1} .

In conclusion, the health care management of infertile couples resides in the evaluation of the knowledge of these couples on the infertility causes by precocious and precise investigations.

Key words: Infertility, Spermatic parameters, Risk factors, Artificial insemination, health care management.

Partie
Bibliographique

Chapitre 9

La fonction génitale male

I. Rappel anatomique sur l'appareil reproducteur mâle

L'appareil reproducteur mâle assure la production et la maturation des gamètes mâles (les spermatozoïdes). Il comprend deux gonades ou testicules, les conduits excréteurs, les gonades annexes et le pénis (Encha-Razavi et *al.*, 2012).

I.1. Le testicule

I.1.1. Description

Le testicule a une forme ovoïde pesant 20 grammes environ. Ils ont une consistance ferme rénitente, sa surface est lisse et régulière et reliée à la cavité abdominale par le cordon spermatique. C'est une glande mixte dont la sécrétion exocrine est constituée d'un fluide et de cellules (les spermatozoïdes) élaborés et sécrétés au niveau des tubes séminifères. Les cellules de Leydig qui synthétisent les androgènes sont responsables de la sécrétion endocrine du testicule (Netter, 2010).

Le testicule est entouré de plusieurs enveloppes (fig.1) (Menche, 2014) :

- Le scrotum qui est une fine couche cutanée parsemée de poils épais et de glandes sudoripares. Il est parcouru par une vascularisation sanguine et lymphatique bien développée ;
- Le dartos est une couche de fibres musculaires lisses située sous le scrotum. Le dartos et le scrotum jouent un rôle important dans la thermorégulation testiculaire ;
- La vaginale est un sac d'origine péritonéale entourant tout le testicule sauf au niveau de la zone de contact avec l'épididyme ;
- L'albuginée forme une coque conjonctive fibreuse, épaisse et inextensible limitant le tissu testiculaire.

Le parenchyme testiculaire est cloisonné par des parois conjonctives issues de l'albuginée délimitant 200 à 300 lobules testiculaires (Kugler, 2014).

I.1.2. Les cellules somatiques du testicule

Les cellules somatiques constituent les tubes séminifères entourés d'un tissu conjonctif lâche formant un espace entre les tubes constituant des cellules appelés : cellules de Leydig (Perlemuter et *al.*, 2006).

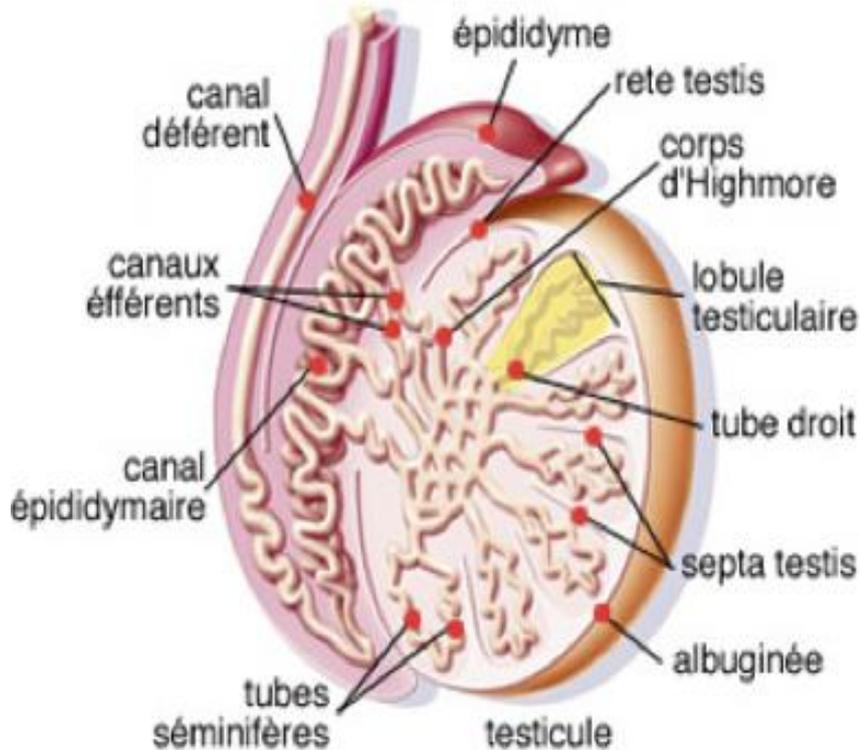


Fig.1 : Organisation anatomique du testicule
(Menche, 2014)

I.1.2.1. Les tubes séminifères

Chacun des lobules spermatiques peut contenir entre un et quatre tubes séminifères. Ces tubes sont sinueux et entassés, sauf au voisinage du corps de Highmore, où ils se redressent pour former les tubes droits qui, bien que contenus dans le testicule, sont considérés comme faisant partie des voies spermatiques.

C'est au niveau des tubes séminifères que se déroule la fabrication des spermatozoïdes. Leur paroi est constituée d'un épithélium reposant sur la membrane basale. Celle-ci est recouverte extérieurement, par une mince couche de tissu conjonctif fibroblastique : il s'agit des cellules myoïdes (Perlemuter et *al.*, 2006).

Seul l'examen microscopique révèle sa nature histologique (fig.2) (Hould, 1982) : c'est un épithélium fait de plusieurs rangées concentriques de cellules très intriquées, avec une lumière centrale délimitée par la dernière couche de cellules épithéliales représentant les ultimes stades de maturation (Lansac et *al.*, 2007).

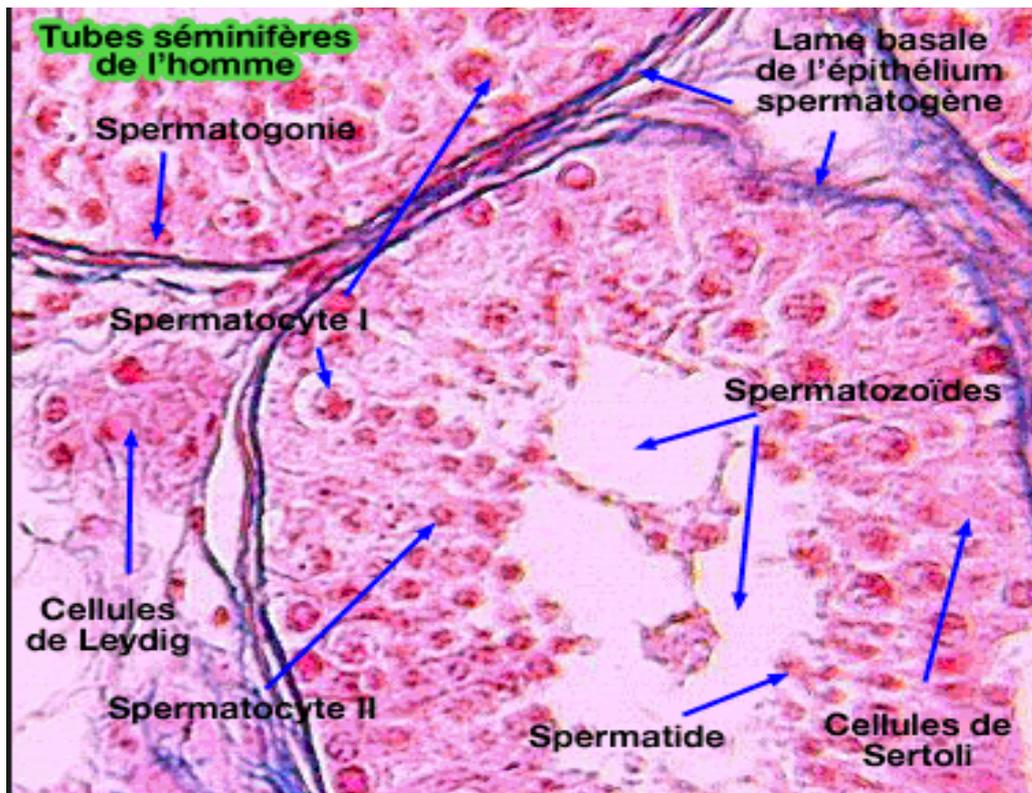


Fig.2 : Structure histologique des tubes séminifères (G.x1000)
(Hould, 1982)

I.1.2.2. Les cellules de Leydig

Elles sont regroupées en amas autour des vaisseaux sanguins ou à la périphérie des tubes séminifères. Ce sont des cellules endocrines dont le rôle principal est d'élaborer la testostérone à partir du cholestérol présent dans leur réticulum endoplasmique lisse et leurs mitochondries à crêtes tubulaires (Menche, 2014).

I.1.2.3. Les cellules de Sertoli

Ce sont des cellules de forme allongée et irrégulière, qui sont en contact à la fois avec la membrane basale par leur pôle proximal et avec la lumière par leur pôle apical (Binder et *al.*, 2015). Elles jouent un rôle de soutien, de protection et de nutrition auprès des cellules de la lignée germinale. On croit également qu'elles assurent la phagocytose des débris laissés par les cellules germinales au cours de la spermatogenèse et qu'elles élaborent une protéine qui est une hormone antimüllérienne, l'inhibine, la protéine liant les androgènes et le fluide testiculaire

a) Les Tubes Droits

Les tubes droits sont des fins canaux d'un millimètre de long dont la lumière est bordée par un épithélium cubique simple le plus souvent non différencié. Les tubes séminifères d'un lobule donné se réunissent ensuite pour former un tube droit. Celui-ci comme son nom l'indique, suit un trajet rectiligne et pénètre directement dans le corps de Highmore pour se jeter dans un réseau anastomosé de canaux appelé le rete testis (Binder et *al.*, 2015).

b) Le Rete Testis

Le rete testis est un réseau de canaux à calibre irrégulier. Il apparaît comme une valve en forme d'éponge dont les parois faites de cellules myoïdes et d'une matrice fibroblastique fourniraient un mécanisme de micro-contrôle de la circulation (Bromfield et *al.*, 2014).

c) Les canaux efférents

Les canaux du rete testis fusionnent en une douzaine de canaux efférents très sinueux qui, sortant du corps du Highmore, viennent constituer une partie importante de la tête de l'épididyme. L'ensemble de chacun d'entre eux est appelé cône efférent, puisque le trajet en spirale qu'ils suivent imprime à chacun d'entre eux la forme d'un triangle, dont l'apex est dirigé vers le corps de Highmore et la base vers le haut de la tête de l'épididyme (Binder et *al.*, 2015).

Leur lumière est bordée par un épithélium constitué de 3 types cellulaires des cellules ciliées, des cellules basales et des cellules présentant des micro villosités capables d'endocytose active. Ils ont avant tout une activité de réabsorption du fluide présent dans la lumière (Buvat et *al.*, 2010).

d) Le canal épидидymaire

Le canal épидидymaire est un fin canal de 400 à 500 μm de diamètre et de 5 à 6 mètres de long. Il est pelotonné le long du testicule. On distingue trois zones : la tête, le corps et la queue. La lumière est bordée par un épithélium prismatique pseudostratifié.

L'épithélium épидидymaire peut sécréter des protéines, des glycoprotéines, des stéroïdes, de la glycérophorylcholine. Il peut accumuler de la carnitine à partir du sang et de la faire passer dans le fluide épидидymaire. Ces propriétés multiples qui

s'expriment à des niveaux différents sont en général sous contrôle androgénique. Les cellules principales présentes dans l'épithélium de la tête épидидymaire contiennent une enzyme 5 α réductase qui est impliquée dans la synthèse du dihydrotestostérone à partir de la testostérone qui leur est fournie soit par voie sanguine soit par le fluide testiculaire (Bromfield et *al.*, 2014).

e) Le canal déférent

Il mesure 40 cm de long, il contient tous les organites nécessaires pour la synthèse des protéines. Il joue un rôle dans l'acidification du plasma séminal par le biais des mitochondries. Les canaux déférents droit et gauche remontent dans l'abdomen par le canal inguinal, se dilatent en ampoule, en arrière de la vessie, reçoivent les vésicules séminales et deviennent alors les canaux éjaculateurs. Ceux-ci traversent ensuite la prostate et débouchent dans l'urètre. Ce dernier, après avoir reçu les canaux déférents, devient un canal commun à l'urine et au sperme (Menche, 2014).

f) Le canal éjaculateur

Il est constitué par la jonction du canal déférent et du canal excréteur de la vésicule séminale. Il traverse la prostate et ensuite se déverse dans l'urètre prostatique. Sa paroi est la continuation simplifiée de celle de l'ampoule du canal déférent. L'épithélium est prismatique simple ou pseudostratifié. La muqueuse présente les mêmes replis anastomosés qu'au niveau de l'ampoule mais ils sont moins nombreux (Garolla et *al.*, 2016).

g) L'urètre membraneux

Il reçoit les glandes de Cowper, parcourt le corps spongieux du pénis et devient alors l'urètre spongieux qui s'ouvre à l'extrémité du gland (Bromfield et *al.*, 2014).

h) L'urètre spongieux

Il est entouré de deux sphincters musculaires ; l'un à la sortie de la vessie, l'autre à la sortie de la prostate (Menche, 2014).

I.3. Les glandes annexes

I.3.1. La prostate

C'est un organe musculoglandulaire compact entourant la base de la vessie. Elle mesure 3 à 4 cm de diamètre et pèse environ 20 grammes.

La prostate a deux fonctions :

- Une fonction mécanique d'excrétion grâce à deux sphincters ; un sphincter lisse en forme d'entonnoir situé à la jonction uréthro-vésicale et un sphincter strié situé sous la prostate. Ces deux sphincters contrôlent l'excrétion de l'urine et du sperme ;
- Une fonction sécrétoire grâce à une cinquantaine de glandes tubulo-alvéolaires dont les canaux excréteurs s'ouvrent indépendamment dans l'urètre (Larsen et *al.*, 2007).

I.3.2. Les vésicules séminales

Se sont des glandes allongées de 5 à 10 cm de long et 1 à 2 cm de large situées derrière la vessie. La sécrétion vésiculaire est volumineuse, représentant environ les 2/3 du volume du sperme (2.5 ml). Elle contient une quantité importante de substances réductrices dont un sucre précieux : le fructose qui peut servir de marqueur spécifique de la sécrétion vésiculaire. La fonction des vésicules séminales est contrôlée par les androgènes comme celle de la prostate (Larsen et *al.*, 2007).

I.3.3. Les glandes bulbo urétrales ou glandes de Cowper

Sont situées à l'union de l'urètre membraneux et de l'urètre spongieux. Elles sont analogues aux glandes de Bartholin chez la femme, elles sécrètent un fluide muqueux qui aurait un rôle lubrifiant de l'urètre au moment des rapports sexuels.

I.4. L'organe d'accouplement

La verge ou le pénis est un organe érectile impair et médian entourant l'urètre situé en bas de l'abdomen au-dessous du pubis, devant le scrotum (fig.4) (Bommas-Ebert et *al.*, 2008).

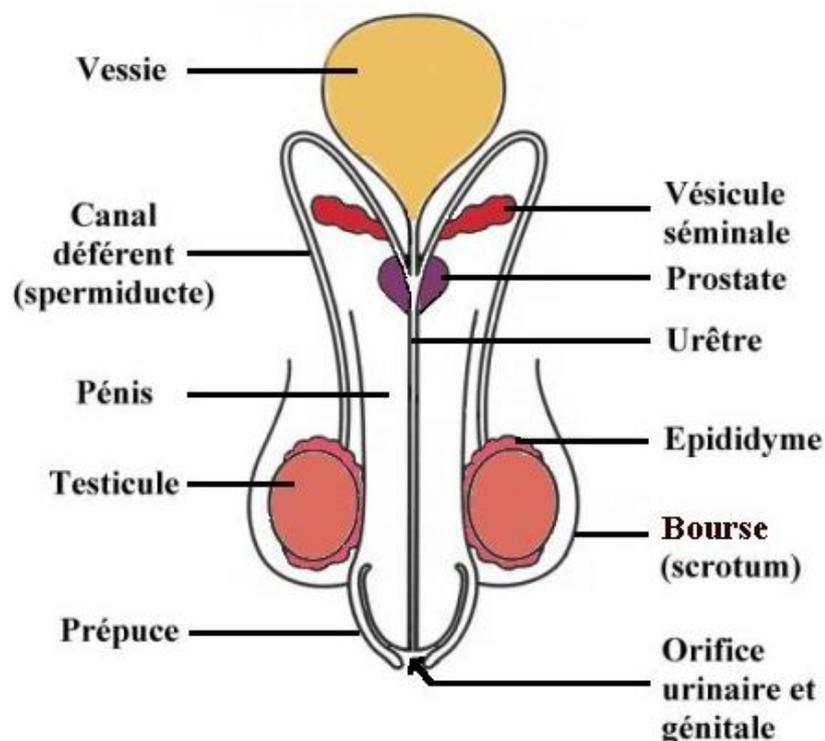


Fig.4 : Vue postérieure de l'appareil génital de l'homme
(Bommas-Ebert et *al.*, 2008)

II. Les étapes de la spermatogenèse

La spermatogenèse est une fonction exocrine du testicule qui consiste à la fabrication des spermatozoïdes, elle comprend 2 étapes : la spermatogenèse proprement dite et la spermiogenèse.

II.1. La spermatogenèse

Elle se déroule dans les tissus séminifères et comprend 3 phases spécifiques : phase de multiplication, d'accroissement et de maturation.

II.1.1. La phase de multiplication

La spermatogenèse est un processus continu commençant dès la vie foetale, il devient très actif à la puberté et se poursuit jusqu'à la sénescence. Les spermatogonies, diploïdes, se divisent par mitoses et augmentent leur nombre. Certaines de leurs cellules filles demeurent cellules souches à la base de l'épithélium du tubule séminifère; leur chromatine est condensée. D'autres cessent de se diviser et sont repoussées vers l'apex de l'épithélium; leur chromatine est diffuse. C'est à partir de ce moment qu'est calculé le début du cycle spermatogénique. Ces cellules plus petites sont riches en ribosomes et sont reliées entre elles par des ponts cytoplasmiques et portent maintenant le nom de spermatocytes I (Estomba et *al.*, 2016).

II.1.2. La phase d'accroissement

Les spermatocytes I, diploïdes, répliquent leur ADN et accroissent leur volume total. Ils subissent une phase de croissance cytoplasmique (Encha-Razavi et *al.*, 2012).

II.1.3. La phase de maturation

Un spermatocyte I donne naissance à quatre spermatides et font partie de la phase de maturation. Les changements morphologiques et biochimiques que subissent les spermatides pour devenir spermatozoïdes constituent la spermiogenèse. La première division méiotique (réductionnelle) des spermatocytes I se termine et sont maintenant appelés spermatocytes II, haploïdes et de taille deux fois moindre. Cette phase comprend aussi une synthèse active d'ARN dans les ribosomes. Les spermatocytes II subissent la deuxième division méiotique (méiose équationnelle) et prennent le nom de spermatides, repoussées de plus en plus vers la lumière du tubule séminifère (fig.5) (Netter, 2010).

La spermatogénèse a une durée fixe de 74 jours chez l'homme et se partage de manière égale entre les étapes pré-méiotiques (divisions des spermatogonies), la méiose et la spermiogénèse (Estomba et *al.*, 2016).

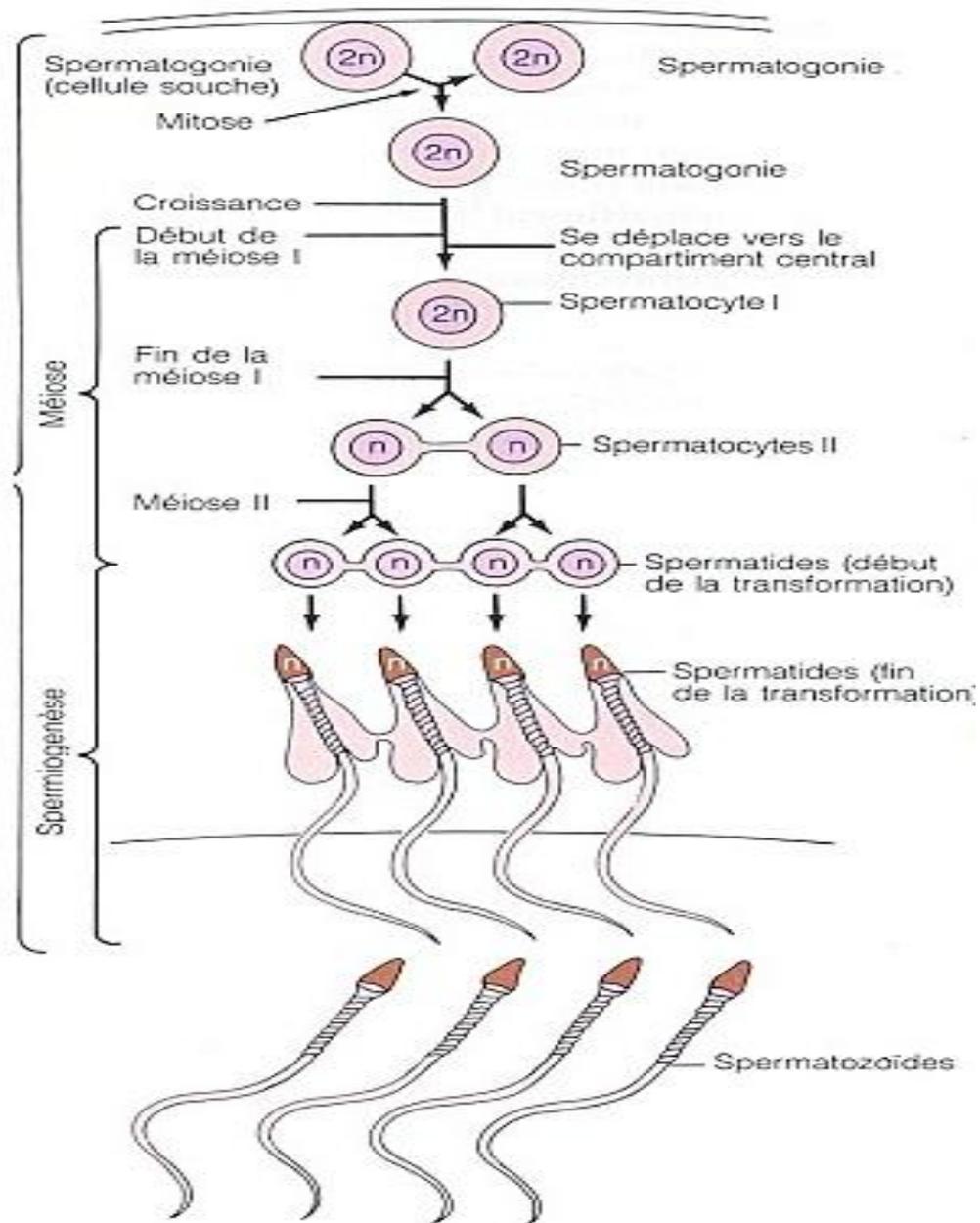


Fig.5 : Mécanisme général de la spermatogénèse (Netter, 2010)

II.2. La spermiogenèse

La structure générale des spermatozoïdes est uniforme chez toutes les espèces. On retrouve une tête qui comprend le noyau haploïde, coiffé sur sa face apicale de l'acrosome, le tout entouré d'une mince pellicule de cytoplasme; une pièce intermédiaire qui comprend la base du flagelle et l'appareillage énergétique de la cellule; une queue qui comprend surtout un flagelle assurant la motilité du spermatozoïde (Kugler, 2014).

Le processus de spermiogenèse débute dans l'épithélium séminifère et se poursuit après que le spermatozoïde en soit expulsé. Une bonne partie des processus de différenciation se produit une fois que les spermatozoïdes sont dans l'épididyme (fig.6) (Netter, 2010).

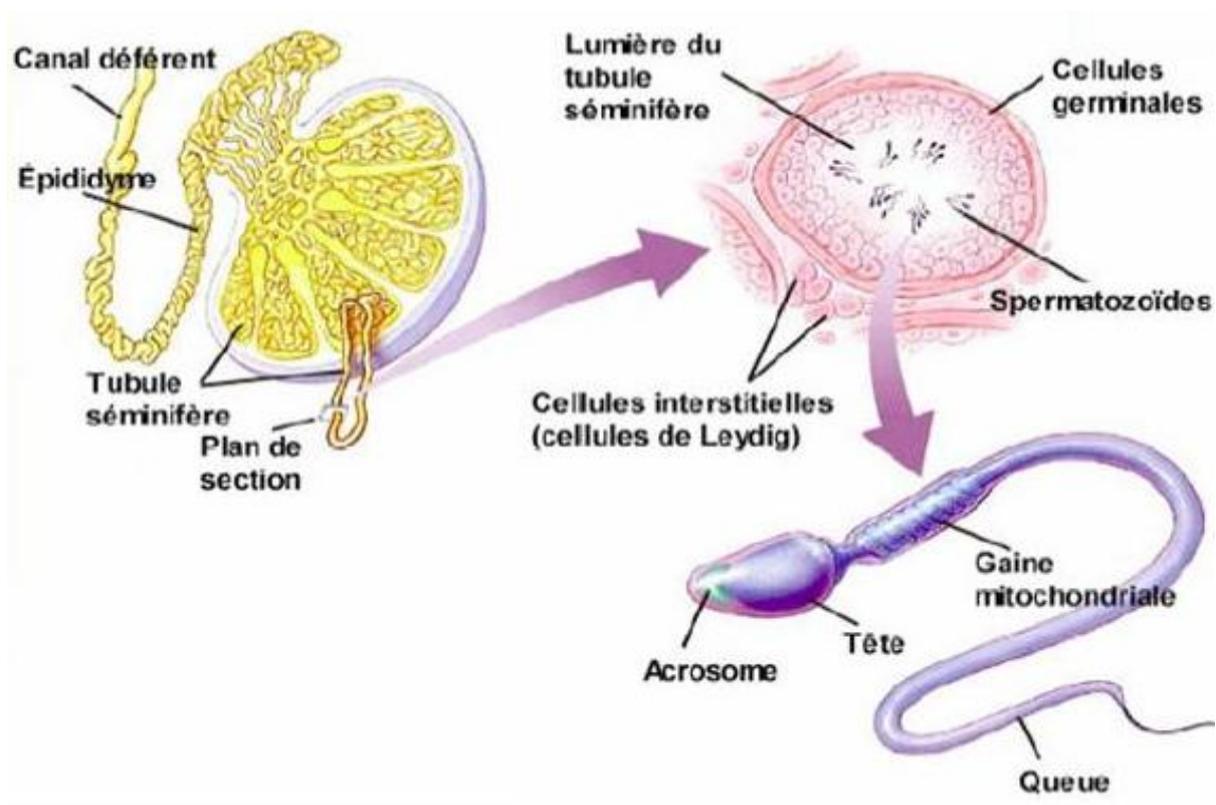


Fig.6 : Production et rendement des spermatozoïdes (Larsen *et al.*, 2007)

II.3. Rendement spermatogénétique

Le rendement théorique de la spermatogenèse, c'est-à-dire le nombre de spermatozoïdes obtenus à partir d'une spermatogonie mère, dépend exclusivement du nombre de mitoses goniales.

Dans l'espèce humaine il y a trois mitoses goniales, ce qui, avec les deux divisions méiotiques, aboutissent à la formation de 32 spermatozoïdes à partir d'une gonie mère (Larsen et *al.*, 2007).

III. Le gamète mâle ou spermatozoïde

III.1. La structure

Le spermatozoïde mature mesure environ 60 µm de long et est totalement enveloppé par la membrane plasmique.

- Au microscope photonique, chaque spermatozoïde apparaît constitué d'une tête ovale recouverte d'une zone claire, l'acrosome, et d'un long flagelle renflé à sa base (pièce intermédiaire), effilé à son extrémité.
- Le microscope électronique à balayage révèle :
 1. L'aplatissement de la tête ;
 2. La présence d'un rétrécissement entre tête et pièce intermédiaire : le col ;
 3. L'aspect annelé de la pièce intermédiaire.

Les coupes ultrafines observées au microscope électronique à transmission nous permettent de préciser l'ultrastructure (fig.7) (Bommas-Ebert et *al.*, 2008).

III.1.1. La tête

Elle apparaît sous une forme ovale très régulière. Quelle que soit la coloration, deux zones sont distinguées : une moitié postérieure dense et moitié antérieure plus pâle correspondant à l'acrosome. Sa longueur est comprise entre 4 et 5 µm et sa largeur entre 2 et 5 microns (Kugler, 2014).

III.1.2. Le col

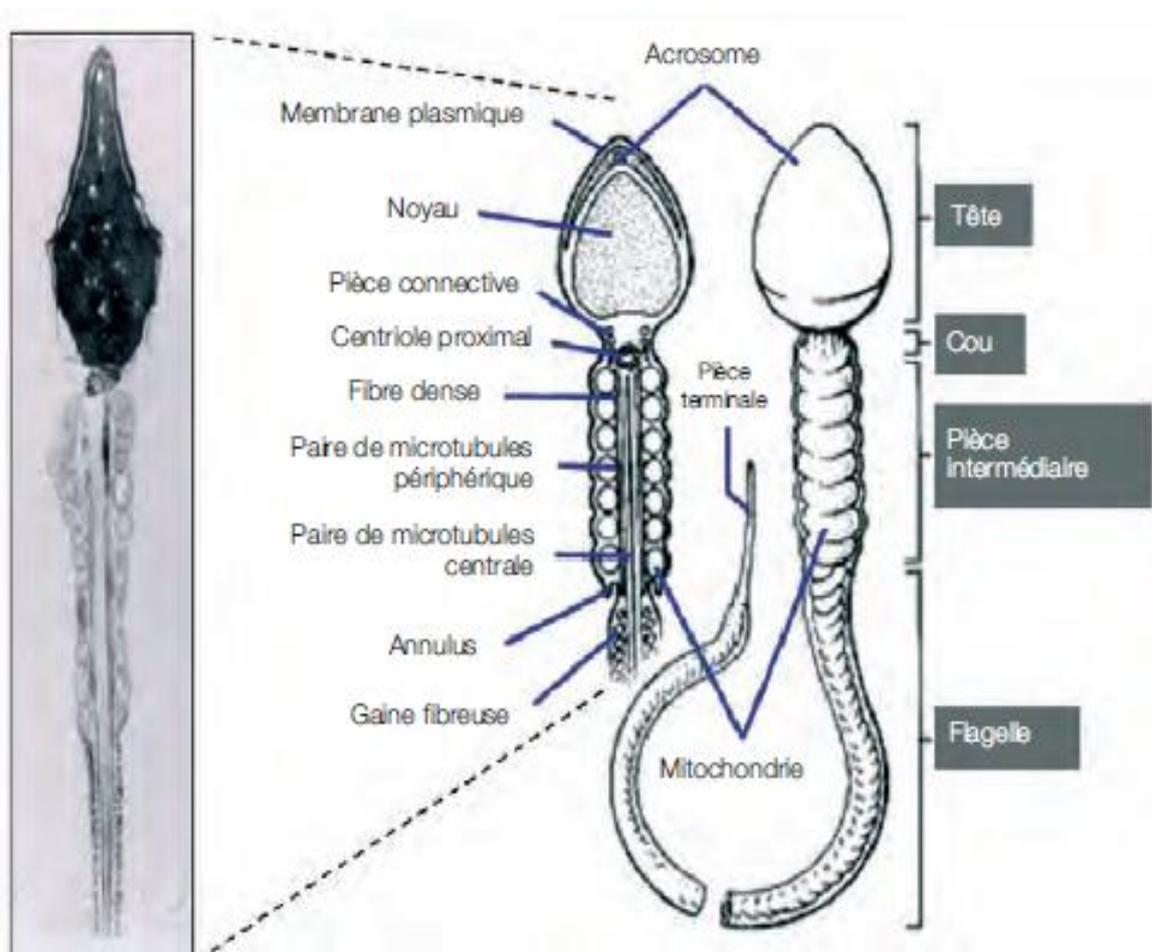
C'est la zone d'attache de la tête et du flagelle, comportant deux structures essentielles : le centriole proximal et la pièce connective (Mellal, 2010).

III.1.3. Le flagelle

Il est subdivisé en deux parties : en arrière de la tête une courte portion, inférieure à 10 microns, plus épaisse avec souvent un reste cytoplasmique constituant la pièce intermédiaire et la pièce principale s'amenuise vers sa terminaison (Fig.7) (Kugler, 2014).

III.1.4. La pièce intermédiaire

Elle est formée par un complexe axonémal entouré des fibres denses, puis de la gaine mitochondriale enroulée en spirale (Estomba *et al.*, 2016).



**Fig.7: Morphogénèse du spermatozoïde au cours de la spermiogénèse
(Bommas-Ebert *et al.*, 2008)**

III.2. Mouvement du spermatozoïde

Le spermatozoïde se déplace grâce à une onde qui parcourt le flagelle, se formant à sa partie antérieure et progressant vers l'extrémité terminale en restant, tout au moins initialement, dans le plan frontal de la tête.

Dans le plasma séminal, le spermatozoïde a normalement un mouvement rectiligne. Le battement flagellaire provoque une oscillation de la tête avec un déplacement latéral, d'amplitude variable et une rotation de 180° de la cellule le long de son axe longitudinal. La vitesse de progression varie entre 10 et 50 $\mu\text{m s}^{-1}$ à température ambiante. Ce mouvement est susceptible de modifications très importantes en fonction du milieu dans lequel nage le spermatozoïde, son métabolisme et son degré de maturation (Estomba et *al.*, 2016).

III.3. L'érection et l'éjaculation

L'éjaculation est un mécanisme nécessitant une adaptation morphologique de l'urètre qui se transforme en un canal droit et de petit calibre grâce à l'érection pénienne et se déroule selon un mécanisme bien précis :

III.3.1. Mécanisme d'action

Si l'éjaculation n'est qu'un des éléments du comportement sexuel masculin, elle est aussi une étape importante et complexe de la physiologie de la reproduction. C'est un phénomène vasculaire assurée par le pénis qui est constitué de trois structures érectiles : deux corps caverneux accolés l'un de l'autre et un corps spongieux contenant l'urètre (Menche, 2014).

III.3.2. Composition du sperme

Chez l'homme le plasma séminal n'est pas corrélé au poids du corps ni au mécanisme de régulation homéostatique. De nombreux corps biochimiques peuvent être dosés dans le liquide spermatique. Certains sont spécifiques et peuvent jouer le rôle de marqueur dont le dosage reflète l'activité de la glande. En pratique, on dose le

fructose (vésicules séminales), l'acide citrique, l'acide phosphorique, le zinc (prostate) et la carnitine (épididyme) (Estomba et *al.*, 2016).

IV. Régulation endocrine de l'activité testiculaire

IV.1. La sécrétion hypothalamique

L'installation de la puberté et le maintien de la spermatogenèse dépendent d'un contrôle hormonal hypothalamo-hypophysaire (Encha-Razavi et *al.*, 2012). L'hypothalamus élabore une hormone polypeptide qui est la Gonadotrophine Releasing Hormone (GnRH encore appelée LHRH). Cette hormone est véhiculée par la voie sanguine et vient agir en stimulant la libération de deux hormones glycoprotéiques la FSH et la LH (fig.8) (Kugler, 2014).

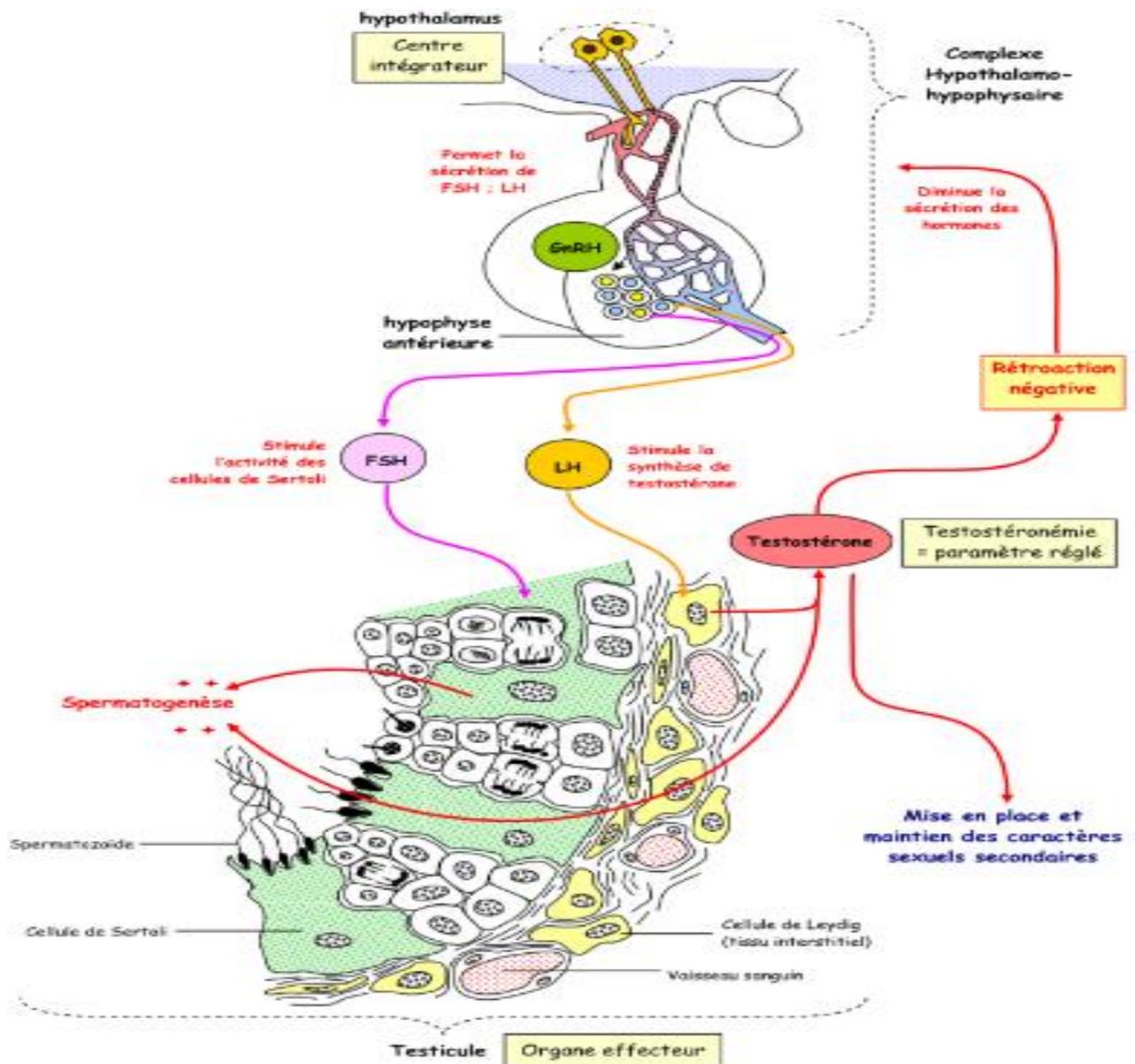


Fig.8 : Contrôle de l'activité testiculaire (Larsen et *al.*, 2007)

IV.2. Les gonadostimulines

Stimulée par l'hypothalamus, l'hypophyse antérieure élabore trois gonadostimulines qui seront déversées dans le sang et agiront sur les gonades (Kugler, 2014) :

- LH agit sur les récepteurs membranaires des cellules de Leydig et stimule la sécrétion d'androgènes (testostérone en particulier) ;
- FSH agit sur les récepteurs membranaires des cellules de Sertoli en activant la synthèse protéique de l'Androgène Binding Protein (ABP) qui sert de transporteur aux androgènes ;

La prolactine ou Luteotrophic hormon (LTH) agit sur la glande interstitielle en influençant sa réponse à LH (Menche, 2014).

IV.3. Les androgènes

Les androgènes élaborés par les cellules de Leydig sont transportés par le sang, liés à l'ABP et agissent sur les récepteurs cytoplasmiques des cellules cibles de façon suivante :

- Chez le fœtus, ils provoquent la transformation des canaux de Wolf en conduits mâles (caractères sexuels primaires) ;
- Au moment de la naissance, ils provoquent la sexualisation de l'hypothalamus qui, chez le mâle provoquera la sécrétion basse et continue de la gonadolibérine ;
- Au moment de la puberté, ils favorisent l'apparition des caractères sexuels secondaires (pilosité, mue de la voix) ;
- Chez l'adulte, ils favorisent les étapes de la spermatogenèse surtout la fin de la méiose et la spermiogenèse. Ils agissent sur l'épididyme et les glandes annexes de l'appareil uro-génital ;
- Ils contrôlent en retour l'activité hypothalamo-hypophysaire et la production de LH et de prolactine (Binder *et al.*, 2015).

IV.4. La boucle de régulation

Les cellules de Sertoli élaborent une substance protéique l'inhibine qui freine l'activité hypophysaire surtout la sécrétion de FSH. La testostérone freine donc la sécrétion de LH. Cependant, le premier niveau où s'exerce la rétroaction négative de la testostérone est l'antéhypophyse qui en possède des récepteurs spécifiques (fig.9) (Boussouar *et al.*, 2004). Il faut noter qu'elle freine également la sécrétion de GnRH qui s'effectue au niveau des neurones hypothalamiques, on dit qu'elle exerce une rétroaction négative, également appelé rétrocontrôle (Wolf *et al.*, 2008).

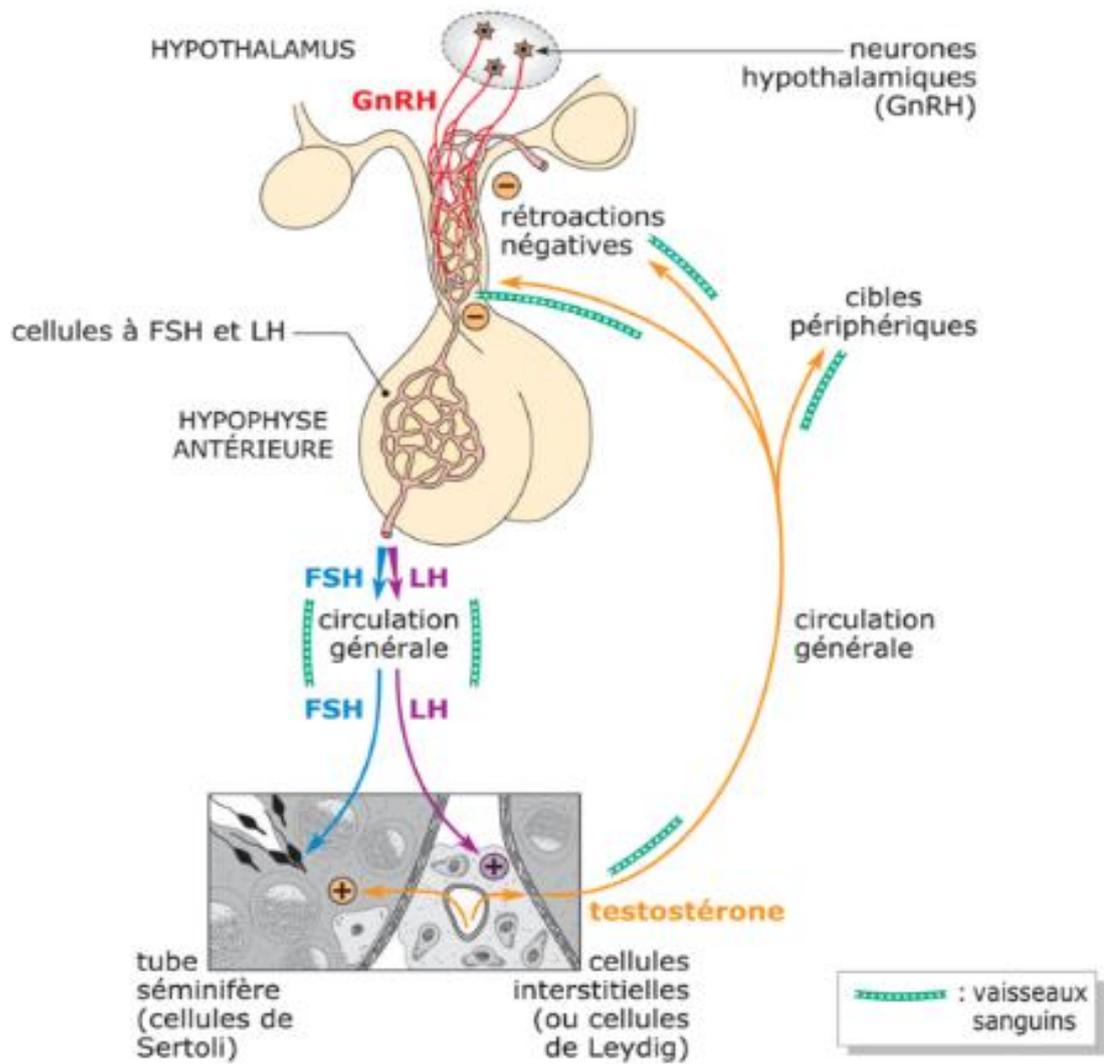


Fig.9 : La boucle de régulation de l'activité testiculaire

(Boussouar et al., 2004)

Chapitre 99

Tests biologiques d'exploration de l'infertilité

I. Tests biologiques de l'exploration de l'infertilité masculine

I.1. Examen de sperme

I.1.1. Spermogramme

Le sperme doit être recueilli de préférence au laboratoire, après un délai d'abstinence de 3 à 5 jours (Bartoov, 2002). Le sperme est recueilli dans un pot stérile par masturbation après une toilette bien soignée des mains et de la verge pour éviter toutes contaminations bactériennes. Le spermogramme doit être interprété en fonction des conditions du recueil et de tout ce qui a pu arriver au patient les 3 mois précédents l'examen (Niang *et al.*, 2007). Dès sa réception, l'échantillon de sperme est mis dans une étuve à 37°C jusqu'à ce que sa liquéfaction soit terminée (20-30 min). **Toute anomalie de recueil (volume), un interrogatoire doit être adressé aux patients afin de vérifier s'il y a une perte d'une partie du prélèvement ou si l'éjaculation est incomplète. Chez certains patients dont l'éjaculation est partiellement ou totalement rétrograde, il faut étudier le produit de la miction en contrôlant le pH des urines (Auger, 2001) .**

L'analyse du sperme est commencée 30 à 60 min après l'éjaculation. Après homogénéisation du prélèvement, un échantillon de 0,2 mL est prélevé pour établir un spermogramme et un spermocytogramme (Niang *et al.*, 2007).

I.1.1.1. Examen macroscopique

Cet examen permet l'évaluation de quelques paramètres spermatiques à savoir : la viscosité, le volume et le pH.

I.1.1.1.1. Etude de la viscosité

La consistance du sperme liquéfié est évaluée après aspiration douce dans une pipette de 5ml, en notant la façon dont le sperme s'écoule. A l'état normal, il s'écoule sous forme de gouttes bien séparées alors qu'un sperme de consistance augmentée forme des filaments de plus de 2 cm entre chaque goutte. Lors d'un prélèvement normal, le sperme présente un aspect homogène gris opalescent (fig.10) (Bartoov *et al.*, 2002). En cas de faible concentration, la couleur paraîtra opaque et parfois présente une couleur brune lorsqu'il contient des hématies (Bartoov *et al.*, 2002).



Fig.10: Aspect normal d'un sperme (Bartoov et *al.*, 2002)

I.1.1.1.2. Mesure du volume

L'éjaculat doit être mesuré de façon précise avec une pipette calibrée dans un tube gradué. Les seringues en plastiques et les aiguilles hypodermiques son proscrites en raison de la perturbation de certains paramètres du sperme telle que la mobilité (Niang et *al.*, 2007).

Un volume du recueil trop faible peut évoquer une éjaculation incomplète ou parfois fait penser aux sécrétions des glandes cooper facilement reconnaissable par leur alcalinité élevée du pH (Gudeman et *al.*, 2015).

I.1.1.1.3. Mesure de pH

La mesure du pH séminal se fait en déposant une goutte de sperme sur une bandelette de papier de pH compris entre 6.1 et 10. La couleur de la zone imprégnée du sperme doit être uniforme et comparée à l'échelle de couleur permettant la lecture du pH après 30 secondes du dépôt. Il est normalement compris entre 7,2 et 8 (Clément, 2004).

Des valeurs trop faibles peuvent être le reflet d'un défaut de sécrétion des vésicules séminales (normalement alcalines) alors qu'un pH nettement alcalin peut révéler une insuffisance des sécrétions prostatiques (normalement légèrement acides) (Lomage, 2002).

I.1.1.2. Examen microscopique

Il évalue la concentration, la mobilité des spermatozoïdes et permet la recherche d'éventuelle d'agglutinats spermatiques et d'autres éléments cellulaires (WHO, 2010).

I.1.1.2.1. Mobilité

Le pourcentage de forme mobiles est apprécié à l'examen direct sur une goutte de sperme de 20 µl entre lame et lamelle à 37° au faible grossissement, puis au fort grossissement, quatre à six champs sont habituellement parcourus pour classer 100 spermatozoïdes consécutifs et calculer leurs pourcentages respectifs (**Pouly et al., 2003**). La mobilité est étudiée 1 heure et 4 heures après l'émission du sperme (Tableau 1) (Lomage, 2002 et Clément, 2004). A une heure, elle doit être supérieure à 30 % et ne pas baisser de façon significative à 4 heures, si non on parle d'asthénospermie (Eustache et al., 2004).

Le pourcentage de forme mobile est évalué en routine de façon subjective; celui-ci peut être influencé par trois paramètres :

1. la température et le temps d'observation ;
2. l'épaisseur de la goutte de sperme ;
3. la subjectivité de l'observateur (Eustache et *al.*, 2004).

Le mouvement de chaque spermatozoïde rencontré est analysé et classé dans les catégories a, b, c, d selon qu'il soit :

- rapide et progressif : a
- lent ou faible
- lentement progressif: b
- mobile mais non progressif : c
- immobile: d (fig.11) (Junca et *al.*, 2005).

Le nombre de spermatozoïdes de chaque catégorie est déterminé à l'aide d'un compteur manuel. La mobilité est considérée comme normale si le pourcentage de la mobilité type 'a' est supérieure à 25% ou a+b est supérieure à 50% (Slama et *al.*, 2002 ; Goverde et *al.*, 2000)

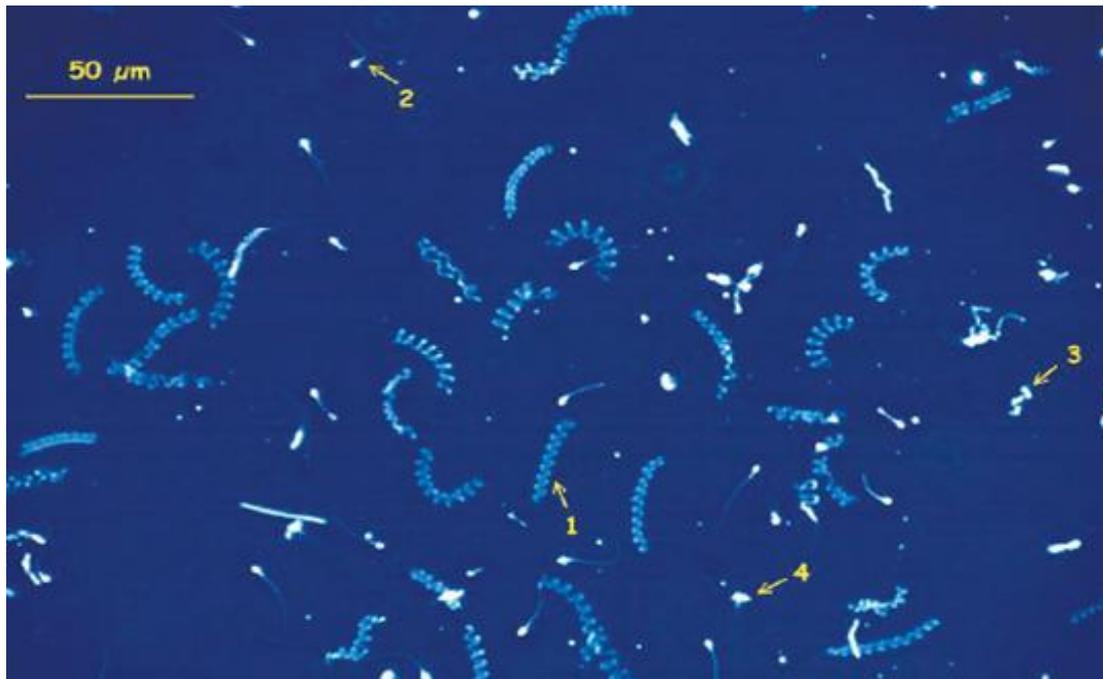


Fig.11 : Différents mouvements des spermatozoïdes à l'état frais
(Eustache et *al.*, 2004)

Spermatozoïde n°1 : classe a : spermatozoïde à mouvement progressif, régulier, rectiligne et rapide (environ 50 mm par seconde) avec un bon débattement latéral de la tête.

Spermatozoïde n°2 : classe d : spermatozoïde complètement immobile

Spermatozoïde n°3 : classe b : ce mouvement, certes progressif, est lent et irrégulier, donc anormal

Spermatozoïde n°4 : classe c : ce spermatozoïde n'est pas mort : il bouge sa tête et son flagelle sur place.

I.1.1.2.2. Numération

L'évaluation quantitative de la fonction exocrine du testicule implique de pouvoir mesurer le nombre de spermatozoïdes présents dans l'éjaculat. La numération est appréciée par comptage des spermatozoïdes dans un hémocytomètre après immobilisation des spermatozoïdes dans une solution de Ringer Formolé (1%) (Dhooge et *al.*, 2007).

La dilution du sperme peut être modifiée selon que la concentration de départ qui est très basse ou très élevée après un premier examen microscopique. Pour des spermes contenant moins de 20×10^6 /mL, une dilution au $1/10^e$ peut être utilisée tandis qu'une dilution au $1/50^e$ est plus appropriée quand la concentration est supérieure à 100×10^6 / ml (Lelannou et *al.*, 1994). D'autres études ont en outre montré que, à condition de ne pas descendre au-dessous d'un seuil de 5 millions de spermatozoïdes,

ce sont essentiellement la mobilité et la morphologie qui déterminent l'obtention d'une grossesse (Alvarez et *al.*, 2003).

L'analyse de la numération des spermatozoïdes est suivie et complétée par le comptage des autres éléments figurés présents dans le recueil à savoir les cellules rondes et les agglutinats.

- **Cellules rondes**

L'éjaculat contient encore d'autres cellules autres que les spermatozoïdes, il s'agit de cellules épithéliales de l'urètre, des cellules de la lignée germinale et des leucocytes, habituellement toutes regroupées sous le terme de cellules rondes (Slama et *al.*, 2002). La concentration de ces cellules peut être mesurée à l'aide d'un hémocytomètre sur des préparations à l'état frais (Slama et *al.*, 2002).

- **Agglutinats**

L'agglutination des spermatozoïdes est définie par l'attachement de spermatozoïdes mobiles entre eux par la tête, la pièce intermédiaire, le flagelle, ou de manière mixte (flagelle et tête). L'attachement de spermatozoïdes immobiles entre eux ou de spermatozoïdes mobiles à des filaments de substances mucineuses, à d'autres cellules ou à des débris ne constituent pas une agglutination spécifique mais une agrégation non spécifique (Ombelet et *al.*, 1997 et Perkins et *al.*, 2007).

La présence d'agglutinats évoque une cause immunologique d'infertilité mais pas une preuve suffisante. L'agglutination doit être évaluée sur 10 champs sélectionnés au hasard. Le pourcentage moyen de spermatozoïdes agglutinés est évalué à 5% près (Chocat et *al.*, 2000).

I.1.1.2.3. Vitalité

La vitalité des spermatozoïdes reflète la proportion de spermatozoïdes vivants. Elle est évaluée par l'exclusion de colorants ou par la capacité de régulation osmotique des spermatozoïdes mesurée dans les conditions hypoosmotiques (Demoulin, 2003).

a. Coloration vitale

Si le pourcentage de spermatozoïdes immobiles dépasse 50%, la proportion de spermatozoïdes vivants doit être déterminée en utilisant des techniques de coloration ou autres basées sur le principe que les cellules mortes ayant des membranes

plasmatiques lésées laissent pénétrer certains colorants (Jafarzadeh-Kenarsari et *al.*, 2015).

Cent spermatozoïdes sont comptés au microscope (standard ou contraste de phase), en distinguant les spermatozoïdes vivants (non colorés) et morts (colorés). Ces techniques de coloration permettent de différencier les spermatozoïdes immobiles et vivants des spermatozoïdes morts. Cependant, la présence d'une forte proportion de spermatozoïdes immobiles peut évoquer l'existence d'anomalies structurales du flagelle (Slama et *al.*, 2002).

b. Test de gonflement hyposmotique (HOS - test)

C'est un test simple basé sur le fait que la membrane de la cellule intacte est semi-perméable. Ceci a pour conséquence que si le spermatozoïde est placé en milieu hypoosmotique, il se produit un influx d'eau dans la cellule qui provoque une augmentation de son volume (fig.12) (Hamamah et *al.*, 2004). Introduit par Hamamah et *al.* (1999), ce test ne devrait pas être utilisé comme un test d'évaluation des spermatozoïdes mais plutôt comme un autre test de vitalité permettant d'apporter des informations supplémentaires sur l'intégrité et la fonctionnalité de la membrane plasmique (Cohen-Bacrie et *al.*, 2007).



Fig.12: Test de gonflement hyposmotique (HOS - test) (Hamamah et *al.*, 2004)

I.1.2. Spermocytogramme

La grande variabilité de la morphologie des spermatozoïdes humains rend l'appréciation des anomalies morphologiques significatives complexe.

Il correspond à l'analyse cytologique et morphologique des spermatozoïdes au microscope optique, et permet d'évaluer selon Andersen et *al.*, (2000) :

- la morphologie des spermatozoïdes ;
- le pourcentage des formes atypiques.

I.1.2.1. Technique de lecture et notification

Les colorations utilisées sont soit la coloration de Papanicolaou modifiée pour les spermatozoïdes, soit la coloration de Shorr.

La coloration de Papanicolaou est la méthode la plus utilisée dans les laboratoires d'andrologie. Elle colore l'acrosome, la région post-acrosomique, la pièce intermédiaire et le flagelle et peut être même utilisée pour des spermatozoïdes très visqueux.

La coloration de Shorr est simple à réaliser et suffisante pour une évaluation de routine de la morphologie des spermatozoïdes. **Compte tenu de l'inhomogénéité du sperme humain et de la faible fréquence de certaines anomalies, 100 spermatozoïdes au minimum doivent être évalués et classés selon deux méthodes la classification de David (1975) et celle de l'OMS (2010) :**

- **Classification de DAVID (1975)**

Elle permet de répartir les anomalies morphologiques des spermatozoïdes en 13 classes :

- **7 anomalies de la tête:** allongée, amincie, microcéphalie, macrocéphalie, irrégulière, dupliquée et en lyse.
- **2 anomalies de la pièce intermédiaire:** restes cytoplasmiques et angulations.
- **4 anomalies du flagelle:** absent, court, enroulé et double (OMS, 2010) :

- **Classification de l'OMS (2010)**

Elle décrit deux anomalies supplémentaires à celle de DAVID (1975) qui sont une anomalie au niveau de la pièce intermédiaire et l'autre au niveau du flagelle (fig.13) (FIVNAT, 2000).

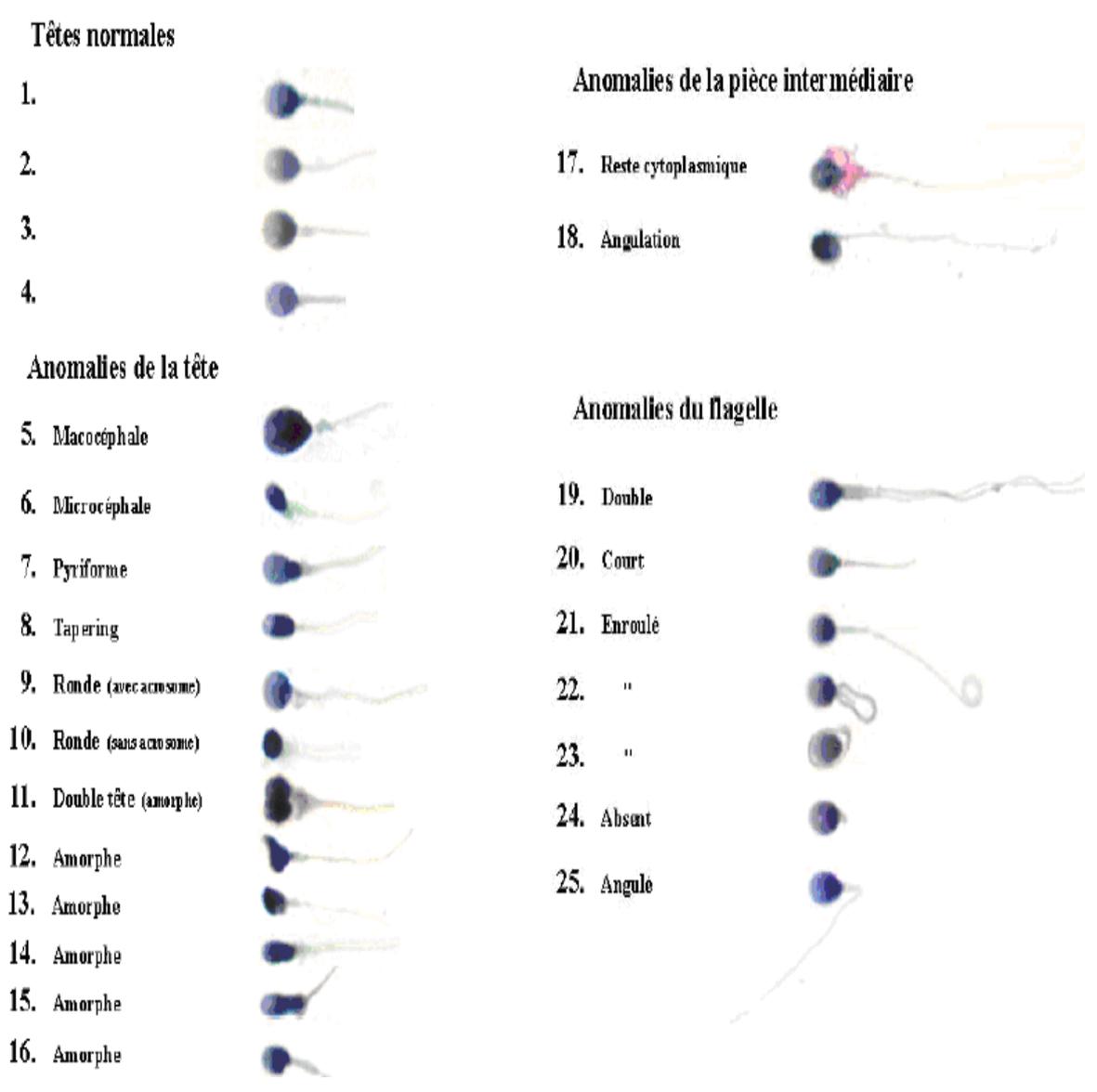
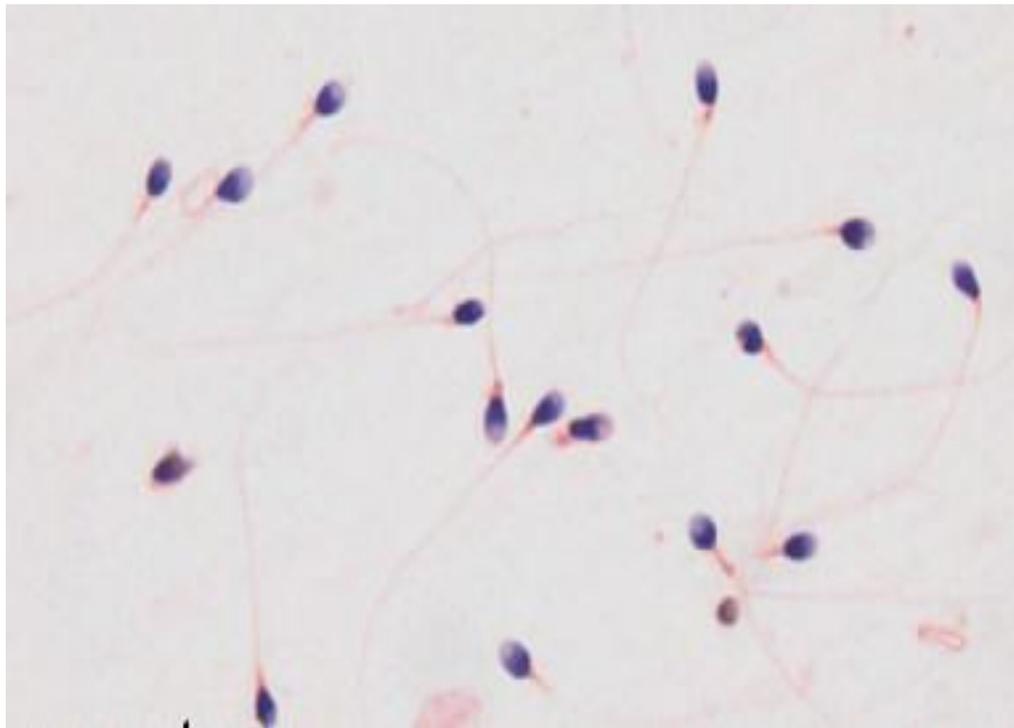


Fig. 13: Classification des anomalies morphologiques des spermatozoïdes selon l’OMS (FIVNAT, 2000)

I.1.2.2. Méthodes de coloration

Quatre colorations sont d'usage courant :

- **Coloration de Giemsa:** meilleure pour les différents types de leucocytes que pour les spermatozoïdes ;
- **Coloration de Papanicolaou modifiée pour les spermatozoïdes:** elle colore l'acrosome en bleu pale, la région post-acrosomique en bleu foncé, la pièce intermédiaire en rouge et le flagelle en bleu, les restes cytoplasmiques, généralement localisés en arrière de la tête, se teintent en vert (fig.14) (Mieusset,1983 et Chocat et *al.*, 2001) ;
- **Coloration de Bryan-Leishman:** particulièrement utile pour identifier les cellules germinales immatures et pour les distinguer des leucocytes (Auger et al., 2001).;
- **Coloration de Shorr:** simple à réaliser, suffisante pour une évaluation de routine de la morphologie des spermatozoïdes (Junca et *al.*, 2005).



**Fig.14: coloration des spermatozoïdes par Papanicolaou
(Chocat et *al.*, 2001)**

I.1.3. Spermoculture

La spermoculture est une analyse bactériologique du sperme. Elle est réalisée à partir d'une fraction de spermeensemencée sur des boîtes de gélose de chocolat, gélose au sang, gélose lactosée, milieu Sabouraud et milieu hecktoen après une incubation de 24 heures à 37°C (Boucher et *al.*, 1995). Elle est demandée en cas d'antécédents infectieux génito-urinaires, d'anomalies du spermogramme et de la biochimie séminale orientant vers une étiologie infectieuse.

La spermoculture est positive lorsque l'on retrouve au moins entre 10^3 et 10^4 bactéries pathogènes le plus souvent : Escherichia-coli, Streptocoque, Entérocoque, Proteus mirabilis et les champignons (Bartoov et *al.*, 2001). En cas de staphylocoque epidermidis, il faudra être plus prudent et envisager une souillure du fait d'un prélèvement non stérile (Lansac et *al.*, 2005).

L'examen cytobactériologique des urines réalisé sur le premier jet permet actuellement de mettre en évidence le Chlamydia trachomatis par une technique d'amplification (PCR). Le prélèvement urétral par écouvillonnage permet de mettre en évidence les chlamydiae et les germes banaux pathogènes en cas d'urétrite (Hamamah et *al.*, 2004).

I.2. Dosage des hormones

a) Dosage des gonadotrophines (FSH)

Son dosage indique dans le cadre des azoospermies et oligospermies sévères, qui nous orientent vers une origine sécrétoire de la pathologie. En effet, une augmentation de la valeur de base de la FSH traduit une perturbation dans le cycle spermatogénétique. Cependant, il faut savoir que des anomalies de la méiose, comme des arrêts de maturation peuvent ne pas être accompagnées de perturbation de la FSH. Dans ce cas, en présence d'une azoospermie, l'origine sécrétoire ne pourra être démontrée que par la réalisation d'une biopsie testiculaire qui montrera l'absence de spermatozoïdes au sein du prélèvement (Hamamah et *al.*, 2004 et Serfaty, 2007).

b) Dosage des hormones sexuelles

- **Testostérone** elle est le reflet de la fonction endocrine du testicule son dosage couplé à celui de la gonadotrophine (FSH) permet de diagnostiquer un hypogonadisme hyper ou hypogonadotrope. En cas d'insuffisance antéhypophysaire, les valeurs de FSH, LH et de la testostérone sont abaissées alors qu'une atteinte du testicule endocrine sera marquée par une élévation des gonadotrophines et une diminution de la testostérone (Larsen et *al.*, 2007).
- **Prolactine** son dosage est indiqué lors des troubles de la sexualité avec perte de la libido ou en cas d'hypoandrisme. Les étiologies d'hyperprolactinémie sont dues principalement aux causes iatrogènes, l'hypothyroïdie et les tumeurs de l'antéhypophyse (Brunner et *al.*, 2004 ; Larsen et *al.*, 2007 et Benninghoff et *al.*, 2008).

I.3. Examens biochimiques

Le plasma séminal contient des facteurs témoignant de l'activité sécrétoire des glandes annexes. Dans les cas d'azoospermie, il est alors intéressant d'avoir une orientation sur l'origine étiologique (sécrétoire ou excrétoire) (Soufir, 1988 ; Fenichel et *al.*, 2000). Dans le premier cas, on observera une diminution du marqueur en aval de la zone anatomique obstruée, ainsi qu'une modification du pH du plasma séminal. En revanche, si tous les marqueurs sont normaux, on pensera à une origine excrétoire.

Une agénésie bilatérale vésico-déférentielle est marquée par une hypospermie et un taux de fructose proche de zéro ; cette obturation doit orienter vers une malformation congénitale ou acquise (Ramé et *al.*, 2007).

II. Tests biologiques de l'exploration de l'infertilité féminine

II.1. Etude de l'interaction Sperme-Mucus Cervical

Etudiée par Odeblad en 1977, la glaire est constituée d'éléments organiques, de protéines et plus de 90% d'eau. Elle présente des propriétés rhéologiques variables : viscosité, filance et cristallisation en feuille de fougère. C'est une substance hétérogène composée de deux types de mucus : oestrogénique (pré-ovulatoire) et progestatif (post-ovulatoire). A l'ovulation, les oestrogènes stimulent la production

d'un abondant mucus filant et clair, d'une perméabilité sélective à l'ascension des spermatozoïdes (Lansac *et al.*, 2005).

Cette réceptivité cyclique du mucus cervical à la pénétration par les spermatozoïdes, et maximale dans la période immédiatement périovulatoire est très variable d'une femme à une autre et parfois chez une même femme, d'un cycle à l'autre (DeCherney *et al.*, 2007).

II.1.1. Test d'Hühner *in vivo* ou test post-coïtal (TPC)

a) Principe

Son objectif est de vérifier la présence de spermatozoïdes dans la glaire cervicale après un rapport sexuel, mais aussi d'évaluer leur mobilité et leur survie (Lansac *et al.*, 2005).

b) Moment de réalisation du test TPC

Le test doit être réalisé après 3 jours d'abstinence, environ 48 heures avant l'ovulation calculée selon la courbe ménothermique, après un rapport sexuel. Le moment de l'ovulation peut être estimé par différents critères cliniques :

- la durée du cycle ;
- l'aspect de la courbe de la température ;
- les modifications du mucus cervical et de la cytologie vaginale.

Des dosages plasmatiques ou urinaires des oestrogènes ou bien encore par une échographie ovarienne sont le plus souvent recommandés (Lewis *et al.*, 2007).

c) Prélèvement

Une abstinence sexuelle égale au moins à trois jours permet d'optimiser les caractéristiques du sperme et de minimiser la contamination du mucus par des spermatozoïdes d'une insémination précédente. Le prélèvement du mucus doit se faire après le rapport sexuel dans un délai compris entre 9 et 24 heures et sans hygiène vaginale au préalable. La concentration des spermatozoïdes mobiles et leur type de motilité (progression linéaire et rapide, lente ou non progressive) sont alors analysés et comptés (Debry, 2001 et Perkins *et al.*, 2007).

d) Etude de la glaire cervicale

L'échantillon sera observé d'abord entre lame et lamelle à l'objectif 40, immédiatement après le recueil de l'échantillon. On analysera par la suite ces différents paramètres :

- **Ouverture du col cervical :** à l'aide d'un spéculum, le col est dégagé et l'orifice externe est doucement essuyé avec un tampon de coton afin d'éviter une contamination du prélèvement par les sécrétions vaginales (fig.15) (Mélone-Galice, 2000).
- **Abondance de glaire cervicale** la viscosité du mucus cervical (MC) est le facteur qui influence le plus la pénétration des spermatozoïdes. En milieu de cycle, la glaire oppose peu de résistance à la migration des spermatozoïdes, alors que le mucus visqueux de la phase lutéale forme une barrière très efficace (fig.16) (DE Agostini et al., 1996).



Fig. 15: Ouverture du col cervical avec écoulement du MC
(Mélone-Galice, 2000)



Fig.16: Abondance de la glaire cervicale (Mélone-Galice, 2000)

- **Filance** : après avoir établi un contact avec le mucus cervical à l'aide d'une baguette en verre et d'une lame de verre disposée perpendiculairement, le filament de mucus forme un mouvement ascensionnel et sa longueur est estimée en centimètres (Mélone-Galice, 2000).

- **Cristallisation** : Le degré de cristallisation en feuille de fougère est considéré comme typique après examen de plusieurs champs choisis au hasard sur la préparation (Mélone-Galice, 2000 et Junca et *al.*, 2005).

L'évaluation complète de la glaire cervicale sera synthétisée en utilisant le score d'Insler. La glaire sera estimée comme bonne si le score d'Insler est supérieur à 8 cm (Tableau 1) (Lansac et *al.*, 2005). Il faut noter que ce score ne tient pas compte :

- du pH de la glaire cervicale qui peut être évalué à l'aide d'un papier indicateur et est basique en période pré-ovulatoire ;
- de la cellularité : au moment de l'ovulation, rares sont les cellules présentes dans la glaire (leucocytes, hématies, cellules épithéliales) (Lansac et *al.*, 2005 ; Olivennes et *al.*, 2006).

Tableau 1 : Score d'Insler (Lansac et *al.*, 2005).

Score	1	2	3
Ouverture du col	Punctiforme	Ouvert	Béant
Abondance glaire	Minime	En goutte	En cascade
Filance	1-4 cm	5-8 cm	> 8 cm
Cristallisation	Linéaire	Partielle	Complète

e) Interprétation de Test Huhner

La numération des spermatozoïdes dans la glaire cervicale est le deuxième élément du test de Huhner (Zorn, 2006). On considère le test comme :

- **négatif** : s'il n'y a pas de spermatozoïde ;
- **positif insuffisant** : s'il y a moins de 4 spermatozoides mobiles par champ ;
- **positif moyen** : s'il y a 4 à 6 spermatozoides mobiles par champ ;
- **positif bon** : s'il y a plus de 6 spermatozoides mobiles par champ ;
- **positif excellent** : s'il y a plus de 20 spermatozoides mobiles par champ (Auger et *al.*, 1997).

Si le test est moyen, il faudra rechercher une oligoasthénozoospermie conduisant à la réalisation d'un spermogramme et un spermocytogramme. Si le test ne retrouve que des spermatozoïdes mobiles sur place, il faut rechercher un problème immunologique avec anticorps anti-spermatozoïdes. Si le test est négatif, il faudra évoquer une oligo ou une azoospermie et/ou nécrozoospermie, une hostilité de la glaire ou un problème de rapport.

Le test peut être répété au cycle suivant ; s'il est identique, un spermogramme doit être rapidement prescrit ainsi qu'un test de pénétration croisé si le spermogramme est satisfaisant (Lansac et *al.*, 2005 ; et Olivennes et *al.*, 2006).

II.1.2. Test de pénétration croisée

Ce test fait partie du bilan de seconde intention d'une infertilité. Il est indiqué lorsque le test d'HÜHNER est faible ou négatif ou lorsqu'il existe une discordance entre les résultats du test d'HÜHNER et le spermogramme. Il permet d'apprécier la part respective de la glaire cervicale et des spermatozoïdes dans l'infertilité du couple (fig.17) (Olivennes et *al.*, 2006).

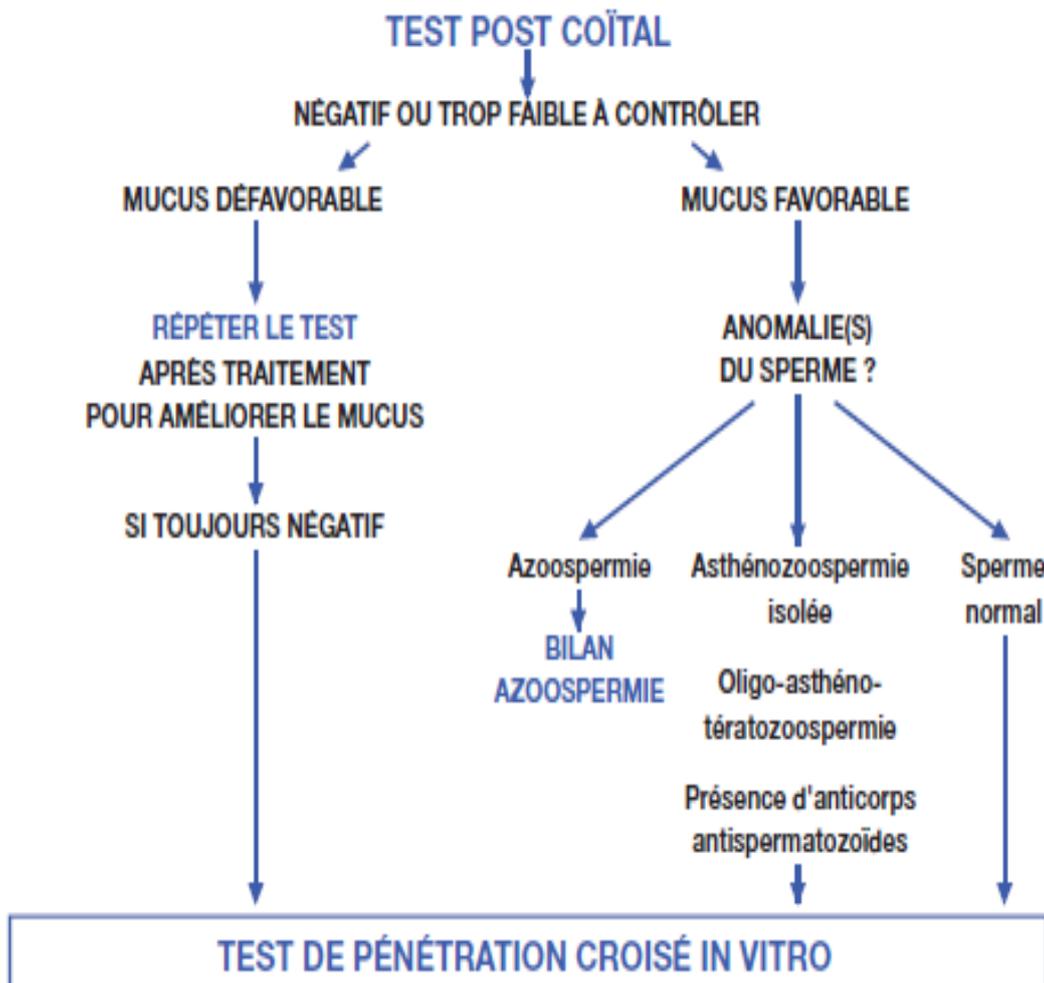


Fig.17: Test de pénétration croisée *in vitro*
(Mélone-Galice, 2000)

Chapitre 999

Causes de l'infertilité du couple

I. Etiologie de l'infertilité du couple

L'infertilité représente un réel problème de santé publique puisque environ 15 % des couples consultent un médecin au moins une fois dans leur vie pour une infertilité primaire ou secondaire durant depuis plus de 1 an (Chung *et al.*, 1990).

Parmi les causes d'infertilité, 33% sont strictement féminines et 21% masculines. Majoritairement, dans 39% des cas, une cause à la fois féminine et masculine est découverte. Les 7% restant représentent l'infertilité inexplicée, c'est-à-dire l'absence de cause évidente (fig.18) (Martinez *et al.*,1990).

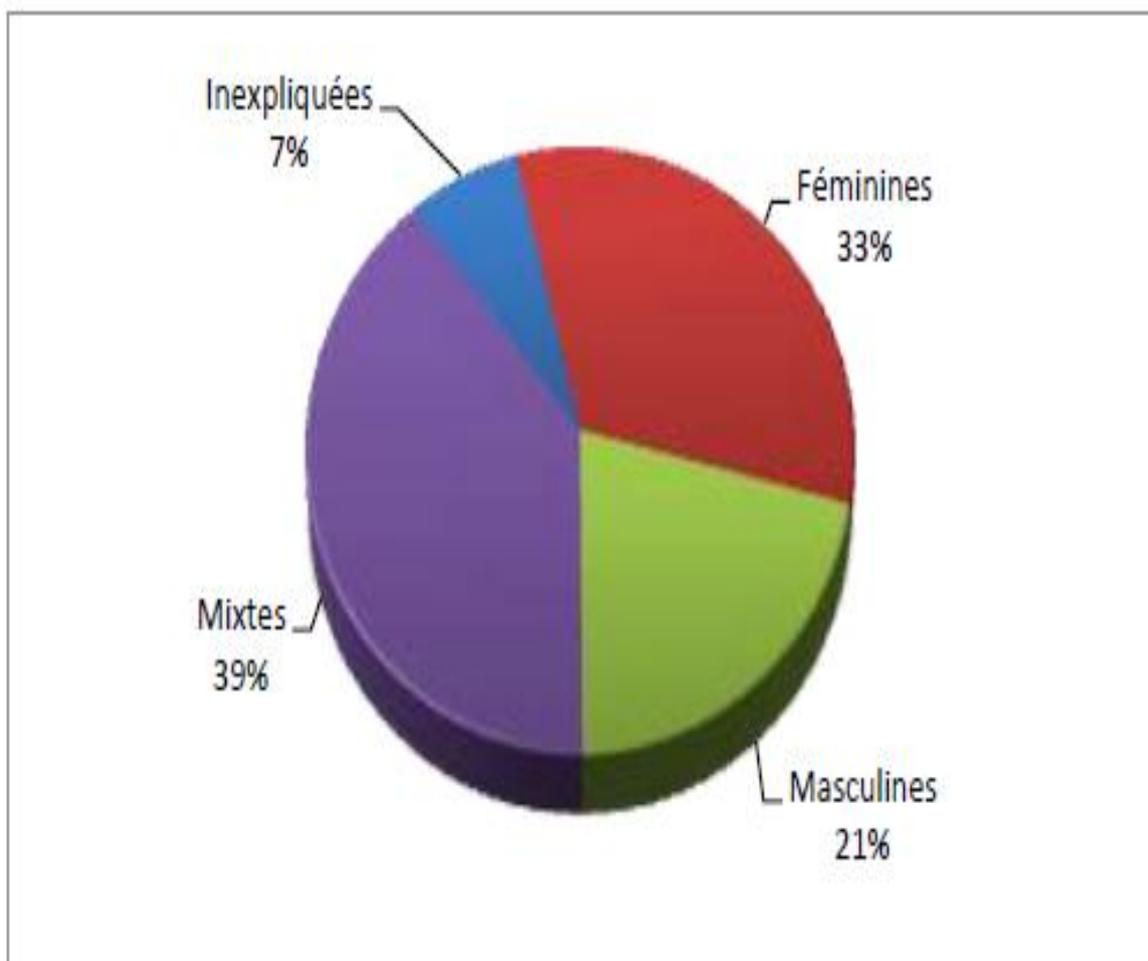


Fig.18: Répartition des causes d'infertilité du couple
(Martinez *et al.*,1990)

I.1. Etiologie de l'infertilité masculine

Selon une étude de l'OMS (2000) dans au moins 50% des cas, la fonction de reproduction de l'homme est anormale (Jorgensen et *al.*, 2001). Cette anomalie peut être due à de nombreuses causes dont les détails sont donnés ci-après :

I.1.1. Infertilités obstructives

I.1.1.1. Anomalies congénitales

Elles correspondent à l'absence de développement d'une partie plus ou moins étendue des voies excrétrices. Parmi ces anomalies il y'a :

- agénésie épидидymo-déférentielle;
- agénésie congénitale des canaux déférents;
- anomalies des canaux éjaculateurs;
- syndrome de Young qui associe l'infertilité obstructive à des troubles cliniques des voies aériennes (bronchiectasie, sinusite chronique) (Salat-Baroux et *al.*, 1998 et Lansac, 2005).

I.1.1.2. Obstructions post infectieuses

Elles surviennent à la suite :

- d'infections génitales : uréthrite à gonocoque, uréthrite à chlamydiae, prostatites, prostatite-vésiculites. La cicatrisation évolue vers l'obstruction sur le trajet du sperme ;
- d'infections urinaires récidivantes, surtout lorsqu'elles s'accompagnent d'orchépididymites ;
- Enfin les infections spécifiques, surtout la tuberculose uro-génitale et parfois la bilharziose peuvent également être en cause (Ganong et *al.*, 2005).

I.1.1.3. Obstructions iatrogènes

Il s'agit surtout de lésions accidentelles du canal déférent lors de la chirurgie herniaire, plus rarement de vasectomies réalisées dans un but contraceptif. Il peut également s'agir de lésions secondaires à une chirurgie pelvienne extensive, pour cancer par exemple (Zorn et *al.*, 2005 et Laville et *al.*, 2007).

I.1.2. Troubles de la spermatogenèse

Deux mécanismes peuvent être à l'origine d'un déficit de la spermatogenèse : un défaut de stimulation du testicule par atteinte de l'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire ou un état pathologique touchant primitivement le testicule.

I.1.2.1. Causes endocriniennes

a) Hypogonadisme hypogonadotrophique congénital

Caractérisé par l'absence de sécrétion de LHRH hypothalamique et par conséquent l'absence de sécrétion de gonadotrophine et l'absence de puberté. La forme la plus fréquente est celle retrouvée dans le syndrome de Kallmann. Elle est associée à un développement sexuel pubertaire minime ou absent, un micro pénis, une cryptorchidie, une anosmie et parfois des anomalies rénales et des déformations osseuses (Cazaban et *al.*, 2005 et Lansac et *al.*, 2007).

b) Insuffisances hypothalamiques ou hypophysaires organiques

Elles sont dues par atteinte directe de l'hypothalamus ou de l'hypophyse. Parmi les causes incriminées citons: les tumeurs hypothalamiques, les adénomes hypophysaires, la radiothérapie de la région hypothalamo-hypophysaire. (Salat-Baroux et *al.*, 1998 et Heffner, 2003).

c) Insuffisances gonadotropes fonctionnelles

Il s'agit d'une inhibition de la sécrétion de gonadotrophine. Exemple : hyperprolactinémie (inhibition de la sécrétion GnRH par la prolactine), hyperplasie congénitale des surrénales, apport exogène d'androgène (dopage) (Heffner, 2003).

d) Déficits fonctionnels en androgènes

Ici, l'effet des androgènes sur les testicules est altéré. Citons le déficit en 5 α -réductase de type 2 qui transforme la testostérone en sa forme active. Chez ces patients le phénotype est variable allant d'un simple hypospadias à l'ambiguïté sexuelle (Tang et *al.*, 2015).

I.1.2.2. Causes testiculaires

Les altérations quantitatives de la spermatogenèse représentent la majorité des infertilités avec selon l'intensité du trouble, azoospermie ou oligospermie dites sécrétoires et azoospermie excrétoire (Cornélis, 2001 et Bayle, 2003).

- **L'azoospermie sécrétoire** 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 ou congénitale (Bayle, 2003).
- **L'azoospermie excrétoire** 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 congénitales ou acquises. Parallèlement à l'oligospermie, il existe, souvent associées, des anomalies de la mobilité, de la morphologie et du pouvoir fécondant du sperme (Hammamah et *al.*, 1999 et Jafarzadeh-Kenarsari et *al.*, 2015).
- **Les oligo-asthéo-tératospermies (OATS)** sont définies par l'insuffisance de nombre, de motilité ou l'anomalie de la forme des spermatozoïdes. Les OATS sont beaucoup plus fréquentes que les azoospermies. Ces insuffisances sont parfois variables et elles permettent seulement de soupçonner une origine masculine à l'infertilité du couple. Il ne s'agit pas d'une stérilité mais d'une diminution de la fécondité (Helenon, 2007).
- **Oligospermie :** ou nombre insuffisant de spermatozoïdes. Normalement, il y a au moins 20 millions de spermatozoïdes par ml de sperme. On considère généralement qu'un nombre inférieur à 10 millions/ml peut être responsable d'une infertilité (tableau 2)(Clément, 2004 et Jafarzadeh-Kenarsari et *al.*, 2015).
- **Asthénospermie :** ou défaut de mobilité des spermatozoïdes. Il y a normalement au moins 40% de spermatozoïdes mobiles dans le sperme. En dessous de ce seuil, on parle d'asthénospermie. Il peut également y avoir des anomalies des mouvements des spermatozoïdes (vitesse, trajectoire) et dans ce cas on parle de dyskinésie flagellaire (tableau 2).

Quand aucun spermatozoïde n'est mobile il s'agit d'une akinétopermie. Ces anomalies peuvent être dues à des anomalies de structure des spermatozoïdes (défaut de production) ou à des infections (Hammamah et *al.*, 1999).

- **NécrospERMIE** : est caractérisée par un pourcentage élevé de spermatozoïdes morts (>50%). Elle est souvent due à des infections (Hammamah *et al.*, 1999 et Cook *et al.*, 2007).
- **Tératospermie** : il s'agit de la présence d'un taux anormalement élevé de spermatozoïdes anormaux. Selon les classifications employées, le pourcentage minimal de spermatozoïdes normaux dans un sperme normal varie entre 15 et 50%. Ces anomalies peuvent intéresser toutes les parties du spermatozoïde (tête, flagelle) et sont généralement dues à un dysfonctionnement de la spermiogénèse par des facteurs intro of exogènes (fig.19) (Cornélis, 2001).

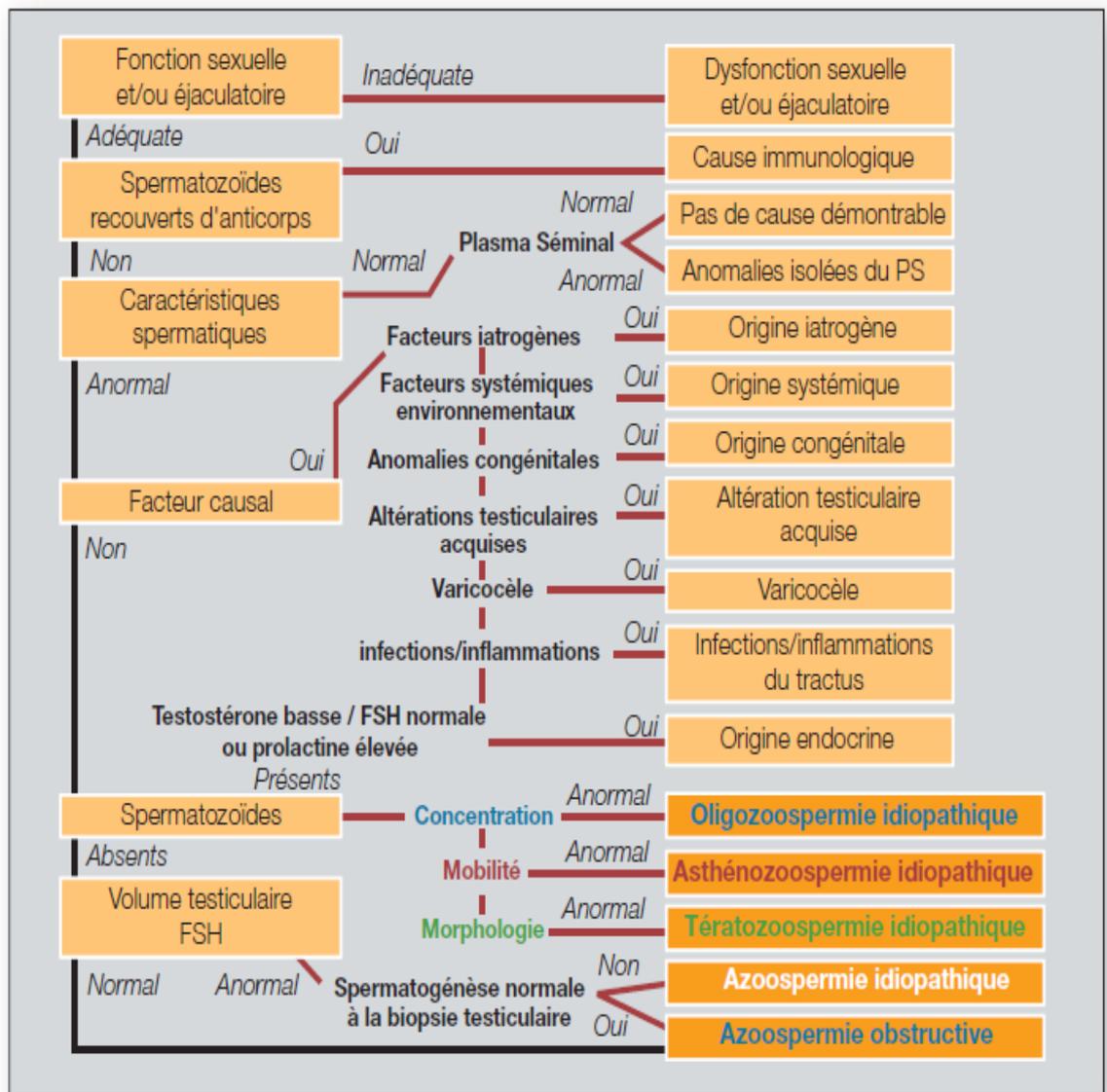


Fig.19 : Indications de la recherche d'une infertilité chez l'homme (Cornélis, 2001)

Tableau 2 : Anomalies du spermogramme (Clément, 2004).

Hypospermie	volume éjaculatoire complet inférieur à 2 mL
Aspermie	volume éjaculatoire nul
Hyperspermie	volume éjaculatoire supérieur à 6 mL
Oligozoospermie <ul style="list-style-type: none">▪ modérée▪ sévère▪ extrême	concentration en spermatozoïdes < 20 millions /ml de 5 à 20 millions /mL de 2 à 5 millions /mL inférieur à 2 millions /mL
Polyzoospermie	concentration de spermatozoïdes supérieure à 250 millions /mL
Azoospermie	absence de spermatozoïdes sur l'éjaculat frais centrifugé à 300 g pendant 15 mn, examiné a fort grossissement (x 400).
Cryptozoospermie	quelques spermatozoïdes sur le culot de centrifugation examiné à fort grossissement (x 400), mais pas sur l'examen de l'éjaculat –frais-
Asthénozoospermie	diminution de mobilité des spermatozoïdes
Akinétospermie	mobilité nulle de tous les spermatozoïdes du recueil
Tératozoospermie	nombre de spermatozoïdes anormaux
Nécrozoospermie	baisse de vitalité des spermatozoïdes

I.1.2.3. Altérations extrinsèques des spermatozoïdes

Des facteurs extrinsèques intervenant à la fin de la spermatogenèse et après la formation de spermatozoïdes normaux font subir des altérations morphologiques ou fonctionnelles. Parmi ces facteurs citons :

- a) **Les infections du tractus génital masculin** : en dehors de l'obstruction séquellaire, l'inflammation du tractus génital entraîne aussi une diminution de la mobilité des spermatozoïdes (asthénospermie) et une diminution de leur pouvoir

fécondant. L'inflammation peut aussi entraîner la mort des spermatozoïdes (nécrospermie) (Gudeman et *al.*, 2015) ;

b) L'auto-immunisation anti-spermatozoïde : Il s'agit d'une anomalie de la physiopathologie mal connue où il y'a production d'auto-anticorps anti-spermatozoïdes par l'homme. Ces anticorps provoquent l'agglutination des spermatozoïdes entre eux ce qui diminue leur mobilité et leur pouvoir fécondant (fig.20). Les épididymites et la vasectomie en seraient des facteurs favorisants (Gudeman et *al.*, 2015).

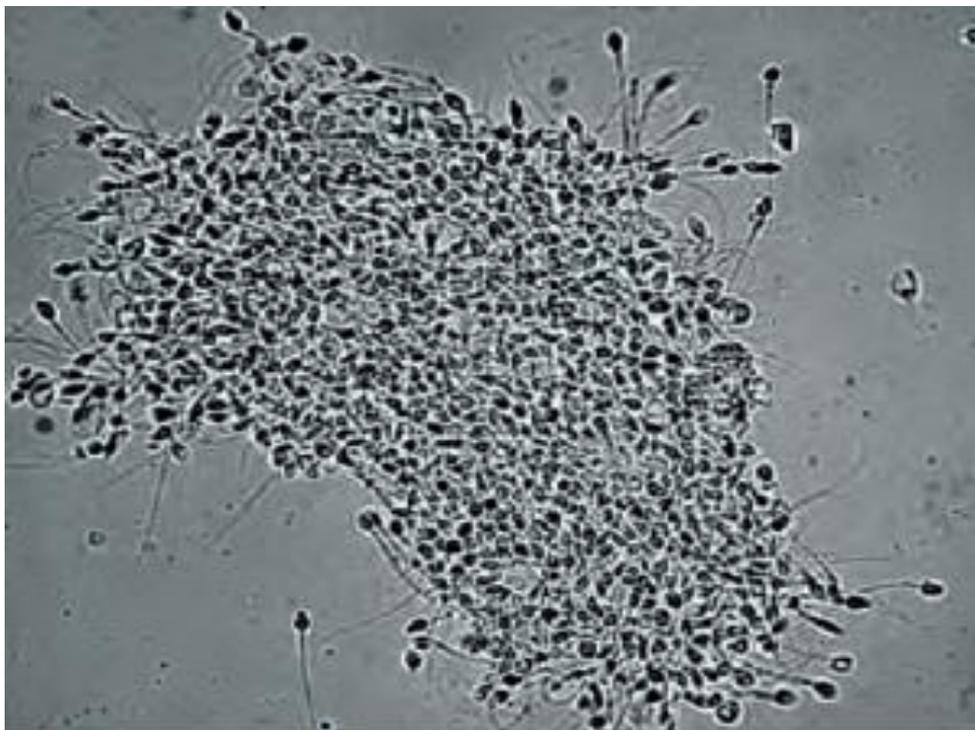


Fig.20 : Agglutination des spermatozoïdes (Cazaban et *al.*, 2005)

I.2. Troubles de l'éjaculation

Ces troubles peuvent également être à l'origine d'une infertilité masculine. Ils s'accompagnent d'hypospermie ou d'aspermie. Il peut s'agir d'une :

- **Anéjaculation** : absence d'éjaculation, les causes en sont multiples : les lésions neurologiques (lésion de la moelle épinière, neuropathies..), les causes psychogènes et les médicaments (neuroleptiques) ;
- **Ejaculation rétrograde** : L'éjaculat passe dans la vessie et se mélange aux urines. Elle se voit surtout après chirurgie de l'adénome de prostate

(endoscopique ou ouverte) mais peut être due à une neuropathie diabétique ou certains médicaments (Clément, 2004 ; Lansac et *al.*,2007 et Gudeman et *al.*, 2015).

I.3. Causes génétiques

Parmi les causes génétiques incriminées dans l'infertilité masculine citons :

- Les anomalies chromosomiques surtout celles touchant les chromosomes sexuels. Le syndrome de Klinefelter (47 XXY) est l'anomalie cytogénétique la plus fréquente ;
- Les dysgénésies gonadiques mixtes (mosaïque 45X/46XY) et le syndrome du male XYY. La présence d'un chromosome Y surnuméraire (47 XYY) ne s'accompagne d'une infertilité que dans la moitié des cas (Ioannou et *al.*, 2016) ;
- Les anomalies du chromosome Y sont également une cause fréquente d'infertilité puisque elles seraient responsables de 7 % des infertilités masculines. Il s'agit surtout de micro- délétions du chromosome Y (Siffroi et *al.*, 2000 ; Ganong et *al.*, 2005 ; Zorn et *al.*, 2005) (fig.21).

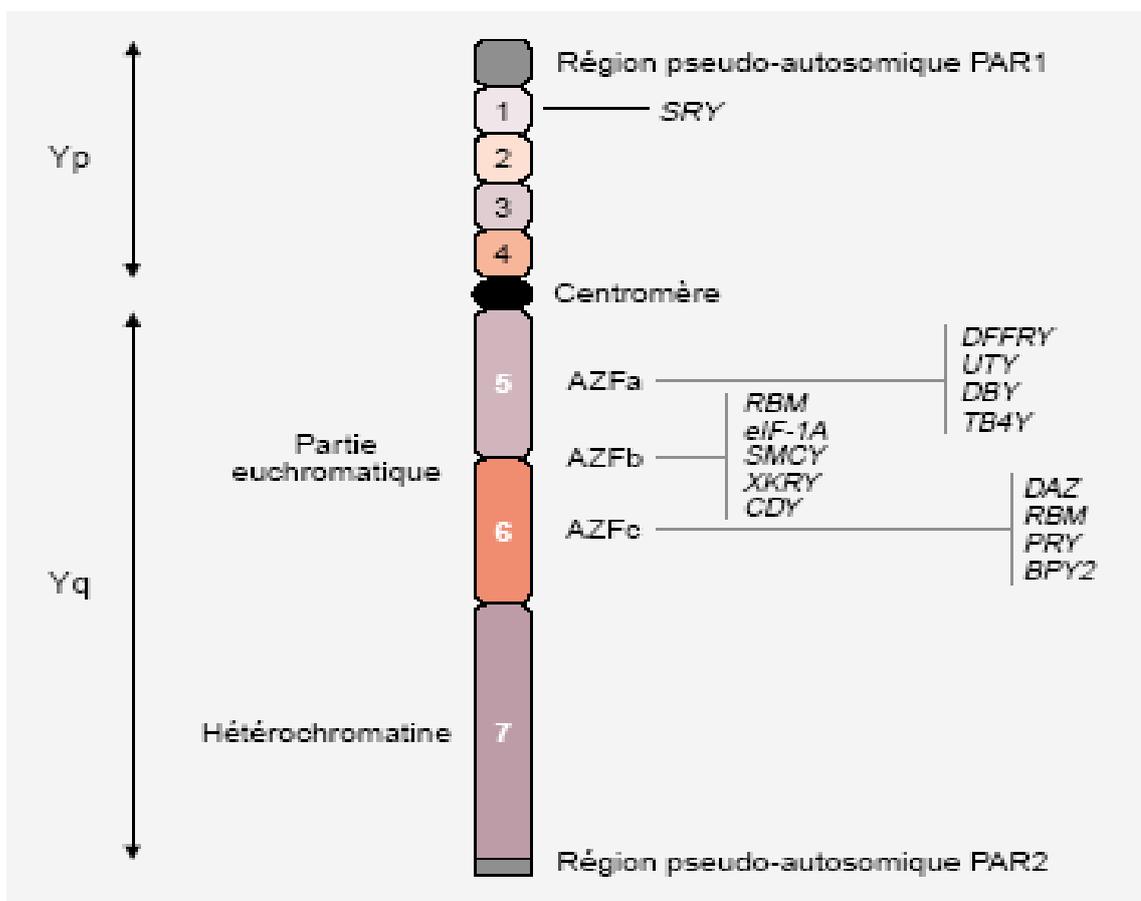


Fig.21 : Chromosome Y représentant les 7 intervalles de délétion (Siffroi et *al.*, 2000).

I.4. Autres causes

- **La cryptorchidie**

Correspond à l'absence de descente d'un ou des deux testicules dans le scrotum, c'est une cause majeure d'altération de la spermatogenèse. La situation intra-abdominale du testicule entraîne une altération de la spermatogenèse (La physiopathologie exacte n'est pas connue mais implique probablement une modification de l'environnement thermique) (Cohen-Bacrie, 2000).

- **La varicocèle**

Correspond à la dilatation des veines spermatiques avec un reflux. Elle s'accompagne souvent, mais pas toujours, d'une altération de la spermatogenèse dont la physiopathologie reste controversée. C'est une anomalie fréquente retrouvée chez 15 % de la population générale et 40 % des hommes infertiles. Les indications thérapeutiques sont la douleur (plutôt une pesanteur), l'hypotrophie testiculaire et des anomalies de la spermatogenèse (Schick *et al.*, 2016).

- **Le délai d'abstinence sexuelle**

Il existe une relation linéaire entre le délai d'abstinence sexuelle précédant l'examen (entre 1 et 3 jours), le volume, la concentration et le nombre total de spermatozoïdes dans l'éjaculat. Elle augmente effectivement le nombre de spermatozoïdes dans l'éjaculat, mais elle enrichit surtout le sperme en vieux spermatozoïdes beaucoup moins féconds et moins mobiles. Par contre une chute modérée de la mobilité peut être observée après un long délai d'abstinence (Micheli *et al.*, 2016).

- **L'âge**

On estime en général que la production spermatique démarre au moment où le volume testiculaire augmente, vers 13 ans en moyenne. La spermatogenèse est possible jusqu'à un âge avancé mais, il n'est pas sûr que les gamètes produits soient de bonne qualité. Des études démographiques ont montré que la fertilité de l'homme décroît progressivement à partir de 40-45 ans. Récemment on a trouvé chez des hommes féconds, qu'il y avait une baisse significative du pourcentage de spermatozoïdes normaux à partir de 40 ans et du pourcentage de formes mobiles à partir de 45ans (Rocca *et al.*, 2016).

- **La chaleur**

Différentes expériences faites chez l'homme ont montré que toute augmentation de la température scrotale provoque des altérations de la spermatogenèse se manifestant par une chute importante de la production spermatique et une augmentation de spermatozoïdes présentant des anomalies morphologiques (Mieusset, 1983 et Lauwerys et *al.*, 2007).

Il existe certains métiers qui exposent les hommes et leurs testicules à des températures trop importantes. C'est notamment le cas des métallurgistes, des boulangers, soudeur, masseur hammam, également pour ceux qui restent assis toute la journée (dont les bourses sont ainsi maintenues au chaud). Le même cas pour la fièvre qui est responsable de troubles de la libido, mais aussi de la spermatogenèse. Il a été aussi démontré que l'hyperthermie testiculo-épididymaire de faible intensité (1° à 1,5°) est même proposée comme méthode de contraception masculine (Alvin et *al.*, 2005).

- **Les radiations ionisantes** (rayons y, rayons x)

Une exploration radiologique itérative ou une radiothérapie de la zone sous diaphragmatique sans protection plombée peut entraîner une altération transitoire de la spermatogenèse (doses < 8 centi-Grays). Le fractionnement de la dose de rayonnement augmente l'effet néfaste. C'est le cas pour certains milieux professionnels et celui de la radiothérapie où 35 cGy entraîne une azoospermie. Celle-ci reste toutefois transitoire, à concurrence de 2 Gy.

Chez l'enfant, l'irréversibilité est plus fréquente que chez l'adulte pour des doses identiques. Par contre, la fonction hormonale du testicule n'est altérée que pour des doses très élevées (Hervé, 1996).

- **Certaines infections : l'orchite** (*infection testiculaire*) **ourlienne** causée par le paramyxovirus responsable des oreillons, est parfois la cause de stérilité particulièrement lorsqu'elle est contractée à la puberté.
- **Facteur nutritionnel** : la spermatogenèse nécessite certains apports alimentaires riches en acides aminés essentiels (arginine) et les vitamines essentiellement A, C, E (Boussouar et *al.*, 2004 et Alvin et *al.*, 2005).
- **Mode de vie** : certains comportements altèrent le pouvoir fécondant du sperme.

Ainsi, il arrive que les personnes anxieuses aient des troubles de la fertilité. Leur sperme est alors moins riche en spermatozoïdes.

Le stress, l'absorption excessive d'alcool, la prise de certains médicaments et les drogues (comme la marijuana) influent sur la fertilité de l'homme (Hervé, 1996 et Denoyer et *al.*, 2007). Les habitudes vestimentaires sont également mises en cause : le port de pantalons trop serrés pourrait augmenter la température du scrotum et altérer la qualité des spermatozoïdes. Enfin, la consommation exagérée d'alcool a des effets certains sur la spermatogenèse en inhibant la synthèse de la testostérone (Hervé, 1996 ; Hamamah et *al.*, 2004 et Alvin et *al.*, 2005).

- **Exposition aux gonadotoxines :** de nombreuses substances et expositions aux agents nocifs ont été impliquées dans l'induction des troubles de la spermatogenèse (Nikolaev et *al.*, 2015).

En ce qui concerne les traitements anticancéreux, l'intensité des lésions est proportionnelle aux doses utilisées et à la durée du traitement. La conservation de sperme avant la chimiothérapie et la radiothérapie devrait permettre de préserver la fécondité ultérieure (Zhou et *al.*, 2016). Dans la majorité des cas, la cause exacte des altérations de la spermatogenèse reste inconnue, on qualifie alors ces azoospermies ou oligoasthénospermies d'idiopathique (Nevoux et *al.*, 2011).

II. Etiologie de l'infertilité féminine

Chez la femme, la principale cause d'infertilité (30 à 35 %) est représentée par les troubles ovulatoires, suivie de près par les obstructions tubaires (26 %).

Ces anomalies peuvent être à l'origine de nombreuses causes dont les détails sont donnés ci-après :

- **Âge maternel**

La fécondabilité est maximale à l'âge de 25 ans pour devenir presque nulle à 45 ans. Aussi, à partir de 38 ans, il existe des risques d'anomalies génétiques non négligeables, comme la trisomie 21 (Serhal et *al.*, 1988).

- **Infections génitales**

Les infections génitales liées à Chlamydia et Gonocoque entre autres, multiplieraient les risques d'obstruction tubaire (représentant 26% des causes

d'infertilité) par 32,1 pour une infertilité primaire et par 22 pour une infertilité secondaire (Al-Moushaly, 2013).

- **Antécédents chirurgicaux**

Toute chirurgie abdominopelvienne peut être à l'origine d'adhérence tubopelvienne ou d'exérèse (ovaire, trompe...) : elle multiplie le risque d'infertilité primaire par 4,7 et secondaire par 7,1 (Byrd et *al.*,1987).

- **Poids extrêmes**

L'excès de poids (obésité) ou la maigreur excessive (anorexie) chez la femme, ils entraînent des troubles de l'ovulation avec aménorrhée ou oligoaménorrhée, diminuant ainsi la fertilité.

- **Alimentation**

Selon des données récentes, le statut nutritionnel d'une femme et son régime alimentaire auraient un rôle dans la fertilité. Des modèles diététiques spécifiques, riches en acides-gras oméga-3 et contenant des micronutriments, comme la vitamine D, ont révélé un impact sur la fertilité (Byrd et *al.*,1987).

- **Anomalies de l'ovulation**

L'ovulation peut être totalement absente (anovulation) ou présente mais de mauvaise qualité (dysovulation). Les troubles de l'ovulation peuvent être dus à un dysfonctionnement des ovaires eux-mêmes (origine ovarienne) ou de l'axe hypothalamo-hypophysaire (origine centrale) (Courbiere et *al.*, 2011).

- **Origine ovarienne**

Des ovaires sains et en bon état de fonctionnement sont nécessaires pour libérer l'ovule et lui permettre de rencontrer un spermatozoïde. Malheureusement, plusieurs raisons peuvent expliquer que des ovaires capricieux perturbent l'ovulation.

Il peut s'agir de:

- a) la **présence de microkystes aux ovaires** ;

- b) un **mauvais fonctionnement de l'hypophyse et de**

l'hypothalamus (les glandes du cerveau qui libèrent les hormones féminines) ;

- c) des **radiothérapies** ou **chimiothérapies** réalisées pour traiter un cancer (Serghini et *al.*,2010).

- **Obstacles mécaniques**

Au niveau des trompes ou de l'utérus, les obstacles mécaniques peuvent être la conséquence d'infections génitales ou survenir à la suite de manoeuvres gynécologiques (après grossesse extra-utérine, post-partum, interruption volontaire de grossesse). L'obstacle utérin peut avoir aussi pour origine une malformation, des polypes ou un fibrome. Ces obstacles vont empêcher la fécondation et la nidation (Rirby et *al.*, 1991).

- **Causes cervicales**

La glaire cervicale peut être sécrétée de façon inadéquate (quantité, qualité, pH, présence d'anticorps anti-spermatozoïdes). De ce fait, les spermatozoïdes ne pourront pas féconder l'ovocyte. Ces anomalies peuvent être dues à des infections, des dysfonctionnements des glandes endocervicales ou être consécutives à des traitements de lésions du col de l'utérus (conisation, électro-coagulation) (Rossin et *al.*, 2006).

- **Endométriose**

L'endométriose est caractérisée par des localisations anormales de la muqueuse utérine (ovaires, trompes, cavité péritonéale). Elle entraîne une inflammation locale et crée une résistance à la progestérone : la sortie de l'ovocyte, le transport du sperme ou de l'embryon (si une fécondation a eu lieu) seront compromis. La muqueuse utérine est impropre à la nidation (Rirby et *al.*, 1991).

- **Tabac et excès d'alcool et de drogues**

Le tabac allonge le délai de conception, diminue la réserve ovarienne et les taux de succès de l'AMP. Il augmente le risque de grossesse ectopique et d'avortement spontané en début de grossesse (Rirby et *al.*, 1991). C'est un facteur de risque des désordres menstruels et de ménopause précoce car il diminue le taux d'œstradiol (Rossin et *al.*, 2006).

III. Recours à l'AMP

Si toutefois une grossesse spontanée n'apparaît pas après chirurgie et/ou traitements médicamenteux, le couple sera orienté vers la technique d'AMP la plus adaptée à leur cas (Faye et *al.*, 2000).

Suite au bilan du couple et de chaque partenaire, les étiologies de l'infertilité sont établies dans la plupart des cas, même si parfois aucune cause évidente n'est révélée (infertilité inexpliquée). Une estimation des chances de conception naturelle, du taux de succès escompté, des risques des différents traitements sera faite et exposée au couple. La proposition repose donc sur la situation, et intègre des éléments relatifs à l'âge et la durée de l'infertilité. Le recul de l'âge des femmes désirant concevoir un premier enfant est une cause importante d'infertilité et de recours à l'AMP (Sami et *al.*, 2012).

En effet, **après 38 ans, le stock de follicules commence à s'épuiser et les ovocytes sont de moins bonne qualité, entraînant une augmentation du risque d'infertilité.**

De récents travaux de l'Institut de veille sanitaire montrent par ailleurs une tendance à la **baisse de qualité du sperme chez les hommes représentatifs de la population générale** sur la période 1989-2005 et sur la période 1998-2008. Ils montrent également une augmentation des taux de cancer du testicule, de cryptorchidie (absence de descente d'un ou deux testicules dans le scrotum) et d'hypospadias (malformation qui se manifeste par l'ouverture de l'urètre dans la face inférieure du pénis au lieu de son extrémité), avec des différences géographiques. Indépendamment des causes génétiques ou constitutionnelles, il existe probablement des facteurs environnementaux pour expliquer cette tendance : le surpoids, le tabagisme, l'obésité et les expositions environnementales, notamment à certains polluants organiques persistants (tels que les PCB) et métaux lourds. Certaines de ces substances agissent à faible dose et exercent des effets différés dans le temps (Sami et *al.*, 2012).

Chapitre IV

Assistance médicale à la procréation (AMP)

I. Infertilité humaine

I.1. Définition

L'infertilité est définie par l'OMS par l'absence de grossesse au bout d'un an ou plus de rapport réguliers non protégés chez les couples en âge de procréer (femme âgées de 18 à 45 ans). Après 2 ans, 5 % des couples sont dit infertiles avec un taux de grossesse spontané proche de zéro (Poncelet et *al.*, 2011).

Certaines définitions s'avèrent nécessaires afin de bien distinguer les termes suivants :

- **La fertilité** : définit une aptitude à concevoir : elle est une potentialité
- **La fécondité** : représente le fait d'avoir eu un enfant (procréation).
- **L'infécondité** : un couple est infécond tant qu'il n'a pas eu d'enfant de manière volontaire ou involontaire. Elle peut être :
 - **Primaire** : si la femme n'a jamais été enceinte.
 - **Secondaire** : survient après une grossesse que celle - ci abouti ou non a la naissance d'un enfant vivant.
- **La stérilité** : état qui correspond uniquement, au sens strict du terme, à une situation définitive et irréversible : l'absence totale de possibilité de procréation (Blondel et *al.*, 2008).

I.2.Epidémiologie

Pendant longtemps, l'origine de l'infertilité a été attribuée automatiquement à la femme, l'homme étant a priori jugé fertile. Selon Rochebrochard (2001), les recherches menées depuis une trentaine d'années révèlent que l'origine des infécondités semble plus équitablement répartie entre les hommes et les femmes.

L'OMS estime qu'environ 15% des couples rencontrent des difficultés à procréer, ce qui représente 60 à 80 millions de couples infertiles (Bienvenu, 1999). D'après Daar et Merali (2002), cette proportion est variable selon les pays, elle peut même atteindre un tiers des couples en Afrique sub-saharienne en raison de l'augmentation des maladies infectieuses de l'appareil génital.

Le tableau suivant représente une étude mondiale qui définit les catégories générales de stérilité et les pourcentages attribués à chaque catégorie (tableau 3) (Campina,2007):

Tableau 3: Catégories générales de stérilité (selon l’OMS) (Campina, 2007)

Catégories	Europe (%)	Afrique (%)	Asie (%)	Amérique (%)	Est méditerranéen (%)
Grossesse au cours des investigations	12	15	16	13	15
Aucune cause démontrable	14	5	13	10	3
Causes féminines	31	37	34	25	25
Causes masculines	22	8	13	22	19
Causes mixtes	21	35	24	30	38

II. Prise en charge par (AMP)

II.1.Historique

L'AMP connaît un essor fulgurant depuis une trentaine d'années, permettant ainsi de remédier à l'infertilité de plusieurs couples. Les techniques développées ont permis à l'homme d'intervenir scientifiquement sur sa propre conception et de satisfaire son désir d'enfant.

Les origines de l'AMP remontent au 18^{ème} siècle, l'insémination artificielle (IA) pionnière de ces techniques, était alors une pratique clandestine. La première IA humaine réussie est généralement attribuée à un médecin anglais, John Hunter vers 1790. A partir de cette date, de nombreuses inséminations se firent avec le sperme du conjoint (IAC) (Clément, 2006). Les différentes interventions de cette technique restaient toutefois dans la confidentialité, vu que cette pratique était assimilée à un acte illégitime. Elle sera confrontée à un vigoureux rejet des autorités religieuses et morales. Ceci s'est traduit par une condamnation en 1880 par le tribunal de Bordeaux, et en 1897 par l'église catholique pour être contraire à « la loi naturelle ». Cependant, certains médecins continuèrent à la pratiquer clandestinement bien qu'aucune loi ne l'interdise expressément (Bateman, 2002).

Parallèlement, l'insémination artificielle (IA) se développera aux Etats Unis où la première insémination artificielle avec le sperme d'un donneur (IAD), sera réalisée en 1884 à Philadelphie par le Professeur Pancoast. Cependant, ce fait n'a été relaté dans la littérature qu'en 1909 dans le Medical World (Hottois et Missa, 2001).

En 1991, c'est le hasard d'un accident qui permettra introduction de l'ICSI (d'après l'acronyme anglais pou l'Intra Cytoplasmic Sperm Injection) dans l'arsenal procréatif. L'exploitation de cette technique tout d'abord par l'équipe de Van Steirteghem à Bruxelles puis par de nombreuses équipes dans le monde, ce qui permettra à de nombreux couples de satisfaire leur désir d'enfant. Elle se révèle une efficacité remarquable notamment face à l'infertilité masculine en réduisant les exige quantitative et qualitative des spermatozoïdes puisqu'on peut recourir même à des spermatiques par biopsie testiculaire (David, 2000).

II.2. Techniques utilisées en AMP

Les techniques d'AMP ou ART (Assisted Reproductive Technology) est un ensemble de pratiques permettant la procréation en dehors du processus naturel, en faisant intervenir un ou plusieurs tiers dans la conception (médecins et donneurs). Elle représente de nos jours un outil indispensable dans la prise en charge de la stérilité des couples. Selon Zorn et Savale (2005), on retrouve principalement deux grandes catégories de techniques d'AMP :

- Celles qui favorisent la fécondation *in vivo* en rapprochant les gamètes de l'ampoule tubaire, site physiologique de leur rencontre : inséminations cervicale, intra utérine ou tubaire, GIFT (Gamete intra fallopian transfert) ;
- Celles qui réalisent la fécondation *in vitro* (FIV) : ou 1 IVETE (Fécondation in vitro et transfert embryonnaire), ICSI, IMSI (Intra Cytoplasmic Morphological Sperm Injection).

II.2.1. Insémination artificielle (IA)

L'insémination intra-utérine est une technique proposée de première intention dans de nombreuses situations d'infertilité à trompes normales comme l'infertilité masculine, les infertilités d'origine cervicale, ou les infertilités inexplicables.

II.2.1.1. Principales étapes de l'insémination

II.2.1.1.1. Stimulation ovarienne

La stimulation ovarienne est un traitement médical qui consiste à administrer de façon quotidienne un inducteur de l'ovulation (hormone) per os ou par voie sous cutanée. La surveillance de ce traitement est appelée monitoring (David, 2000).

II.2.1.1.2. Médicaments inducteurs du développement et de la maturité folliculaire

Ce sont des substances destinées à induire le développement et la maturation. Ces médicaments servent à :

- Prendre le cycle en charge en vue d'AMP en stimulation mono ou pauci folliculaire (insémination artificielle) ou en stimulation multi folliculaire (hyperstimulation contrôlée pour fécondation in vitro) ;
- Stimuler la phase folliculaire pour obtenir une glaire cervicale de meilleure qualité ou un corps jaune adéquat (Fernandez, 2006).

Il existe deux types de médicaments inducteurs du développement et de la maturité folliculaire : les inducteurs à action centrale (citrates de clomifène et LH-rh) et les inducteurs à action ovarienne directe (les gonadotrophines humaines d'origine urinaire (HMG) et les gonadotrophines humaines d'origine recombinante).

II.2.1.1.3. Monitoring de l'ovulation

Le monitoring de l'ovulation correspond à la surveillance échographique et biologique du déroulement d'un traitement avec inducteur de l'ovulation.

Selon le type de traitement inducteur, le monitoring permet une :

- Vérification de l'efficacité et du bon déroulement du traitement : surveillance de la croissance folliculaire et de la survenue d'une ovulation en cas d'une stimulation simple de l'ovulation (stimulation mono folliculaire) ;
- Prévention du risque d'hyperstimulation ovarienne et de grossesses multiples ;
- Datation du déclenchement de l'ovulation par injection d'hCG et par conséquent de la rencontre optimale des gamètes (ovule et spermatozoïde).

II.2.1.1.4. Déclenchement

C'est l'injection intra musculaire ou sous cutanée d'une dose suffisante (5000 UI) d' hCG (human chorionique gonadotrophin ou ovitrelle), qui va mimer le pic de LH déclenchant l'ovulation du ou des follicules mûres.

Le déclenchement de l'ovulation est généralement indiqué lorsqu'on observe :

- au moins un follicule de plus de 18mm de diamètre à l'échographie. Au-delà de 3 follicules matures, il convient de discuter sérieusement de la poursuite ou non de l'insémination avec le couple, en raison du risque non négligeable de grossesse multiple ;
- un taux d'oestradiol (E2) supérieur à 200pg/ml. Le déclenchement se fait par l'injection intramusculaire ou sous-cutanée d'hCG ou d'ovitrelle (Chaffkin et *al.*,1991).

II.2.1.1.5. Traitement du sperme

a) Recueil de sperme normal

La masturbation est la technique standard mais aussi la plus simple pour recueillir le sperme. Le recueil se fait dans une pièce isolée de la clinique ou du laboratoire et nécessite le respect de certaines conditions :

-une abstinence de 3 à 5 jours avant le recueil ;

-une hygiène stricte : uriner et se nettoyer les mains et le gland avant le prélèvement.

L'éjaculat est alors recueilli dans un pot stérile qui doit être maintenu à 37°C le temps de la liquéfaction (30 à 45 minutes) (Lansac, 2005).

b) Préparation du sperme

➤ Migration ascendante ou " swim-up "

La migration ascendante est particulièrement recommandée lorsque la mobilité des spermatozoïdes est médiocre. Différents agents pharmacologiques, comme la pentoxifylline, ont été proposés pour améliorer la mobilité et le pouvoir fécondant des gamètes mâles, mais les résultats sont inconstants et variables d'un spécimen à l'autre.

La technique d'AMP offrant le plus de chances de succès: ainsi, lorsque les paramètres du mouvement sont très perturbés, ou si un test d'attachement à la zone pellucide s'avère négatif, on proposera une technique d'injection intracytoplasmique d'un spermatozoïde (ICSI), plutôt qu'une fécondation in vitro classique (Glissant et *al.*, 1989).

➤ Migration sur gradient de densité :

Cette technique se base sur la combinaison de deux aspects : le mouvement des spermatozoïdes et leur capacité à traverser des milieux de différentes densités.

La méthode consiste à **centrifuger l'échantillon de sperme** pour la faire passer par une solution composée de deux liquides de densité distincte qui présente différents gradients de concentration et permet de séparer les cellules grâce à la centrifugation par gradients de densité. Actuellement, on utilise plutôt des solutions comme PureSperm ou SpermGrad, dû à la présence d'endotoxines (Glissant et *al.*, 1989).

II.2.1.1.6. insémination proprement dite

L'insémination proprement dite est réalisée le surlendemain du déclenchement. Elle est effectuée par un médecin gynécologue. Une fois traités, les spermatozoïdes sont transférés dans une petite quantité de milieu de culture, puis sont aspirés dans un cathéter l'aide d'une seringue (fig. 22) (Buvat et *al.*, 1990).

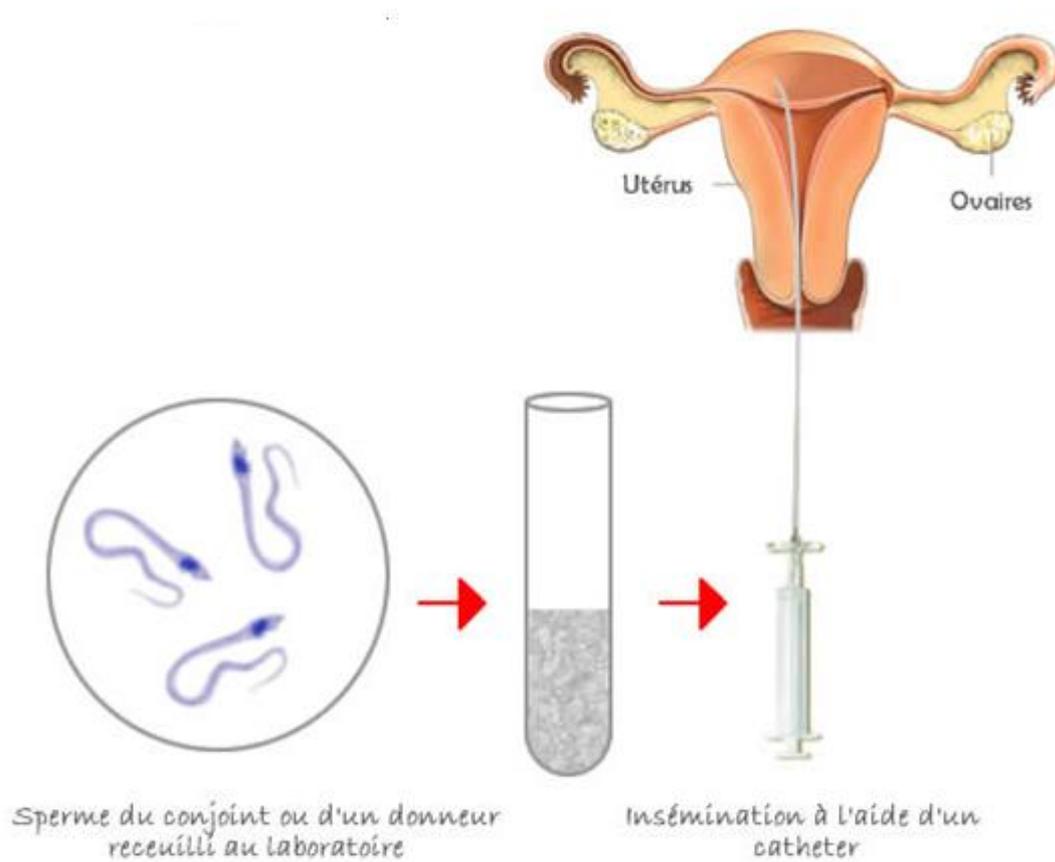


Fig.22: Insémination intra-utérine (IIU) (Buvat et *al.*,1990)

II.2.2. Fécondation *in vitro* (FIV)

La fécondation *in vitro* (FIV) cherche à reproduire au laboratoire la fécondation et les étapes précoces du développement de l'ovocyte fécondé. Au sens strict du terme, la FIV désigne la rencontre et la fusion du spermatozoïde et de l'ovocyte au laboratoire.

Cent mille enfants sont nés par FIV en France depuis la naissance d'Amandine, premier bébé éprouvette français (Testart J et *al.* 1982). Cette technique représente 16 % des tentatives d'AMP en intraconjugales et 38.8 % des tentatives FIV/ICSI d'après le rapport de l'Agence de Biomédecine en 2007 ; elle a pour objectif de reproduire en laboratoire la fécondation et les premières étapes du développement embryonnaire.

D'après Royere (2004), La fécondation *in vitro* a été proposée comme moyen efficace pour traiter des stérilités humaines résultant d'une obstruction définitive des trompes de Fallope. Frydman et *al.*, (1997), découpent schématiquement le processus de FIV en quatre étapes successives :

- Stimulation ovarienne ;
- Recueil des gamètes ;
- FIV à proprement dite ;
- et transfert embryonnaire dans l'utérus.

II.2.2.1. Stimulation ovarienne ou induction de l'ovulation

La très grande majorité des cycles de fécondation *in vitro* est associée à une stimulation de l'ovulation dont l'objectif est d'obtenir un nombre élevé d'ovocytes, donc d'embryons, et, ainsi, d'augmenter les chances de grossesse par rapport à un cycle spontané. Dans ce processus, on utilise des hormones appelées inducteurs de l'ovulation (FIVNAT, 2002).

II.2.2.2. Recueil des gamètes

La ponction des ovocytes s'effectue généralement sous anesthésie générale légère ou locale 34 à 36 heures après l'injection des déclencheurs de l'ovulation par voie vaginale sous contrôle échographique endovaginal. Le sperme est recueilli par masturbation au laboratoire, le jour de la ponction des follicules, il est ensuite préparé techniquement afin de sélectionner les spermatozoïdes les plus mobiles et ayant la meilleure morphologie (Royere , 2004).

II.2.2.3. FIV proprement dite

Consiste à la mise en culture des spermatozoïdes sélectionnés avec les ovocytes recueillis, dans des boîtes stériles contenant des puits avec un milieu de culture approprié. La fécondation survient entre 16 et 20h après l'insémination, caractérisée par l'apparition de 2 deux pronucléi (PN), masculin et féminin, suivie par la segmentation ou clivage qui correspond à la division cellulaire de l'ovocyte fécondé (zygote) aboutissant à la formation de l'embryon (FIVNAT 2002).

II.2.2.4. Transfert embryonnaire

Les embryons sont cultivés *in vitro* pendant 48 à 72h et transférés au stade de 4 à 8 cellules. Ils sont classés en fonction de leur qualité cellulaire, à savoir: le nombre de cellules, leur régularité (tailles de cellules différentes ou non), et leur fragmentation. Les embryons utilisés en priorité sont ceux chez qui la chronologie de la division cellulaire est respectée, avec des cellules bien régulières et sans fragmentation, car ils donnent les meilleures chances de grossesse (Royere , 2004).

Le transfert consiste à introduire les embryons obtenus à l'intérieur de la cavité utérine en passant à travers le col utérin, il se fait sans anesthésie sous contrôle échographique vers 48 ou 72h après insémination (fig.23) (Buvat et *al.*,1990).

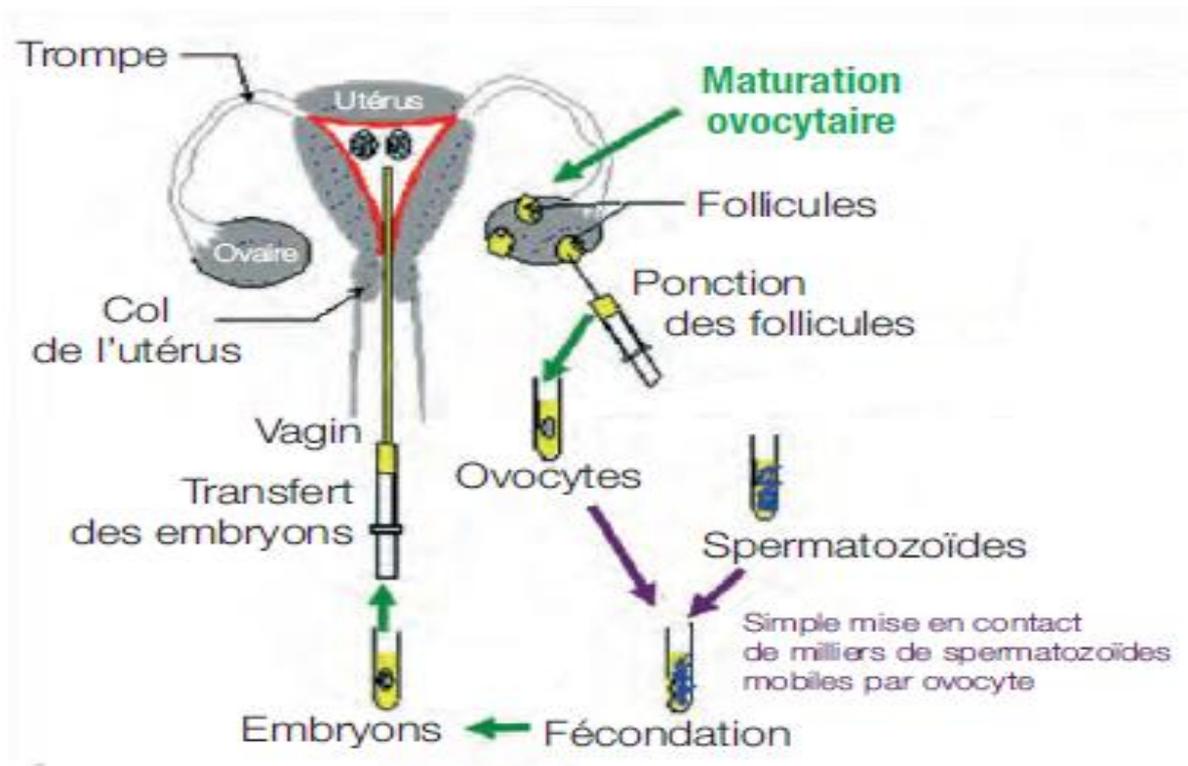


Fig.23: Technique de fécondation *in vitro* (FIV) (OMS, 2010)

II.2.3. Injection intracytoplasmique de spermatozoïde (ICSI)

Cette technique représente environ 25% des tentatives d'AMP (assistance médicale à la procréation) en intraconjugales et 61 % des tentatives FIV/ICSI (Fecondation *in vitro* / injection intra cytoplasmique du sperme) d'après le rapport de l'Agence de Biomédecine de 2007.

Le traitement de l'infertilité masculine a connu un réel essor avec le développement de l'injection intracytoplasmique des spermatozoïdes ou ICSI qui a indéniablement constitué l'événement marquant de l'année 1992 quand Palermo et ses collaborateurs rapportent la première grossesse obtenue par l'injection d'un seul spermatozoïde dans le cytoplasme de l'ovocyte (fig.24) (Palermo et *al.*,1992).

La technique de l'ICSI est une micro-injection directe à l'aide d'une micropipette d'un spermatozoïde dans le cytoplasme ovocytaire.

Selon Barrière (2004), le recours à l'ICSI est indiqué dans les cas suivants:

- Azoospermie excrétoire avec prélèvement chirurgical de spermatozoïdes ;
- OATS importantes, sévères et extrêmes entraînant un échec lors d'une prise en charge avec l'IIU ou avec une FIV ;
- Asthénospermie majeure : dyskinésies flagellaires.

Les étapes d'induction de l'ovulation et le recueil des gamètes sont identiques à celles décrites lors de la FIV classique :

- Les ovocytes recueillis subissent deux étapes de décoronisation afin de dissocier les cellules du cumulus : la première chimique à l'aide de la Hyaluronidase ;
- L'observation au microscope permet de noter le stade de maturité ovocytaire. Seuls les ovocytes matures ayant émis le 1^{er} globule polaire seront micro injectés, chacun par un seul spermatozoïde sélectionné à l'aide d'une pipette d'injection, l'ovocyte lui est maintenu par une pipette de contention (Hamamah et *al.*, 2004) ;

La fécondation est observée 16 à 20 h après par l'apparition des 2 PN 48 ou 72 h après la micro-injection 2 ou 3 embryons en moyenne seront transférés dans la cavité utérine (OMS, 2010).

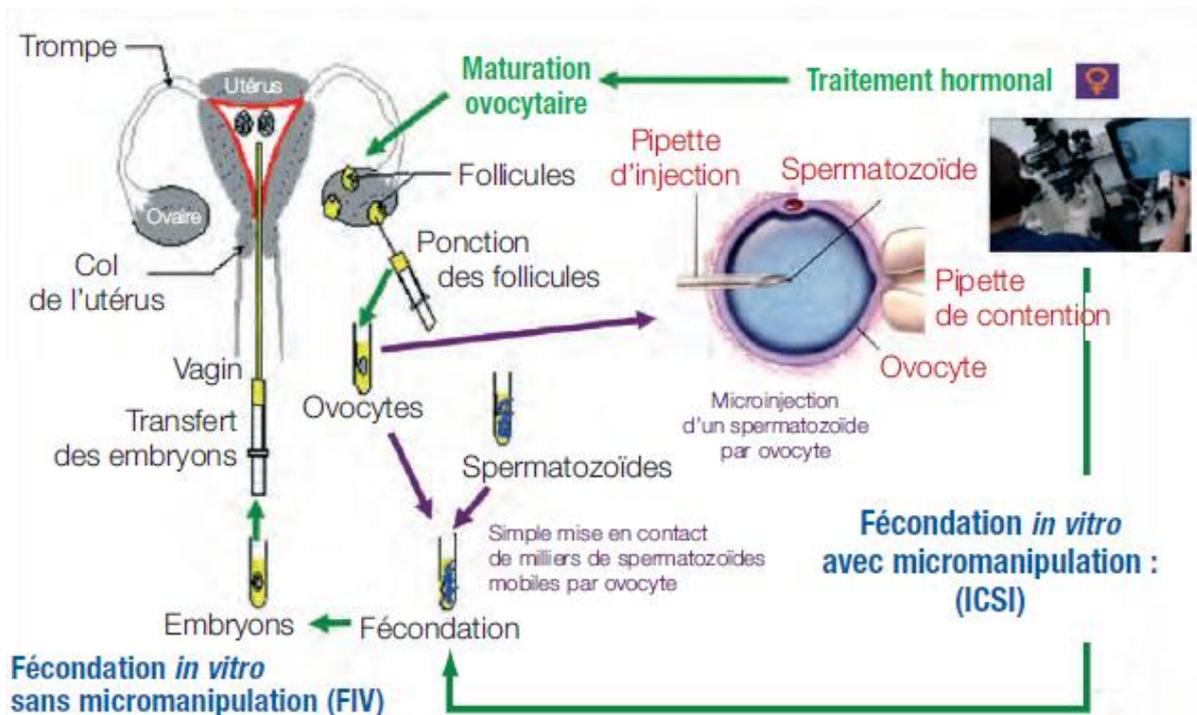


Fig.24: Technique d'injection intracytoplasmique de spermatozoïde (ICSI) (OMS, 2010)

II.2.4. Intracytoplasmic Morphologically Selected Sperm Injection (IMSI)

L'IMSI (intracytoplasmic morphologically selected sperm injection) est une évolution de l'ICSI qui permet une meilleure sélection du spermatozoïde qui est injecté dans l'ovocyte grâce à l'utilisation d'un microscope à fort grossissement (jusqu'à 6000x) (fig.25).

Cette technique est notamment utilisée lorsque les spermatozoïdes présentent des défauts morphologiques (par exemple des vacuoles) qui ne sont pas visibles au grossissement conventionnel (400x) (Fernandez, 2006).

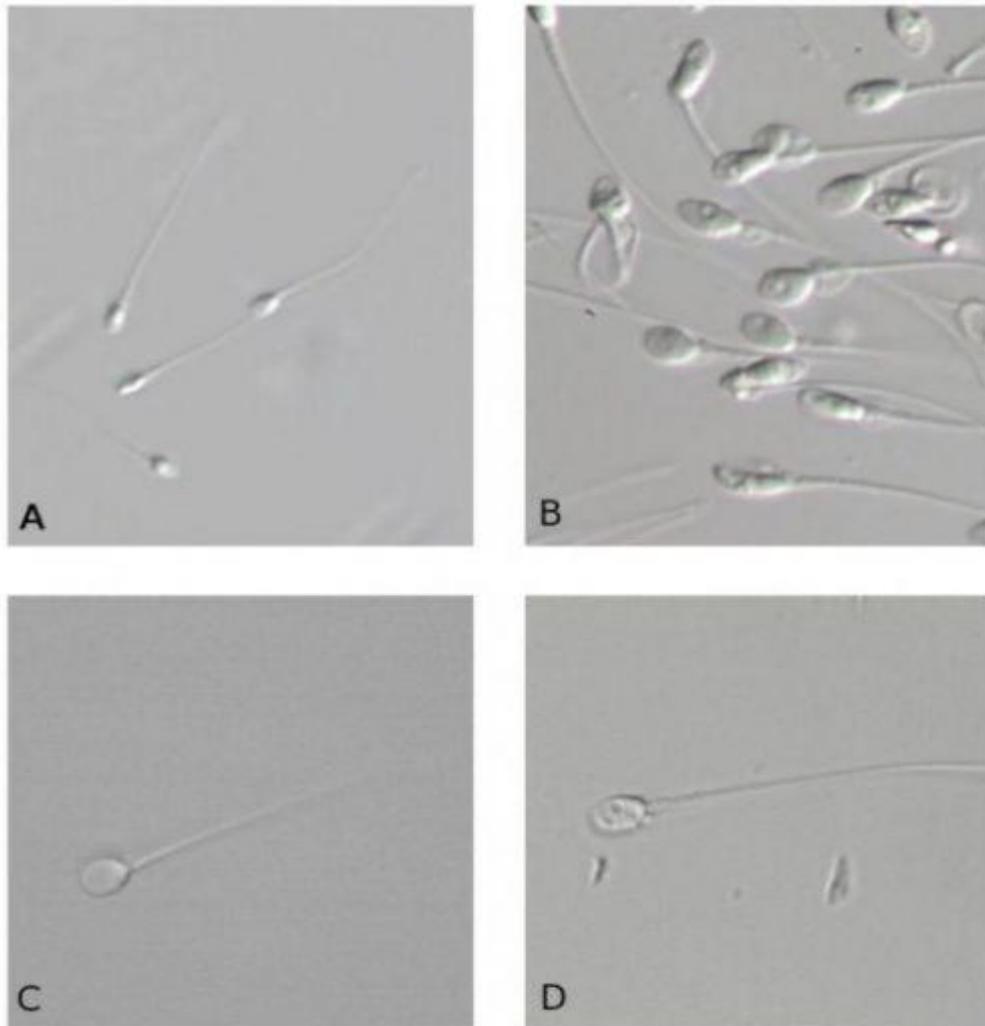


Fig.25: Spermatozoïdes vivants observés dans les conditions conventionnelles de l'ICSI et IMSI(Fernandez, 2006).

Spermatozoïdes vivants observés en ICSI (A) et avec un grossissement de l'IMSI (B, C, D). La forme des têtes et la présence éventuelle de vacuoles peuvent être clairement examinées. Un spermatozoïde sans vacuoles et utilisable est montré en C.

II.2.5. Techniques associées aux pratiques d'AMP

Les laboratoires de fécondation *in vitro*, ont été amenés, progressivement, à développer différentes techniques pour tenter de répondre aux problèmes posés par des situations difficiles telles que des situations d'échecs de maturation ovocytaire *in vivo* ou d'implantation. Pour les échecs de maturation ovocytaire *in vivo*, ils ont développé la maturation *in vitro* (MIV) et pour les échecs d'implantation, ils ont opté pour la culture prolongée des embryons jusqu'au stade blastocyste (Holzer et *al.*, 2007).

II.2.5.1. Maturation *in vitro* des ovocytes (MIV)

La maturation *in vitro* consiste à prélever des ovocytes immatures et à les faire mûrir en culture, en laboratoire. Elle constitue une alternative intéressante pour les patientes présentant un syndrome des ovaires poly kystiques et une hypersensibilité aux gonadotrophines. Elle permet de:

- réduire le risque d'hyperstimulation grave lors des protocoles classiques de stimulation ovarienne (Trounson et *al.*,1994 ; Poirot et *al.*,2003 ; Holzer et *al.*,2007 ; Zhao et *al.*, 2009)
- récupérer les ovocytes immatures récoltés lors des ponctions de FIV classiques au lieu de les jeter (Cao et *al.*, 2009).

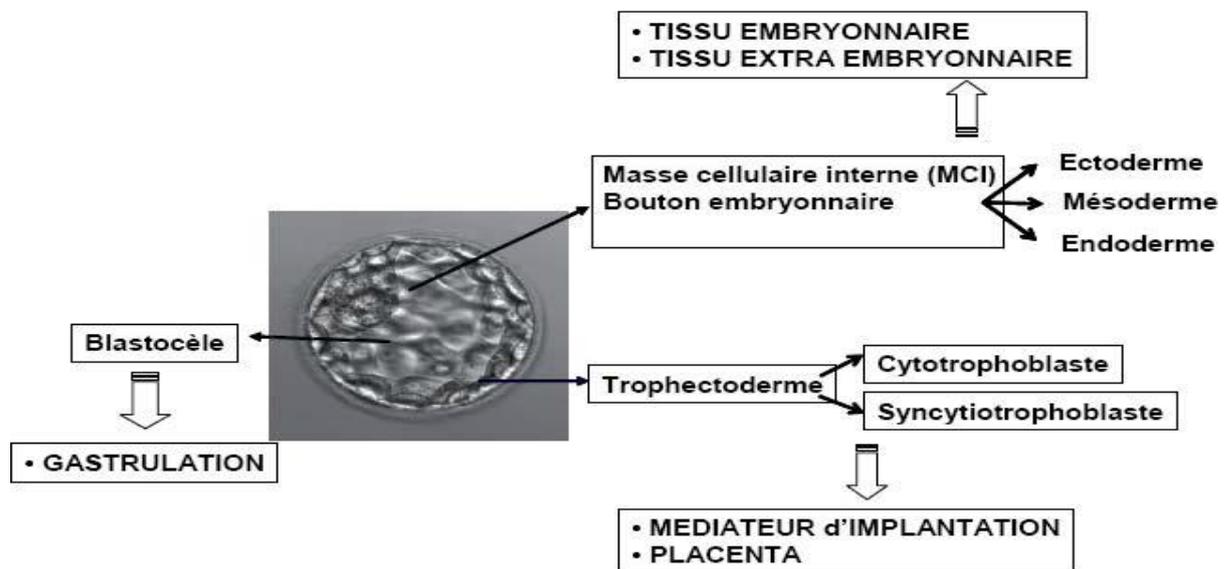


Fig.26 : Blastocyste (Cao et *al.*, 2009)

II.2.5.2. Conservation des gamètes et d'embryons

La technique de cryoconservation est de nos jours utilisée pour la conservation des gamètes (spermatozoïdes, ovules et tissus germinaux) et des embryons et son efficacité est reconnue.

Chez l'homme, le sperme est recueilli au laboratoire par auto masturbation. Après traitement, il est conditionné dans des paillettes et conservé dans de l'azote liquide à - 196°C. Ceci est également possible pour les tissus testiculaires recueillis par

biopsie. Leur conservation est actuellement bien maîtrisée, qu'il s'agisse de congeler des cellules isolées par biopsie ou des tubes séminifères entiers (Vendrely, 2002).

Chez la femme, et d'après Leroy (2001), la cryoconservation des ovocytes se heurte jusqu'ici à des difficultés telles que seul un faible pourcentage des ovules traités s'avère capable de résister aux procédures de congélation / décongélation. Quant à la conservation du tissu ovarien, seuls les follicules primordiaux survivent au processus de la congélation / décongélation (Aubard et *al.*, 2002).

II.2.6. Les risques de la stimulation ovarienne

L'utilisation des stimulateurs de l'ovulation a été récemment suspectée de favoriser le développement ultérieur d'un cancer de l'ovaire. Le lien de causalité entre la stimulation de l'ovulation et l'apparition d'un cancer de l'ovaire, s'il existe, apparaît en tout cas très faible, peut-être lié à une prédisposition génétique. Trop de femmes subissent ce type de thérapeutique sans justification réelle, sans surveillance et pendant des périodes de temps inutilement prolongées. Loin d'une banalisation trop fréquente, le traitement stimulateur de l'ovulation doit être utilisé après une enquête rigoureuse des facteurs de fertilité du couple, dans le cadre d'un diagnostic précis et d'une surveillance régulière et sur une période de temps limitée: tout traitement adéquat de l'infertilité du couple doit prouver son efficacité en un maximum de 6 cycles (Aubard et *al.*, 2002).

II.2.7. Diagnostic Prénatal (DPN)

Le DPN s'entend des pratiques médicales ayant pour but de détecter *in utero* chez l'embryon ou le fœtus une affection d'une particulière gravité. L'anomalie peut être chromosomique, génétique ou morphologique.

Ce diagnostic a pour but de:

- permettre une thérapeutique intra utérine ou la naissance dans un centre obstétrico- pédiatrique équipé ; ou

- discuter avec le couple l'interruption dite « thérapeutique » de la grossesse lorsque la pathologie fœtale paraît sévère et irréversible (Paycheng et *al.*2006).

Jord et *al.* (2010), distinguent deux catégories de techniques de DPN :

II.2.7.1. Les méthodes non invasives:

elles sont sans risques pour la mère et pour l'enfant car:

- **L'échographie** permet de déceler des anomalies dans le développement du fœtus. Trois échographies sont prises en charge pendant la grossesse ;
- **L'embryoscopie et la fœtoscopie** consistent à observer le fœtus dans le liquide amniotique via un système optique introduit par le col de l'utérus ;
- **Le prélèvement de sang** maternel permet l'identification et le dosage de différents marqueurs sériques.

II.2.7.2. Les méthodes invasives : elles comportent un risque d'interruption accidentelle de la grossesse :

- Le prélèvement des villosités choriales (partie du placenta d'origine fœtale) ou choriocentèse se fait par voie vaginale ;
- L'amniocentèse est le prélèvement de liquide amniotique à travers la paroi abdominale, sous anesthésie locale ;
- Le prélèvement de sang fœtal (cordocentèse) se fait par ponction de veine ombilicale du cordon (Vendrely, 2002).

III. Assistance médicale à la procréation (AMP) en Algérie

III.1. Histoire de l'AMP en Algérie

Le premier centre d'AMP en Algérie a vu le jour en 1990 au niveau du CHU Hussein Dey par le Pr Laliem et le Dr Ftouki. Ce n'était pas un centre légalement institué, mais plutôt un projet de recherche. Les efforts de cette équipe médicale ont été récompensés par la naissance d'une fille par césarienne le 3 février 1991, première réussite algérienne dans le domaine. Entre 1990 et 1994, le centre a obtenu de très bons résultats, compte tenu des moyens mis à sa disposition. Il y a eu 9 naissances vivantes, situant ainsi déjà à l'époque, l'Algérie comme le premier pays africain à réussir cette performance et comme précurseur en la matière. Mais la joie fut de courte durée car l'unité d'AMP publique a dû fermer après 1994 (Azzoug, 2007).

De 1994 jusqu'en 2001, il n'y a eu aucune activité malgré les efforts consentis par les médecins et chercheurs à l'époque. Les raisons de cette interruption sont mises sur le dos de la situation sécuritaire du pays et l'arrêt des subventions au projet par le ministère de la Santé (Azzoug, 2007).

Ainsi, l'AMP en Algérie était devenue l'apanage du privé. La première clinique privée autorisée par le ministère de la santé en 2001 est la clinique Feriel située à Alger. Actuellement, ce secteur compte neuf cliniques d'AMP et sa réussite se chiffre en milliers de naissances ces dernières années (APS, 2012).

Sachant que l'exercice de l'AMP connaît une évolution claire en Algérie suite à l'ouverture de trois nouveaux centres publics d'insémination intra utérine (IIU) dans le milieu hospitalier à Constantine, Oran et Alger (Benachour. 2012).

III. 2. Infertilité en Algérie

Si l'évocation des techniques de « bébés éprouvettes » et l'introduction de ces techniques en Algérie, semblaient relever de l'irréel jusqu'à un passé récent, il n'en est pas de même aujourd'hui. A l'instar de plusieurs pays dans le monde, l'AMP est aussi pratiquée dans notre pays. Elle présente une solution et une possibilité pour palier au problème d'infertilité dont souffrent plusieurs couples algériens qui peinent à procréer spontanément, leur permettant de ce fait de concrétiser leur projet parental et désir d'enfant. Selon le Pr. Mohamed Bouzekrini (2012) président de la société algérienne de fertilité et de contraception, le taux d'infertilité en Algérie se situe aux environs de 15%.

Contrairement aux idées reçues qui attribuent la stérilité à la femme, la situation est toute autre précise le Dr Nedir Cherif, président de l'association nationale des centres d'AMP, l'infertilité en Algérie est plus masculine que féminine.

Elles seraient de près de :

- 65 % chez les hommes ; et
- 35% chez les femmes.

Ses causes sont très variable chez l'homme c'est généralement la mauvaise qualité du sperme qui en est la cause ». En revanche, chez la femme. Les troubles de l'ovulation, les infections et le retardement de la procréation jusqu'à un âge quelque peu avancé sont les principales causes de son infertilité » (Reghis, 2007).

En revanche selon un bilan établi par la directrice du centre Tiziri, les causes de l'infertilité sont essentiellement dues à une défaillance masculine 57%, féminine dans 29% et mixte et inexplicables dans 8 et 6 % des cas respectivement (Azzoug. 2007).

III. 3. Réglementation de l'AMP en Algérie

En droit algérien, aucune réglementation ne régit les centres activant dans le domaine de l'AMP, ni d'ailleurs l'utilisation des techniques d'AMP. Ceci pouvant entraîner des situations parfois critiquables si ces techniques ne sont pas encadrées par une réglementation appropriée. Il ne reste donc que la conscience du professionnel pour assurer des limites à ces activités, mais la conscience ne peut-elle pas faillir ?

Une instruction fixant les bonnes pratiques cliniques et biologiques en matière de procréation médicalement assistée a été toutefois éditée par le ministère de la santé à l'intention des centres privés (Instruction n° 300 du 15 Mai 2000).

Outre les dispositions techniques sur l'acte biomédical, cette instruction précise l':

- autorisation de l'AMP uniquement pour les couples mariés et en âge d'enfanter (l'épouse doit être âgée de moins de 50 ans).
- énumération des actes interdits, aussi bien par la morale sociale que par la religion : il n'est pas permis le don de gamètes males en dehors du couple uni par les liens du mariage ; le don d'ovocytes même entre coépouses ; le don des embryons surnuméraires ou le recours à une mère porteuse ; le prêt de cytoplasme est assimilé à un don d'ovocytes et le clonage. Il n'est également pas autorisé de conserver les gamètes et les embryons congelés dans le cas de dissolution du mariage, soit par divorce soit par le décès de l'un des deux conjoints (Hamadi, 2008).

Par ailleurs, en dehors du diagnostic des défaillances juridiques et institutionnelles envers cette pratique, un appel est lancé par les praticiens à l'adresse des pouvoirs publics pour une prise en charge par la sécurité sociale des actes médicaux de l'AMP aux mêmes titres que les militaires pour lesquels toutes les tentatives de FIV ou d'IAC sont prises en charge et remboursées à 100% (Yacoubi, 2001).

III. 4. Résultats de la fécondité en Algérie

Les enquêtes nationales menées par le ministère de la santé montrent que l'indice synthétique de fécondité est passé de 4.4 enfants/femme en 1992 à 2.4 en 2008.

La figure suivante montre a titre indicatif, les taux d'accouchements cumulés par ponction obtenus sur un grand nombre de patientes traitées. Trois classes d'âge de patientes ont été considérées (<35, 35-38, \geq 39 ans) pour évaluer les chances de succès (fig.27).

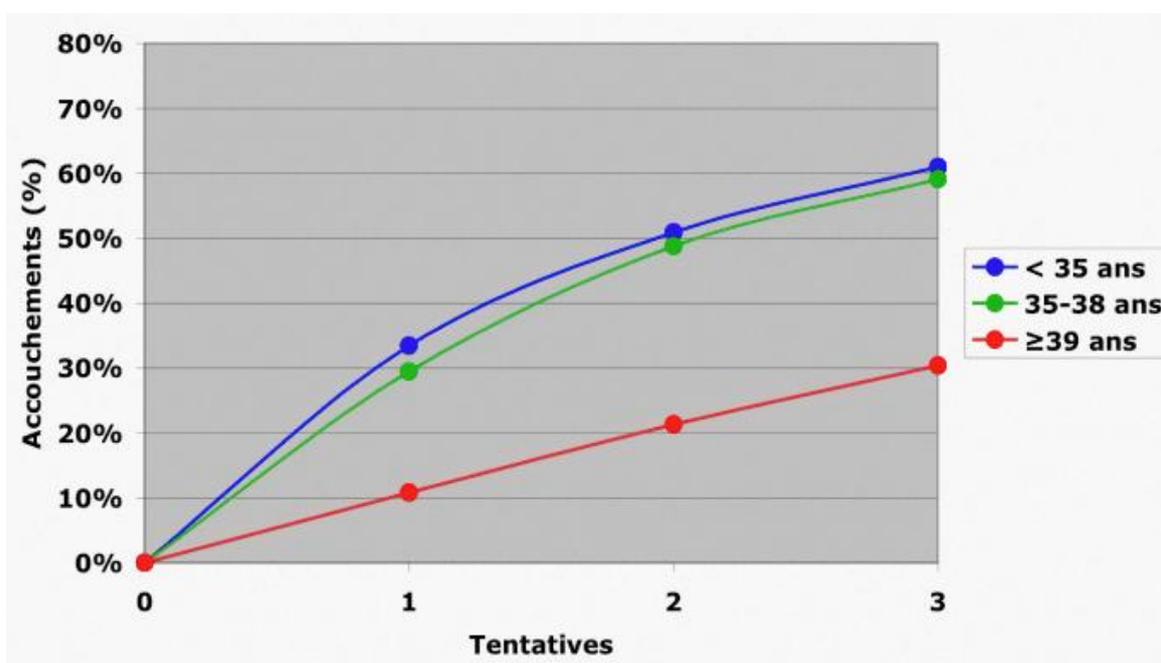


Fig.27 : Taux d'accouchement en fonction du nombre de tentatives en Algérie

Source : Rapport national : Population et développement en Algérie (2003)

IV. AMP et religions

IV.1. Judaïsme

Plus permissif que le catholicisme, il autorise les inséminations artificielles (avec sperme du conjoint uniquement, le contraire étant considéré comme un adultère), la fécondation in vitro (FIV), la congélation d'embryons, et le diagnostic pré implantatoire. Ces techniques doivent être réservées à un couple hétérosexuel, sauf dans le judaïsme libéral (Clemont. 2006).

IV.2. Catholicisme

L'Église catholique s'oppose à la procréation médicale assistée. Le Vatican considère que l'enfant doit être considéré comme un don de Dieu et conseille plutôt aux couples stériles d'adopter un/des enfant(s) ou de se mettre au service des enfants. Pour l'Église, un enfant doit être uniquement le fruit de la relation sexuelle d'un couple marié. L'insémination artificielle n'est jamais permise car elle n'est pas « un moyen technique ni une aide qui facilite l'acte conjugal », car elle s'y substitue (Oliva. 2006).

IV.3. Protestantisme

C'est visiblement l'ensemble de dénominations religieuses le plus ouvert en ce qui concerne l'AMP. En effet, le recours aux techniques d'AMP est autorisé. La seule restriction formulée est que ces techniques ne doivent pas avoir d'autre intérêt (par exemple financier) que celui de donner la vie à un enfant (Isnard, 2004).

IV.4. Islam

L'insémination Artificielle et la FIV sont permises, mais seulement si le couple est marié, et que le spermatozoïde et l'ovule proviennent bien du même couple désirant un enfant. La sélection du sexe du bébé est interdite, sauf par certains savants, dans le cas où une maladie génétique touche exclusivement un des deux sexes. Le diagnostic pré-implantatoire est autorisé seulement s'il est à visée thérapeutique. Les positions sont parfois divergentes entre les plus hautes autorités sunnites et chites par exemple (Yacoubi, 2001).

*Partie
expérimentale*

Partie 9
Méthodologie

I. Matériel et Méthodes

I.1. ETUDE 1 : Etude du Déclin des paramètres du sperme chez l'homme

Notre étude prospective et rétrospective réalisée entre 2000 à 2015 a porté sur un échantillon de 188 jeunes partenaires âgés de 25 à 35 ans ayant consulté au service de Gynécologie Obstétrique au CHU de Sidi-Bel-Abbès pour des problèmes de conception. Ces partenaires ont été par la suite dirigés au laboratoire d'analyses médicales de spermologie pour explorer leur problème de fertilité en vue d'une éventuelle prise en charge thérapeutique. Les objectifs de notre étude sont d'une part, d'étudier l'évaluation des paramètres spermatiques (le volume, la motilité, la numération, la concentration et la morphologie normale des spermatozoïdes) sur une période de 15 ans dans la région d'Ouest de l'Algérie cas de Sidi-Bel-Abbès et d'autres part, de rechercher s'il existe une relation directe entre l'influence des facteurs environnementaux, le style de vie, la position géographique et la qualité du sperme chez ces jeunes hommes.

I.1.1. Population sélectionnée

Un interrogatoire complet (voir annexe 1) a été proposé à 188 hommes venant au laboratoire d'analyses médicales. Il présente un élément essentiel pour l'approche étiologique et la mise en route des examens complémentaires se rapportant au problème d'infertilité. L'établissement d'une bonne confiance entre le patient et interviewer pendant le déroulement de l'interrogatoire est nécessaire et très recommandé pour un suivi ultérieur.

a) Critères d'inclusion

- Hommes jeunes appartenant à la tranche d'âge [25-35] ans ;
- Spermogramme normal ;
- Délai d'abstinence respecté (3-4jours) ;

b) Critères d'exclusion

- Age des hommes partenaires > 35 ans ;
- Spermogramme anormal ;
- Durée d'abstinence non respectée (< 3 ou > 4jours) ;
- Problèmes d'infertilité idiopathique chez la conjointe.

Les paramètres pris en considération dans cette étude concernent les caractéristiques sociodémographiques, les habitudes alimentaires, les antécédents médicaux, personnels, et familiaux et l'ancienneté des antécédents de l'infertilité, les paramètres détaillés sont indiqués ci-dessous :

- Age des patients;
- Durée de vie commune ;
- Durée d'infertilité ;
- Paternité antérieure ;
- Episodes des oreillons après la puberté ;
- Anomalies de la migration testiculaire ;
- Infections urogénitales à répétition ;
- Traumatismes urogénitaux (varicocèle, cryptorchidie, hernie);
- Prise de certains traitements hormonaux (androgènes, œstrogènes, gonadotrophines)
- Présence de pathologies associées (HTA, diabète, dialyse, tuberculose, épilepsie...);
- Habitudes alimentaires (sous alimentation, éthylisme, tabagisme) ;
- Exposition professionnelle aux produits toxiques (agriculture, radiologie, plomberie...)
- Comportement sexuel (éjaculation précoce, rétrograde...)
- Facteurs génétiques ;
- Statut socioéconomique ;
- Tentative ou recours à l'AMP.

c) Recueil du liquide séminal

Les échantillons du sperme ont été recueillis par masturbation, et la durée d'abstinence était de deux à quatre jours (durée recommandée). La liquéfaction du liquide séminal est obtenue après 30 min à une température ambiante. Le volume, la concentration de sperme et le pourcentage de spermatozoïdes mobiles ont été mesurés, afin de calculer le nombre de spermatozoïdes total, le nombre de spermatozoïdes mobiles total et le pourcentage des spermatozoïdes morphologiquement normaux.

I.1.2. Matériel

Pour la réalisation du spermogramme et le spermocytogramme, nous avons utilisé le matériel indiqué dans le tableau ci-dessous:

Tableau 4 : Le matériel utilisé au laboratoire d'analyse spermiologique

Verrerie	Matériel en plastique	Appareils	Solutions et milieux de culture
- Baguettes en verre - Cellule Mallassez - Embouts - Lames - Lamelles - Pipettes Pasteur - Tubes stériles en verre	- Gants - Portoirs - Pots de recueil en plastique stériles - Seringues stériles	- Hôte - Etuve - Micropipettes - Microscope optique	- Eosine - Eau physiologique - Formol - Huile d'immersion - Milieux Hectoén et - Gélose au sang.

I.1.3. Méthodologie

I.1.3.1. Spermogramme

I.1.3.1.1. Principe

Le spermogramme a pour but d'évaluer l'activité sécrétoire des différents compartiments (prostate, vésicules séminales) participant à la formation du liquide séminal par la mesure du volume, du pH et de la viscosité. D'autre part, il permet également l'analyse de la production gamétique : la numération, la mobilité et la vitalité des spermatozoïdes.

I.1.3.1.2. Mode opératoire

a) Conditions du recueil

Le prélèvement du sperme se fait généralement après un délai d'abstinence sexuelle de 2 à 4 jours. Le recueil a été réalisé dans une pièce réservée à cet effet.

Après une toilette soigneuse des mains et du méat, l'éjaculation est obtenue par masturbation et mise dans un réceptacle stérile en plastique.

Remarque : Exceptionnellement, pour les patients qui réalisent un prélèvement à l'extérieur du laboratoire, doivent ramener leur recueil au laboratoire dans les 30 mn qui suivent le prélèvement et qui doit être maintenu au chaud pendant le transport.

b) Liquéfaction

Chaque échantillon d'éjaculat a été mis dans l'étuve à une température de 37°C pendant 30 mn, le temps nécessaire à la liquéfaction du sperme (fig.28).

Le spermogramme comprend un examen macroscopique et un examen microscopique



Fig.28 : Liquéfaction du sperme après incubation à 37⁰ C pendant 30 min

I.1.3.1.3.Examen macroscopique

Une fois que la liquéfaction est obtenue, on a procédé à la réalisation des analyses des paramètres spermatiques en se basant sur les références internationales de l'OMS, (2010) et d'autres références récentes (Clément, (2004) ; Bartoov et *al.*, (2002) ; Kumar et *al.*, (2015).

a) Mesure du volume

Le volume du sperme a été mesuré à l'aide d'un récipient gradué en verre à large ouverture. Il est généralement compris entre 2 et 6 mL (appelé le repère).

b) Mesure du pH

L'évaluation du pH est réalisée en déposant une goutte de sperme sur une lame sur laquelle on a mis une bandelette de papier pH. La couleur de la zone imprégnée est comparée à une échelle de lecture qui est comprise entre 6.1 et 10 (fig.29).

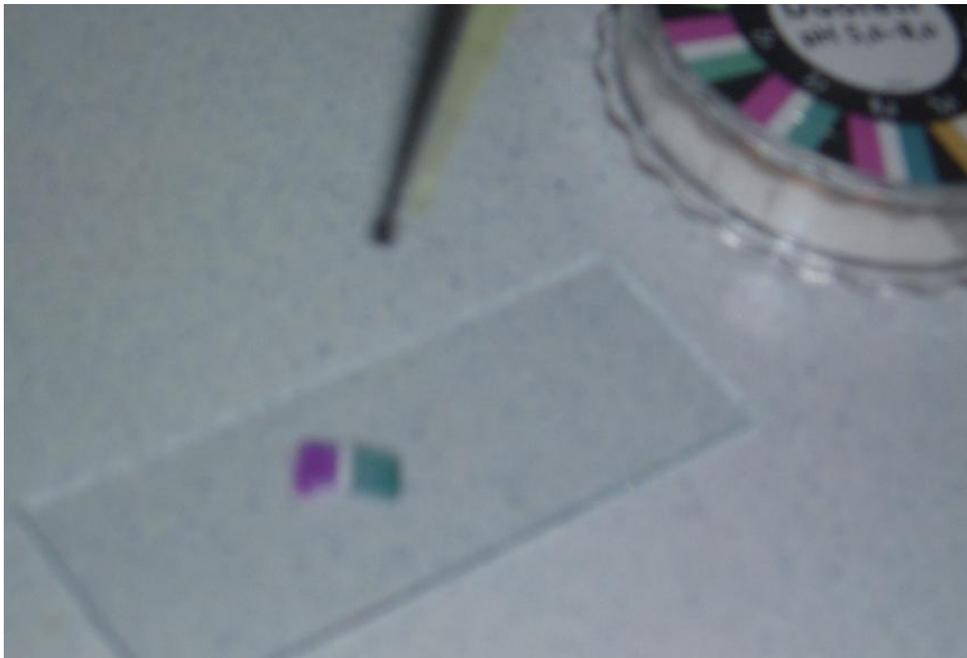


Fig.29: Mesure du pH du sperme avec le papier pH

c) Viscosité

La consistance de l'éjaculat a été évaluée en plongeant une baguette de verre dans le sperme et lors de son retrait, un filament d'une certaine longueur se forme, nous renseignant sur la qualité de l'écoulement du sperme.

- **A l'état normal** : le sperme s'écoule sous forme de gouttes bien séparées ;
- **A l'état pathologique** : la consistance est dite anormale ou augmentée lorsqu'elle forme des filaments qui excèdent les 2 cm entre chaque goutte.

I.1.3.1.4.Examen microscopique

L'examen microscopique nous permet d'évaluer la numération, la mobilité des spermatozoïdes et la recherche d'éventuels agglutinats spermatiques et d'autres éléments cellulaires.

a) Mobilité

La mobilité des spermatozoïdes est analysée par un examen direct de l'échantillon à l'état frais. A l'aide d'une micropipette une goutte de sperme de 10 μ L est déposée entre lame et lamelle puis observée au microscopique à un grossissement x40. Quatre à six champs choisis au hasard sont généralement parcourus pour compter et classer 100 spermatozoïdes selon leur type de motilité :

- Rapide et progressifs : **a**
- Lent ou faiblement progressif : **b**
- Mobile mais non progressif : **c**
- Immobile : **d**.

b) Recherche de l'agglutination

Lors de l'étude de la mobilité spermatique, la recherche des agglutinats dans l'échantillon est indispensable afin de déterminer s'il y a présence d'une infection de l'appareil urogénital.

c) Numération

La numération peut s'apprécier par comptage des spermatozoïdes dans la cellule de Malassez ou de Thomas. Selon la concentration de l'échantillon, une dilution (1/10 ou plus) dans l'eau physiologique avec du Formol 1% est réalisée pour permettre l'immobilisation des spermatozoïdes. A l'aide d'une micropipette, une goutte du sperme dilué est placée entre la cellule de Malassez et lamelle (fig.30) puis observée au grossissement x 40 (fig.31). L'observation microscopique permet de déterminer la numération des spermatozoïdes, des cellules rondes et des leucocytes (fig.32).

La formule suivante nous a permis de déterminer le nombre total des spermatozoïdes /mm³ :

$$\text{Moyenne des spermatozoïdes} \times \text{Dilution} \times 10 \times 10^3$$

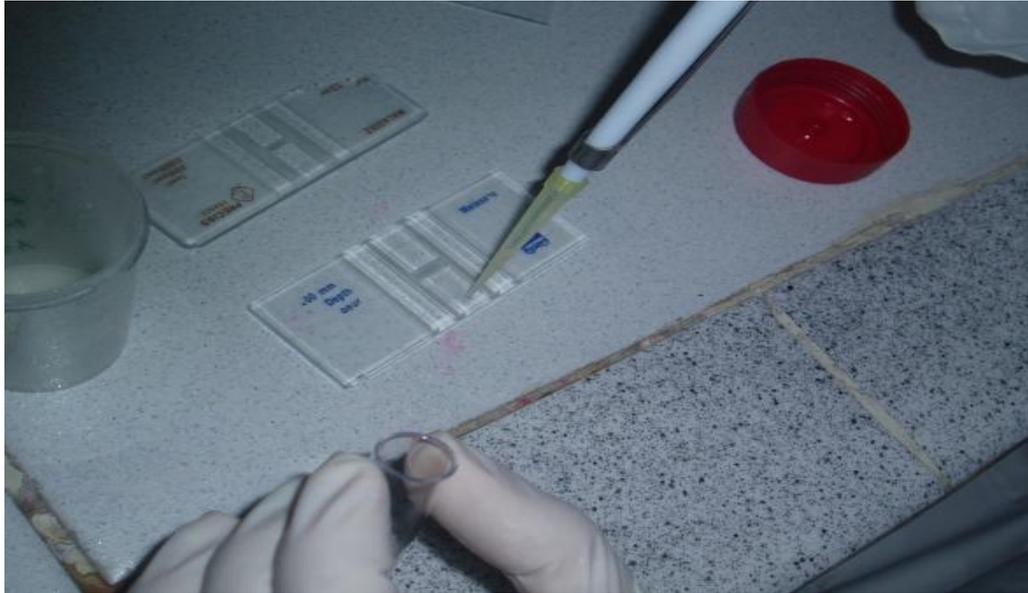


Fig.30 : La numération spermatique à l'aide d'une cellule de Malassez

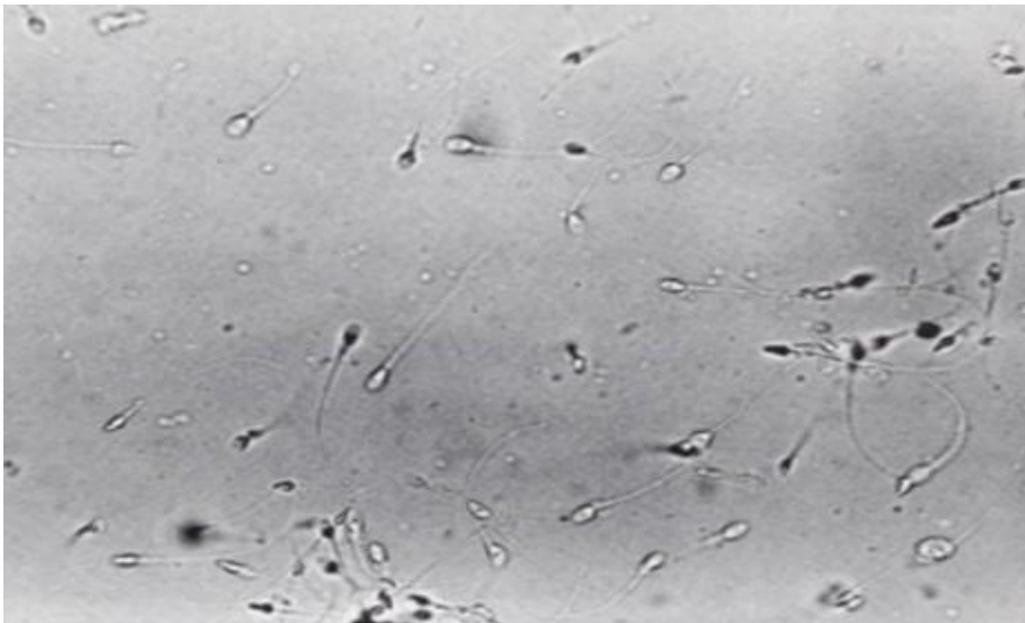


Fig.31: Observation microscopique d'un frottis spermatique à l'état Frais (Gx40)

d) Vitalité

La vitalité des spermatozoïdes est estimée grâce à la coloration à l'éosine. Dans un tube, une dilution volume à volume (1:1) du sperme avec de l'éosine (1%) est réalisée en utilisant 100 μ L de l'échantillon (annexe 2). A partir d'une goutte (10 μ L) du mélange obtenu, un frottis est réalisé sur lame puis séché à l'air ambiant.

L'observation microscopique au grossissement x40, nous permet de calculer le nombre de spermatozoïdes vivants (colorés en blanc) par rapport à ceux nécrosés (colorés en rose) (fig.33).



**Fig.32: Observation microscopique d'un frottis spermatique oligospermique
Sur la cellule de Malassez (Gx40)**

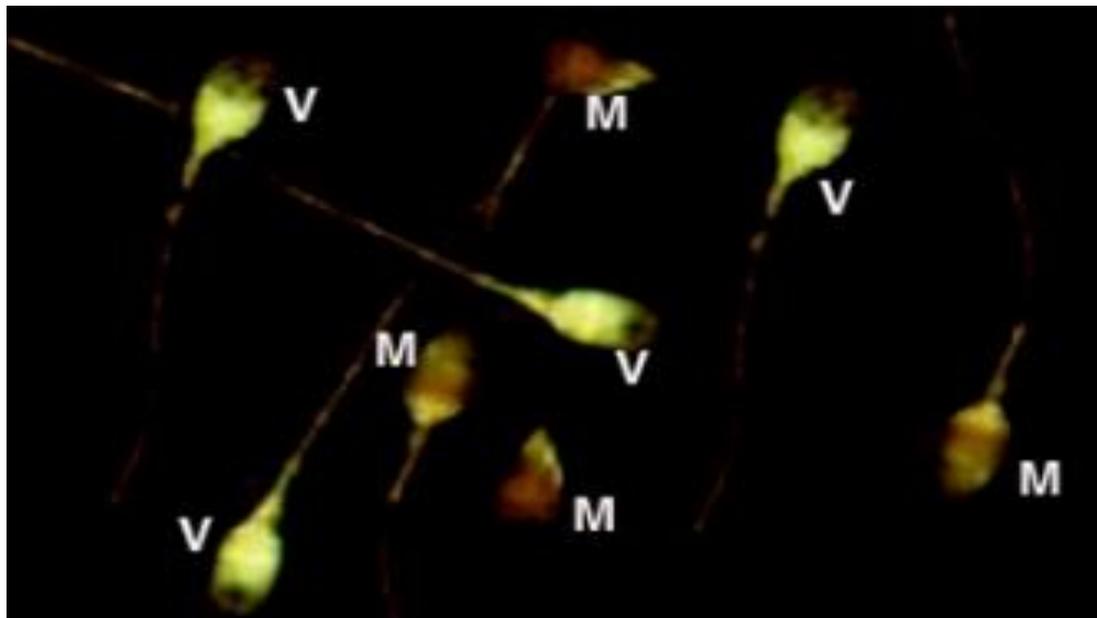


Fig.33: Observation microscopique après coloration à l'éosine

M : Spz mort ; V : Spz vivant

I.1.3.2.Spermocytogramme

I.1.3.2.1.Principe

Cet examen est à la base de l'évaluation de la fécondité masculine. Il permet d'étudier la morphologie des spermatozoïdes pour apprécier la valeur fécondante d'un couple chaque fois que se pose le problème de fertilité (Andersen et *al.*, 2000 et Sekhsokh et *al.*, 2001).

I.1.3.2.2.Mode opératoire

L'analyse des anomalies morphologiques des spermatozoïdes consiste à réaliser un frottis de sperme en déposant, à l'aide d'une micropipette, une goutte de l'échantillon (10 µL) à l'extrémité de la lame bien dégraissée. Le frottis séché et fixé est coloré au May-Grunwal-Giemsa (MGG) (annexe 3) puis observé au microscope photonique au grossissement x100 en utilisant l'huile d'immersion en comptant 100 spermatozoïdes sur plusieurs champs.

La classification des différentes anomalies des spermatozoïdes de nos échantillons est réalisée en se référant à la classification de l'OMS, (2010) (annexe 4).

L'interprétation des résultats du spermocytogramme, rapportée par Lomage, (2002) se fait selon les références l'OMS qui spécifie qu'un frottis de sperme morphologiquement normal doit être supérieur à 30% et l'anomalie (téatospermie) inférieur à 30%, le seuil d'une baisse de fécondité correspond à 20 - 30%.

I.1.4. Analyse statistique

Les données ont été saisies et analysées par SPSS 18 logiciels statistiques. Les moyennes et les écarts types ont été calculés pour la concentration, le volume, le nombre, la motilité et la morphologie des spermatozoïdes.

Une analyse de régression linéaire a été utilisée pour évaluer les changements dans les caractéristiques du sperme. La prise en considération de l'âge jeune (25 à 35 ans) et de la durée relativement courte de l'abstinence (3 ou 4 jours) devraient éliminer les effets de confusion de ces paramètres.

I.2. ETUDE 2 : Effet des facteurs environnementaux sur l'infertilité masculine

Une autre étude prospective parallèle a la précédente (étude du déclin) a été conduite entre 2007 à 2012 sur un échantillon de 149 patients âgés de 25 et 55 ans ayant consulté au service d'urologie de CHU de Sidi-Bel-Abbès pour des problèmes urogénitaux et de conception. Ces patients ont été dirigés vers des laboratoires d'analyses médicales pour identifier quels sont les problèmes de fertilité. Les objectifs de cette étude sont d'une part, d'évaluer par une étude cytologique et bactériologique, la fréquence, la nature et le type de stérilité et d'autre part, de déceler les causes impliquées dans cette infertilité et enfin essayer d'établir l'existence d'une relation entre les facteurs professionnels, urogénitaux et environnementaux et la présence des anomalies spermatiques chez les hommes infertiles.

I.2.1. Population sélectionnée

Une interview (voir annexe 1) a été aussi proposée chez 149 patients venant au laboratoire d'analyses médicales. Elle a permis d'établir s'il y a présence d'antécédents médicaux et génétiques chez les hommes participant à cette étude tout en prenant en compte des paramètres spermatiques suivants: âge des patients, anomalies de la migration testiculaire, traumatismes urogénitaux, habitudes alimentaires, profession exposée aux produits toxiques, ect...

I.2.2. Méthodologie

I.2.2.1. Spermoculture

a) Principe

Pour toute symptomatologie présente ou passée évoquant une atteinte infectieuse du tractus, la spermoculture peut aider au diagnostic de cette infection.

b) Technique de réalisation

Il est indispensable que le patient procède dans l'ordre :

- une miction abondante nécessaire pour éliminer les bactéries commensales de l'urètre antérieur ;
- un lavage minutieux des mains et du gland avec un savon bactéricide et antifongique stérile.

Il faut au minimum 0.7 mL de sperme pour réaliser un examen bactériologique complet qui comportera un examen direct au Gram et les cultures nécessaires à la mise en évidence des bactéries (voir annexe 5).

Dans un tube de verre, neuf gouttes d'eau physiologique ont été mélangées à une goutte de sperme à l'aide d'une pipette Pasteur, puis à l'aide d'une anse de platine stérile ou d'une pipette Pasteur stérile dont la structure a été modifiée par la chaleur, une goutte du mélange de sperme a été prélevée pour réaliser un ensemencement sur les deux milieux de culture : gélose au sang et Hectoén (fig.34).



Fig. 34 : Spermoculture : Ensemencement du mélange spermatique sur Gélose au sang et Hectoén

Après 24 heures d'incubation à 37°C, l'apparition des colonies a été notifiée puis un prélèvement d'une parcelle de colonie par une anse de platine stérile a été effectué pour faire un étalement sur lame contenant une goutte d'eau physiologique. Puis, la lame a été séchée à l'air et colorée par la coloration de Gram (+ ou -) pour rechercher les germes responsables de cette infection suspectée (Cocci ou Bacille).

Par la suite, une galerie biochimique a été réalisée pour identifier le type de germes retrouvés en culture. Un antibiogramme a été proposé dans le cas où la spermoculture s'est révélée positive afin d'identifier le germe en question et pouvoir prescrire une antibiothérapie appropriée.

I.2.2.2. Test post coïtal (TPC)

Un autre examen complémentaire devrait avoir la primauté dans l'étude de l'interaction des spermatozoïdes et leur milieu réceptif, le mucus, il s'agit du test post coïtal ou d'Hühner. Ce test a l'avantage d'explorer une situation naturelle pour l'analyse de la compatibilité glaire-sperme.

a) Principe

L'interaction *in vitro* du mucus cervical avec les spermatozoïdes est une excellente épreuve fonctionnelle des spermatozoïdes. Il permet d'étudier la qualité du mucus cervical et d'évaluer la capacité des spermatozoïdes à y pénétrer.

b) Technique de réalisation

Après une abstinence sexuelle de 3 à 5 jours, il a été demandé au couple d'avoir un rapport 6 à 8 heures en phase pré-ovulatoire avant d'effectuer le test. Dans certains cas, ce coït est mieux toléré la veille et peut donner de meilleurs résultats. La patiente reste allongée pendant 30 à 60 mn après le coït et ceci sans faire de toilette intime avant l'examen. Après la pose d'un spéculum non lubrifié, deux prélèvements soigneux sont réalisés:

- le premier prélèvement est pratiqué en prenant une petite quantité de la glaire de l'exocol à l'aide d'une pipette Pasteur;
- le deuxième prélèvement est fait en cathétérisant quelques centimètres de la glaire de l'endocol.

La glaire cervicale prélevée est chaque fois étalée sur une lame et observée au microscope photonique (Gr x40) pour apprécier immédiatement, à l'état frais, la présence, la vitalité et la mobilité des spermatozoïdes. Par la suite, l'abondance et la transparence de la glaire ainsi que sa filance sont mesurées en centimètre en se référant aux valeurs normales qui sont comprises entre 6 et 14 cm (fig.35).

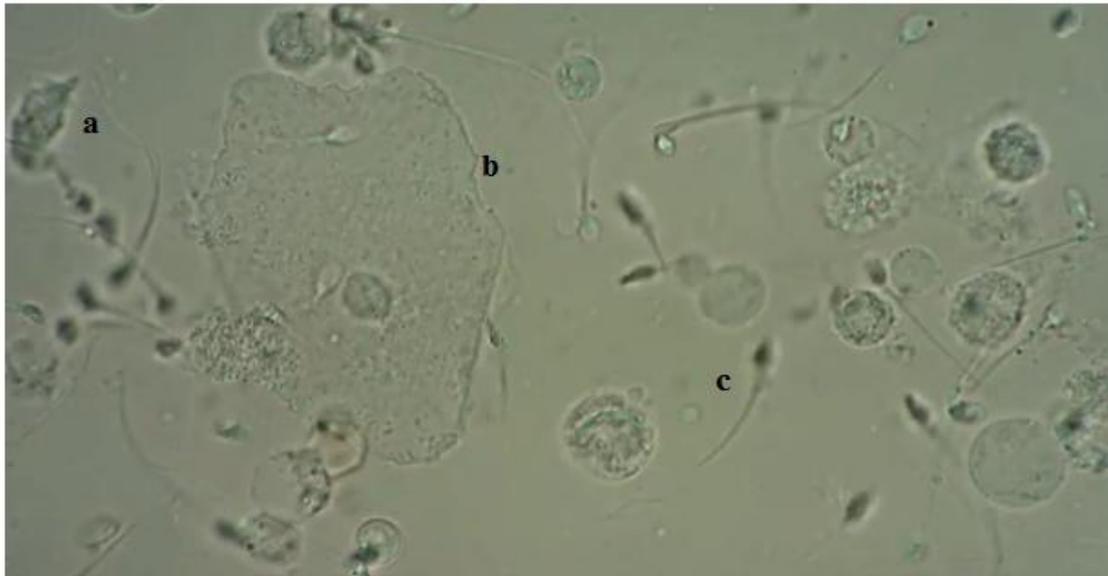


Fig.35 : Test d'Huhner à l'état frais montrant l'interaction sperme-glaire cervicale (TPC) (G.x40)

(a, b) : Cellules épithéliales vaginales ; **c :** spermatozoïdes.

I.3. ETUDE 3 : Comparaison du taux de succès d'IAC entre la population Algérienne et Hollandaise

Il s'agit d'une étude prospective comparative entre un échantillon représentatif de la population Algérienne (100 couples) et Hollandaise (122 couples) réalisée entre 2010 et 2012. Ces couples Algériens ont été suivis au laboratoire de spermologie de Sidi-Bel-Abbès en Algérie et les couples Hollandais suivis au laboratoire de fertilité du CHU Rijnland Leiderdorp aux Pays-Bas. L'objectif principal de cette troisième étude permet d'une part, d'évaluer la qualité et la quantité du sperme des jeunes partenaires au cours de cette période et d'autre part, d'évaluer les résultats d'un protocole d'insémination avec sperme du conjoint, associant deux types de stimulations ovariennes spontanée et stimulée. Cette technique d'AMP a été proposée aux patientes de moins de 39 ans incluses dans un protocole de prise en charge des couples recourant à l'IAC tout en prenant en compte l'impact de certains facteurs de risque tels que : l'âge, le tabagisme, le style de vie, les antécédents médicaux, la situation économique et la rencontre tardive du partenaire sur les taux de grossesses et le taux de succès des IAC.

I.3.1. Population sélectionnée

I.3.1.1. Cas de la population Algérienne

Un questionnaire complet (voir annexe I) établi par nos soins a été proposé à nos couples afin de le remplir et qu'on puisse analyser leur profil socioéconomique, les caractéristiques biologiques (spermogramme, spermocytogramme) et les données de chaque tentative effectuée en IIU (rang, type de cycle, taille des follicules) de ces patientes.

Les paramètres pris en considération sont les mêmes que ceux cités dans l'étude 1, pour plus de détails voir annexe 1.

a) Critères d'inclusion

- Femmes partenaires dont l'âge doit être < 39 ans ;
- Femmes ayant échoué à la stimulation ovarienne couplée au moins trois fois de rapport sexuel programmé ;

b) Critères d'exclusion

- Femmes dont l'âge > 39 ans ;
- Femmes présentant des anomalies des trompes de Fallope ;
- Femmes ayant eu des complications post-chirurgicales des trompes.

I.3.1.2.Cas de la population Hollandaise

I.3.1.2.1.Centre de l'AMP de Hôpital Rijnland

a) Conditions médicales

Le centre d'AMP offre aux couples demandeurs d'une AMP la possibilité de recours selon les cas soit à une insémination artificielle (IA), soit une fécondation *in vitro* (FIV) afin de remédier au problème d'infertilité dont ils souffrent. Cependant, l'accès à ces techniques dans les deux pays est conditionné par une durée commune de vie d'au moins une année.

Le diagnostic de l'infertilité chez les couples demandeurs d'AMP au niveau du centre de sémiologie des deux pays compte plusieurs examens cliniques et biologiques :

- Une exploration de l'homme par spermogramme, spermocytogramme et spermoculture ;
- Une exploration de la femme par hystérogaphie ;
- Un bilan hormonal pour les deux membres du couple.

b) Bénéficiaires

En Algérie, le recours à l'AMP n'est possible qu'aux couples unis dans le cadre d'un mariage légal. Les renseignements relatifs aux couples notamment quant à leurs identités et leur acte de mariage sont obligatoirement recueillis et mentionnés sur le formulaire de consentement à l'AMP remis au couple.

Au Pays-Bas, il est conditionné par une durée de vie commune (concubinage) d'au moins une année ou d'un acte de mariage. Les deux membres du couple désirant bénéficier d'une AMP au niveau de ces centres doivent répondre aux critères d'âge suivant :

- chez la femme : une limite d'âge de 42 ans est prise en considération ;

- chez l'homme : une limite d'âge de 60 ans constitue une condition pour bénéficier d'une AMP. Le couple doit entretenir une relation stable et ne doit pas s'adonner à l'alcool (alcoolisme) ou à la drogue.

I.3.2. Matériels

La réalisation de bilan spermatique : spermogramme, spermocytogramme et la préparation du sperme pour la réalisation de l'insémination artificielle nécessite un matériel spécifique:

I.3.2.1. Matériels, réactifs et milieux de culture

a) Appareillage

- Microscope inversé muni de camera et d'un moniteur ;
- Hotte à flux laminaire ;
- Plaque chauffante ;
- Centrifugeuse à bras horizontal (doit fonctionner jusqu'à 30 minutes à 400 g) ;
- Etuve à 5 % CO₂

b) Petits matériels

Micropipettes automatiques : 0-50µL ; 0-200µL et 100-1000µL ; pipettes pasteur stériles ; lame porte objet et lamelle ; cellules de thomas/Mallassez ; tubes coniques stériles de type Falcon stériles ; tubes à hémolyse ; embouts bleu et jaune stériles ; seringues à insuline stérile;

Cathéter de transfert de Friedman stériles; portoir tube à hémolyse 5 mL ; portoir tube conique 15mL.

c) Réactifs et milieux de lavage

Le Sil-Select Plus est un milieu utilisé dans la préparation des gradients de sperme. Les gradients de Sil-Select-Plus contiennent des particules de silice colloïdale silanisée dans une solution EBSS tamponnée à l'HEPES (solution saline d'Earle, équilibrée). Le système Sil-Select Plus peut être utilisé en combinaison avec IUI (insémination-intra-utérine), FIV (fécondation *in vitro*) et ICSI (injection intracytoplasmique du sperme).

▪ Matériel inclus dans la trousse des réactifs

La trousse des réactifs contient trois milieux différents pour la constitution des gradients de densité pour la préparation du sperme (Sil-Select Plus Lower layer, Upper

layer et milieux de lavage et insémination) repartis en différents conditionnements et dont le pH, l'osmolarité, la densité et la viscosité ont été spécifiés (voir détail en annexe 6).

I.3.3.Méthodologie

I.3.3.1. Protocole d'IAC

L'étude de l'efficacité de l'insémination artificielle n'a concerné que les couples infertiles qui ont échoué au moins trois fois à la stimulation ovarienne couplée de rapport sexuel programmé et à qui on a proposé un protocole de prise en charge en IAC dont la procédure est comme suit :

I.3.3.1.1. Recueil du sperme

Le recueil de sperme est le plus souvent recommandé le même jour que la ponction ovarienne (sauf cas particuliers).

Le recueil a été déroulé selon le même principe qu'un examen de sperme de routine (spermogramme), à savoir:

- Respect le délai d'abstinence sexuelle de 3 à 5 jours ;
- Recueil de sperme par masturbation dans un pot stérile en plastique;
- Respect des règles d'hygiène pour le recueil ;

L'éjaculat est recueilli dans un pot stérile qui doit être maintenu à 37°C le temps de la liquéfaction (30 à 45 minutes). Un rapide spermogramme nous permettait d'apprécier la qualité des spermatozoïdes recueillis : leur mobilité, leur nombre mais aussi, leur morphologie.

I.3.3.1.2. Préparation du sperme frais

a) But

La préparation du sperme a pour but d'assurer une séparation des cellules en fonction de leur mobilité par des phénomènes physiques qui sont la traversée des liquides de différentes densités et la centrifugation (fig.36).

La migration sur gradient de densité permet :

- d'éliminer les débris cellulaires et autres cellules (cellules de la lignée germinale et les leucocytes) ;

- de sélectionner les spermatozoïdes mobiles et normaux aptes à féconder. Les spermatozoïdes mobiles ainsi recueillis ont tous été capacités au moins une heure sous atmosphère de 5% CO₂ et à 37° C (Salehpour et *al.*, 2016).

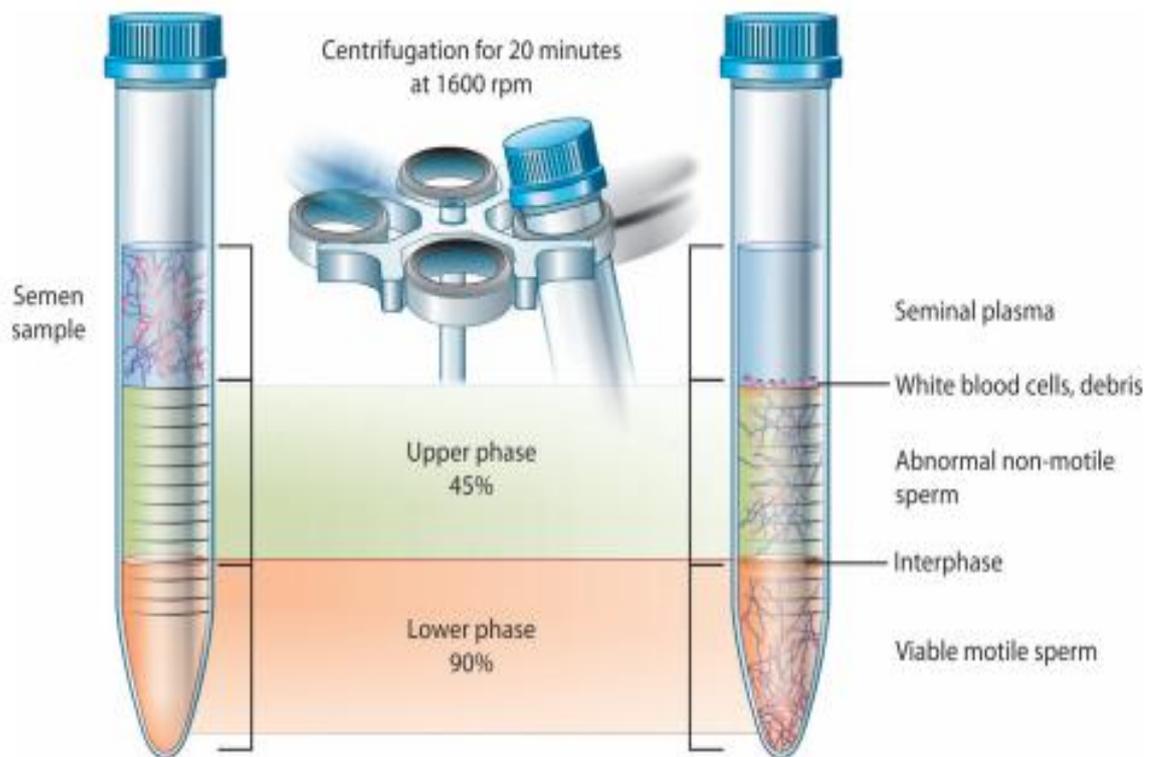


Fig.36: Séparation des cellules en fonction de leur gradient de densité
(Salehpour et *al.* 2016)

b. Techniques de préparation du sperme

b-1- Préparation du sperme par gradient de densité

Tous les composants du système et les échantillons sont réchauffés à température ambiante ou à 37°C. Le milieu Sil-Select (Upper Layer) (2,5 mL) a été prélevé et déposé dans une éprouvette centrifuge stérile jetable. À l'aide d'une seringue 3 mL munie d'une aiguille, on dépose 2,5 mL de Sil-Select Plus Lower Layer sous la Upper Layer. Les deux couches doivent être parfaitement séparées, pour ce faire, la pointe de l'aiguille est placée sur le fond de test et l'injection se fait progressivement de la Lower Layer de Sil-Select Plus. Ce gradient à double couche

reste stable pendant environ deux heures (fig.37). À l'aide d'une pipette de transfert ou d'une seringue, 2.5 mL de sperme liquéfié sont déposées avec précaution sur la Upper Layer puis Centrifugés à 350-400 g pendant 15 à 18 minutes. Lorsque la première centrifugation est terminée, le culot peut ne pas être visible. Dans ce cas, il est indispensable de procéder à un second cycle de centrifugation de 3 à 5 minutes. Le surnageant est enlevé jusqu'à la hauteur du culot. À l'aide d'une seringue, 2-3 mL de milieu de lavage de sperme sont ajoutés le culot et remis en suspension, puis centrifugé à 300 g pendant 8 à 10 minutes. En cas de concentration de sperme élevée, une centrifugation supplémentaire pendant une durée maximale de 10 minutes est nécessaire pour assurer le lavage parfait du sperme. A la fin de la centrifugation le surnageant est enlevé jusqu'à hauteur du culot. A la fin de la centrifugation le surnageant est enlevé puis remplacé par un volume désiré de milieu approprié (fig.38).

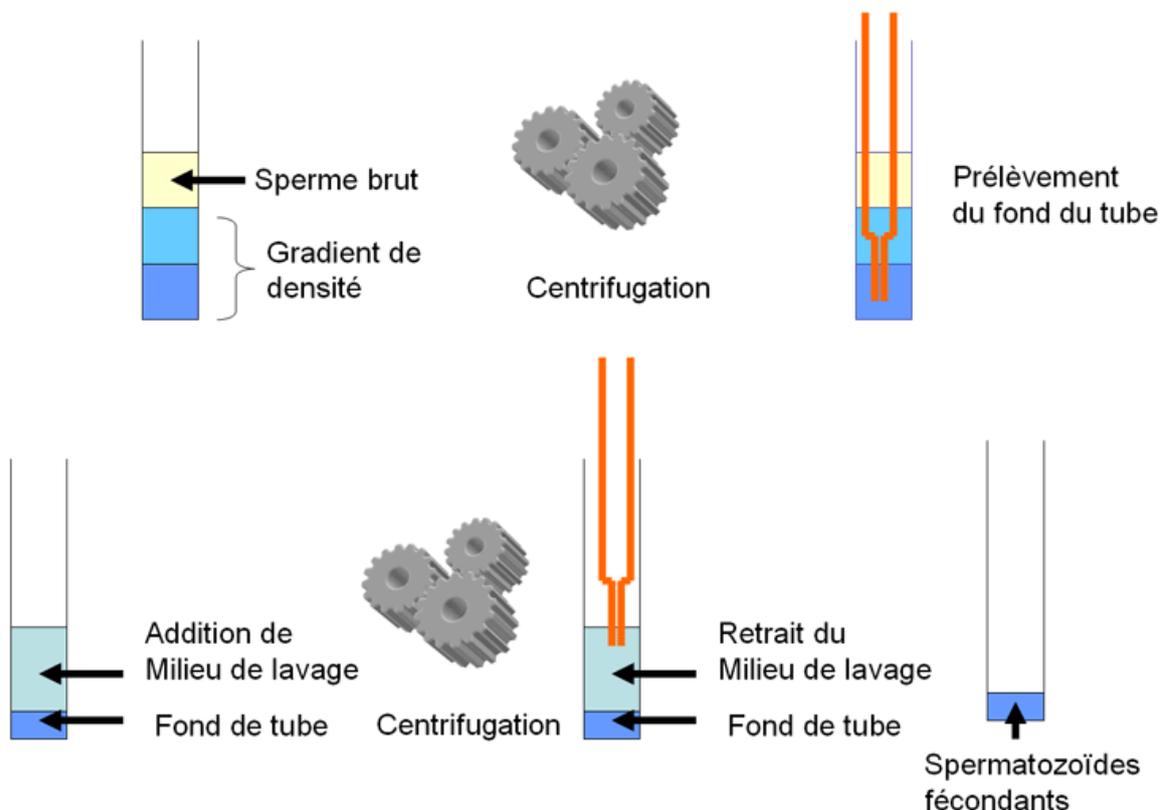


Fig. 37: Technique de préparation du sperme frais selon le gradient de densité

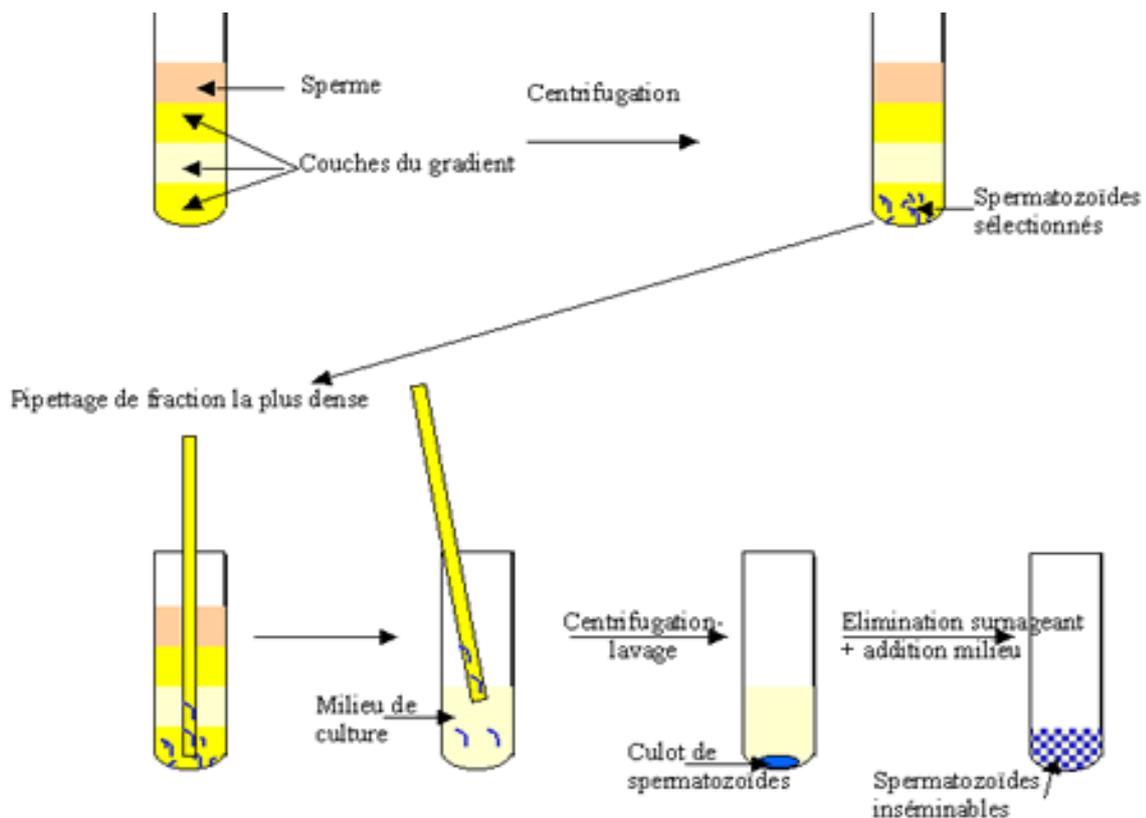


Fig.38 : Traitement du sperme après centrifugation

b-2- Préparation du sperme par technique Swim-up (Migration ascendante)

La technique de Swim-up ou migration ascendante a pour but de remédier en partie à la forte anomalie des spermatozoïdes appelée tératospermie chez les hommes infertiles.

Les étapes de la préparation du sperme se fait comme suite:

Le milieu de lavage PureSperm (1.5mL) a été déposé dans un tube centrifuge stérile. A l'aide d'une pipette stérile, 1.5 mL du sperme ont été par la suite rajoutés au milieu précédent. Sans perturber les couches, le tube a été placé à un angle de 45 ° dans la centrifugeuse pendant 60 minutes. Après centrifugation, le surnageant contenant des spermatozoïdes mobiles (0.5 mL) ont été récupérés à laide d'une pipette. Un deuxième lavage a été effectué, en remettant en suspension le fluide avec le milieu de lavage PureSperm (5 mL) dans un tube centrifuge conique stérile. Cet ajout doit se faire très lentement afin de ne pas faire de choc osmotique mais également pour ne pas homogénéiser la solution. Dans ce cas le surnageant est placé en haut un milieu nutritif créant un gradient le long du tube, attirant les spermatozoïdes qui permet aussi d'éviter ce choc osmotique. Ces spermatozoïdes

remontent alors en nageant vers le haut du tube, dans ce cas il est indispensable de procéder à une deuxième centrifugation à 500x g pendant 10 minutes. Après lavage des spermatozoïdes le surnageant contenant les spermatozoïdes lavés est aspiré. L'échantillon est maintenant prêt à être analysé et utilisé (fig.39).

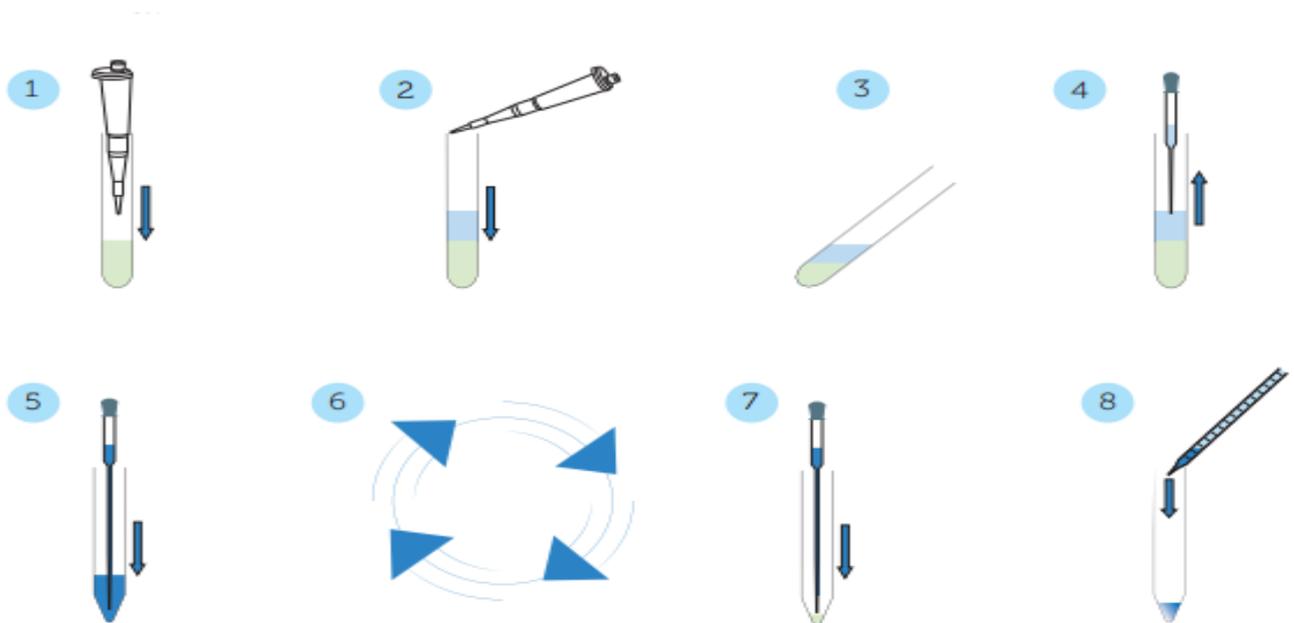


Fig 39 : Technique de préparation des spermatozoides par Swim-up

I.3.3.1.3. Stimulation ovarienne

L'étude de l'efficacité de l'insémination artificielle n'a concerné que les couples infertiles qui ont eu un échec à la stimulation ovarienne couplée au moins trois fois de rapport sexuel programmé et à qui on a proposé l'insémination intra utérine. Ces couples ont été traités comme suit :

a) Sur le plan clinique

La stimulation : le protocole de la stimulation a été choisi selon la spécificité de chaque cas :

1- *Citrate de clomifène seul* : le Clomid et le Pergotime utilisées chez 21 patientes du 2^{ème} au 6^{ème} jour du cycle.

2- *Citrate de Clomifène associé à la FSH pur (Fostimon)*: la stimulation a toujours commencé par le Citrate de Clomifène puis poursuivie pendant 5 jours par des injections de Fostimon 75uL par jour, à raison de 100 mg par injection (du 7^{me} à 11^{ème} jours).

3- *hMG (Menopur) classique seul*: Les patientes ont reçu du hMG seul comme inducteur de stimulation. Le Menopur a essentiellement été utilisé à une dose de 75 à 150 uL selon les cas.

4- *Citrate de Clomifène associé à l'hMG*: Le Citrate de Clomifène a toujours été utilisé dans l'insémination intra utérine dans le cas de la prise en charge de l'infertilité à trompe saine avec une dose quotidienne de 100 mg, suivie du hMG à raison d'une ampoule ou deux par jour selon les cas.

5- *FSH pur seul (Fostimon)*: Les patientes ont utilisé du Fostimon du 3^{ème} au 11^{ème} dont la dose est de 75 uL par jour.

6- Le monitoring a été effectué d'une façon régulière et quotidienne mais, le nombre de jour et la dose administrée en réalité dépendent de l'évolution de la taille des follicules en général.

Des dosages hormonaux : la LH, la FSH et de l'œstradiol (E2) ont été effectués par la méthode immunoenzymatique ELFA (enzyme linked fluorescence assay).

Des échographies endovaginales : la mesure par échographie de la taille des follicules et de l'endomètre de l'utérus a régulièrement été effectuée y compris le jour des dosages hormonaux (FSH, LH, E2).

b) Sur le plan biologique

Tous les couples recrutés dans le cadre d'IAC doivent obligatoirement faire un bilan biologique, à savoir :

- Le dosage des hormones LH, FSH, Œstradiol, Prolactine a été réalisé dans le but d'évaluer la réserve ovarienne chez la femme.

- Le test de migration de survie qui conditionne leur recrutement, le spermogramme, le spermocytogramme et le bilan infectieux (HIV, les hépatites B et C, syphilis, chlamydia et mycoplasme, toxoplasmose, rubéole) ;
- Test d'Hühner un autre examen complémentaire devrait avoir la primauté dans l'étude de l'interaction des spermatozoïdes et leur milieu réceptif, le mucus, il s'agit du test post coïtal ou d'Hühner (TPC). Ce test permet d'étudier la qualité du mucus cervical et d'évaluer la capacité des spermatozoïdes à y pénétrer.

I.3.3.1.4. Insémination proprement dite

L'insémination proprement dite est réalisée après traitement du sperme. Elle est effectuée par un médecin gynécologue. Une fois traités, les spermatozoïdes ont été transférés dans une petite quantité (environ 0,30 mL) de milieu de culture dans un cathéter de Friedman (fig.39). Le cathéter est doucement introduit dans la cavité utérine, après injection d'une ampoule de Spasfon (50 mg) en intra veineuse et pose d'un spéculum. Le sperme est lentement injecté grâce une seringue 1mL. Après l'insémination, dans la plupart des cas les patientes sont restées couchées de 45min à 1 heure de temps. Un traitement à base d'Utrogestan était prescrit et il a toujours été demandé au couple de faire un rapport dans les 6 heures qui suivait l'insémination. Aucune autre précaution particulière n'était demandée. Un test de grossesse est réalisé 15 jours après l'insémination.

Pour l'indentification des facteurs de réussite et l'évaluation du degré d'influence des caractéristiques du couple sur les résultats de l'insémination intra utérine : le taux grossesse et de facteurs de risque ont été évalués en étudiant les paramètres cliniques, biologiques et sociodémographique du couple.

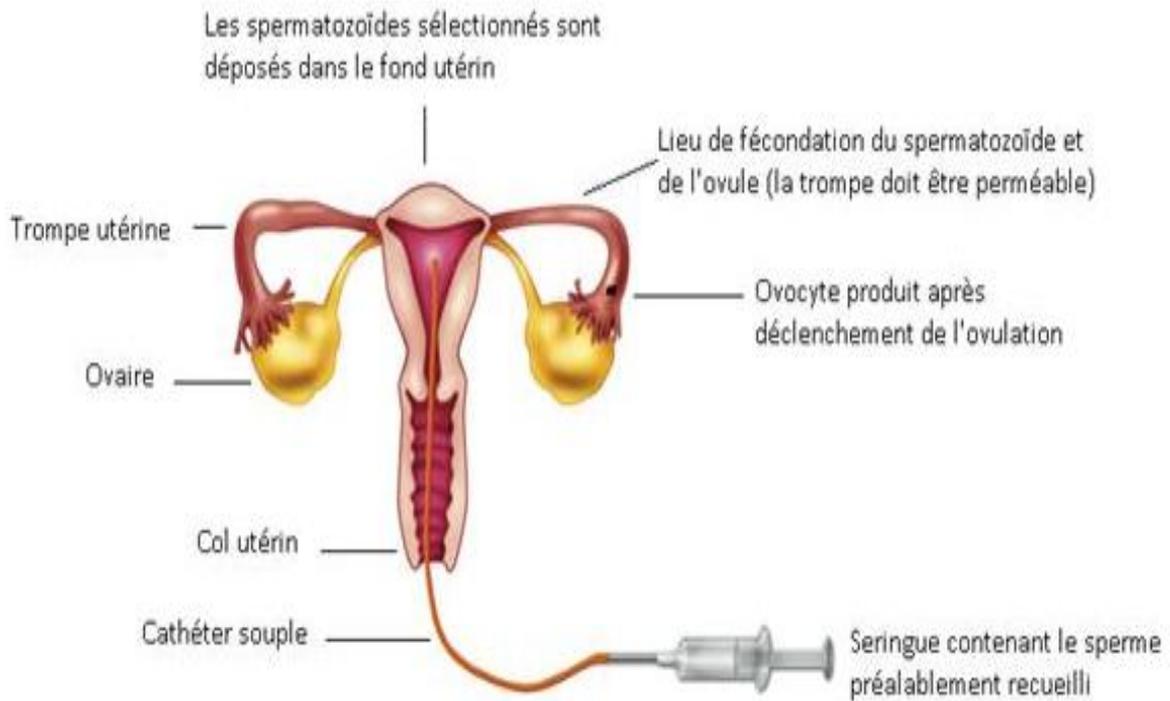


Fig.39: Technique d'Insémination proprement dite (Salehpour et *al.*, 2016).

I.3.4. Analyses statistiques

Nous avons étudié les taux de grossesse clinique par cycle (TG/C) et par couple ainsi que l'influence de différents paramètres cliniques et biologiques sur la probabilité de survenue d'une grossesse clinique. Nous avons utilisé le test du Chi² pour la comparaison des paramètres qualitatifs et le test *t* de Student pour la comparaison de moyennes. Les résultats obtenus correspondent au seuil de significativité : $p < 0.05$.

Partie 99
Résultats et
discussion

CHAPITRE I. RESULTATS

I.1. ETUDE 1 : Déclin de la qualité du sperme chez la population Algérienne

Notre étude de recherche a été réalisée sur une cohorte de 188 jeunes partenaires âgés de 25 à 35 ans ayant bénéficié d'une analyse des paramètres spermatiques sur une période de 15 ans (2000 et 2015)

I.1.1. Etude de la qualité spermatique

I.1.1.1. Etude du volume du sperme

L'analyse du volume spermatique chez ces hommes a montré une augmentation relativement progressive et significative du volume séminal, il passe de $2,73 \pm 1,01$ mL en 2002 à $3,213 \pm 1,43$ mL en 2012 ($P < 0,001$), soit une augmentation moyenne de 0,1 mL (+ 5,01% par an) (tableau 5).

Les résultats obtenus au laboratoire de spermologie à Sidi-Bel-Abbès, montrent que le volume des éjaculats augmente progressivement et la tranche d'âge la plus touchée est [30-35] ans, il passe de $2,02 \pm 0,17$ mL en 2004 à $4,41 \pm 0,21$ mL en 2009. Ce taux atteint en 2010 un volume maximum de $6,92 \pm 0,09$ mL chez la tranche d'âge la plus jeune [25-30] ans (fig.40).

Nos résultats concordent avec ceux rapportés par Auger et *al.* (1995), qui ont montré dans une étude portant sur 1074 hommes de couples inféconds une augmentation de 0.1 mL/an du volume séminal durant une période de vingt ans (1973-1992).

De nombreuses études trouvant souvent des résultats contradictoires, admettent cependant, dans une étude réalisée en France sur 285 patients une baisse du volume et de la concentration du sperme observée entre 1987 et 2014. La concentration des spermatozoïdes a diminué à un moment donné entre 1997 et 2001, puis elle est restée stable à une moyenne de 62×10^6 /mL entre 2001 et 2014 (Mary Birdsall et *al.*, 2015).

Cette anomalie de la variation du volume des spermatozoïdes a été rapportée également par les chercheurs Français. Auger et *al.*, (1997) incluant 4.710 hommes féconds au sein de huit centres CECOS, qui admettent que le volume du sperme apparaît significativement le plus élevé en Basse-Normandie ($4,3 \pm 1,8$ mL) et le plus bas dans le Sud-ouest de la France ($3,2 \pm 1,7$ mL).

Fish et *al.*(1996) confirment que l'augmentation du volume spermatique joue un rôle dans l'infertilité masculine, par dilution des spermatozoïdes et évacuation trop rapide du sperme lors de la relation sexuelle.

Tableau 5 : Variation annuelle des paramètres spermatiques

Variables	Moyenne \pm SD	Nombre (N)	Variations/an (%)
Concentration des Spzs (millions/mL)	68.88 \pm 28.44	188	- 3.43
Volume (mL)	2.73 \pm 1.01	187	+ 5.01
Motilité (%)	62.5 \pm 10.5	143	+ 0.27
Morphologie normale des Spzs (%)	89.4 \pm 8.7	132	-1.05
Nbre total de spzs mobiles (millions)	119.27 \pm 60.43	143	+ 6.61

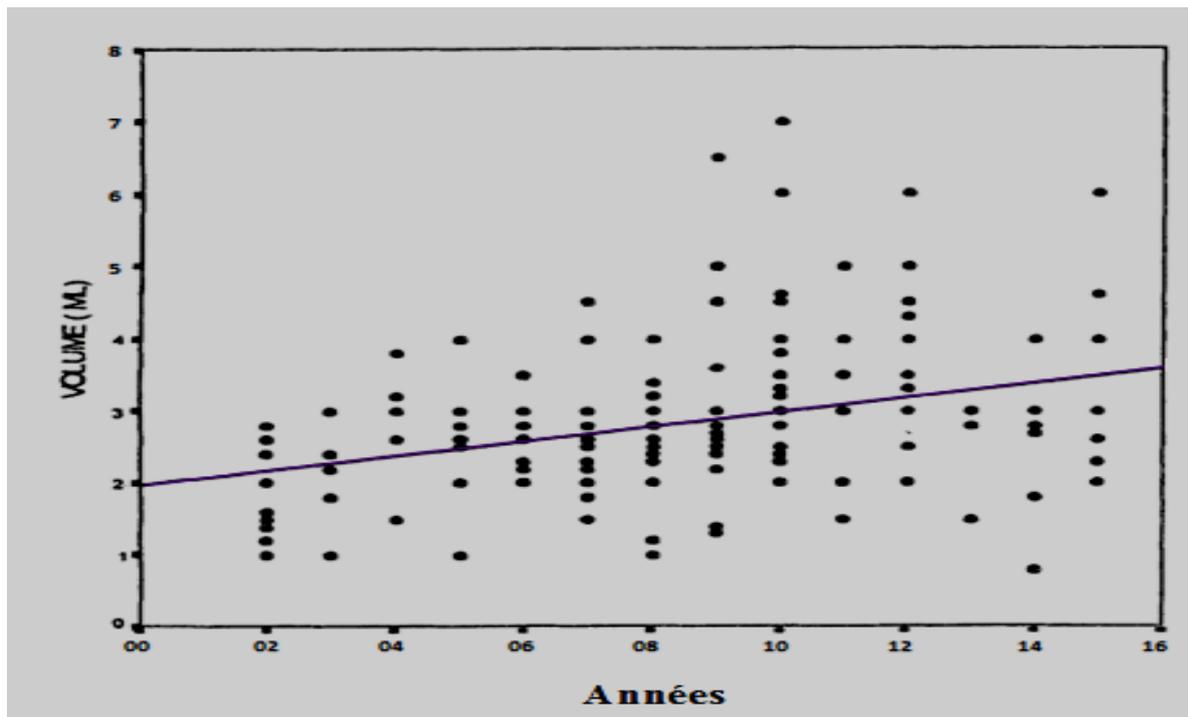


Fig40: Changement du volume spermatique entre 2000 et 2015 chez la population Algérienne dans la région de l'Ouest

I.1.1.2. Etude de la variation des spermatozoïdes mobiles

La motilité est la capacité *des spermatozoïdes* à se déplacer dans l'éjaculat, elle a aussi sa part dans la détermination des anomalies spermatiques.

L'analyse de l'ensemble des spermogrammes effectués sur 188 éjaculats recueillis au laboratoire d'analyses médicales spécialisé en spermiologie, indique que la numération totale des spermatozoïdes mobiles des partenaires présente une hausse moyenne de $5,8 \times 10^6$ par an du nombre total de spermatozoïdes mobiles concomitante avec une augmentation du volume spermatique. Ce taux augmente avec le temps, il passe de $75,32 \times 10^6 \pm 40,27 \times 10^6$ en 2005 à $119,79 \times 10^6 \pm 64,52 \times 10^6$ en 2009 (fig.41), par contre, le pourcentage des spermatozoïdes motiles rapides et progressifs montre une légère augmentation (+0.27%) chez les partenaires des couples infertiles, il passe de 61.04% en 2005 à 62.12% en 2010 (fig.42).

Des résultats contradictoires rapportés par Birdsall et *al.* (2015) dans une étude conduite entre 2001 et 2014 sur 285 jeunes hommes âgés de 35 ans en Nouvelle Zélande, montrent une baisse limitée de la motilité des spermatozoïdes au cours de cette période qui est respectivement de 61% entre 2001 et 2008 et de 53% entre 2008 et 2014. Cette diminution correspondant à une différence de 8% au cours de la période 2001 et 2014 est très significative ($p < 0.001$). D'autres travaux soulevant quelques controverses n'ont pas montré d'importantes variations des paramètres du sperme en particulier la motilité qui reste dans les limites de la normale (Olsen et *al.* 1995 et Fish et *al.* 1996).

Rolland et *al.* (2015) ayant analysé entre 1989 et 2005 près de 26 600 échantillons de sperme d'hommes partenaires de femmes infertiles ont rapporté une baisse continue du nombre des spermatozoïdes (-1,9% par an) au cours de cette période, ces résultats sont contradictoires aux nos résultats (+1.05% par an).

Selon Hamamah et *al.* (2004) la fertilité évaluée par les caractéristiques du sperme particulièrement la motilité, semble également passer par un maximum vers la trentaine, par la suite des signes de vieillissement commencent à apparaître au niveau des testicules mais la marge du pouvoir fécondant du sperme est préservé jusqu'à un âge avancé.

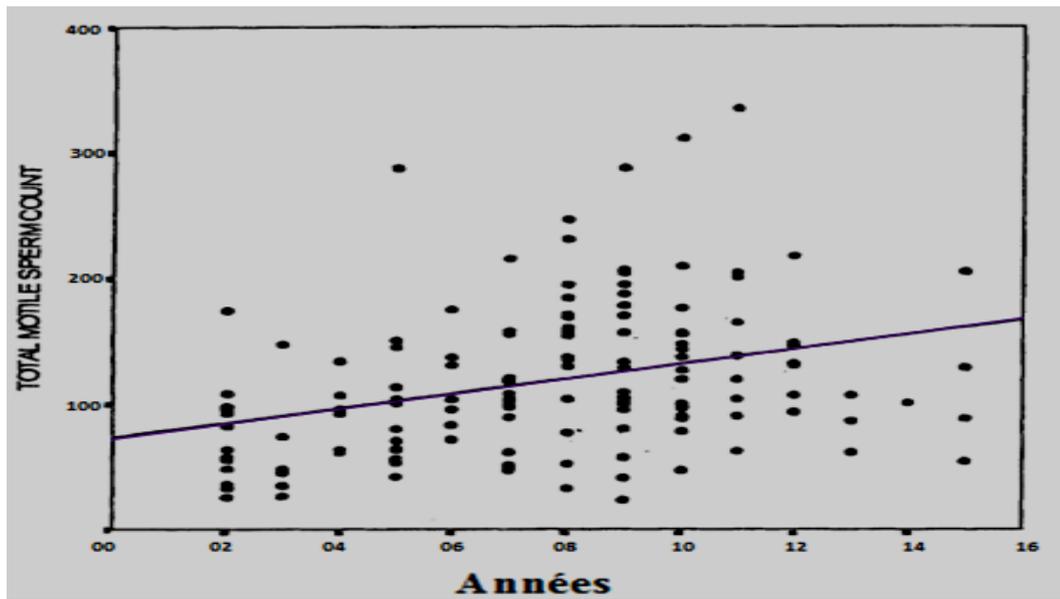


Fig41: Changement du nombre total des spermatozoïdes mobiles au cours du temps (2000-2015)

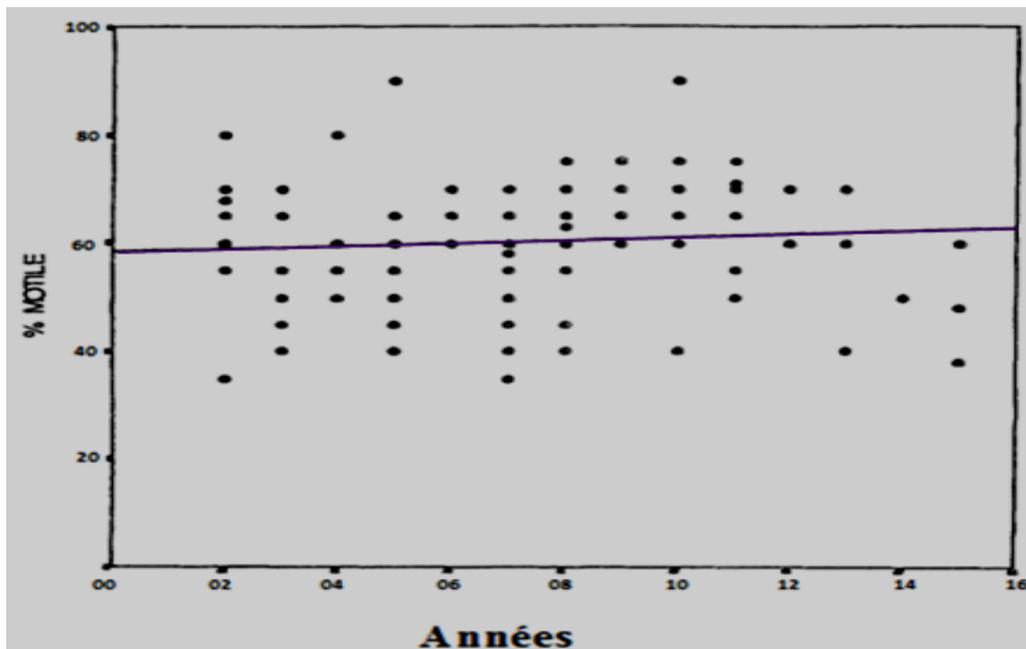


Fig42: Changement du pourcentage de la motilité des spermatozoïdes au cours du temps (2000-2015)

I.1.1.3. Etude de la morphologie des spermatozoïdes

En se basant sur la classification de l'OMS (2010), l'étude des spermocytogrammes de nos patients effectuée au cours de la période entre 2000 et 2015 a été réalisée au niveau du laboratoire privé d'analyses médicales de la wilaya de Sidi-Bel-Abbès. Les résultats obtenus ont révélé une diminution hautement significative du pourcentage moyen de la morphologie normale des spermatozoïdes (-1,05 % par an). Ce taux est passé de $93,38 \pm 2,46\%$ en 2002 à $76,12 \pm 2,41\%$ entre 2014 et 2015 ($P < 0,0001$) (fig.43). On note l'apparition des formes atypiques des spermatozoïdes telles que les anomalies de la tête, du flagelle et de la pièce intermédiaire (voir planche I et II).

Cette modification inquiétante de la qualité des spermatozoïdes a fait aussi l'objet d'une étude Française suivie par Rolland et *al.* 2015 sur des hommes partenaires de femmes suivant un traitement de fertilité (infertilité d'origine exclusivement féminine) entre 1989 et 2005. Les chercheurs avaient alors exploité les informations d'une base nationale, réunissant les 126 centres français d'AMP. Durant la même période le pourcentage et la morphologie des spermatozoïdes normalement formés ont diminué de 33,4%. Il était apparu aussi dans cette étude que chez les hommes âgés aux alentours de 35 ans, les concentrations de sperme sont passées de 74 millions/mL en 1989 à 50 millions/mL en 2005.

Une certaine relation entre les différentes anomalies des spermatozoïdes et les antécédents médicaux, le mode de vie, les facteurs professionnels et environnementaux a été rapportée dans la littérature (Hamamah et *al.* 2004). Les chercheurs David et *al.* (1975) et MacLeod, (1970) ont montré que le profil d'anomalie morphologique pourrait être la réponse du testicule face à une agression leucocytaire, une origine infectieuse ou également un stress telle que la présence de la varicocèle. De même, d'autres auteurs (Aitken et *al.*, 1994 ; Sanocka et *al.*, 1996) ont démontré que la persistance d'un reste cytoplasmique au niveau de la pièce intermédiaire des spermatozoïdes semble être en relation avec des altérations marquées de diverses fonctions spermatiques. Sa présence semble être la traduction cytoplasmique d'une peroxydation lipidique excessive qui est capable de générer des radicaux libres qui sont eux même aptes à provoquer une peroxydation lipidique spontanée.

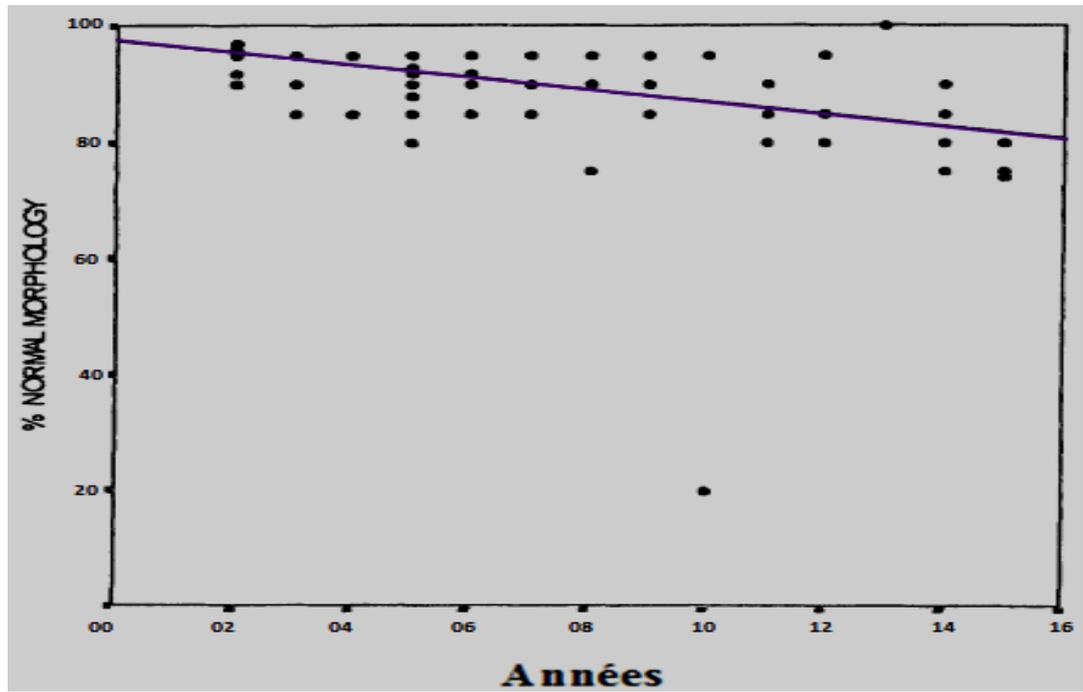
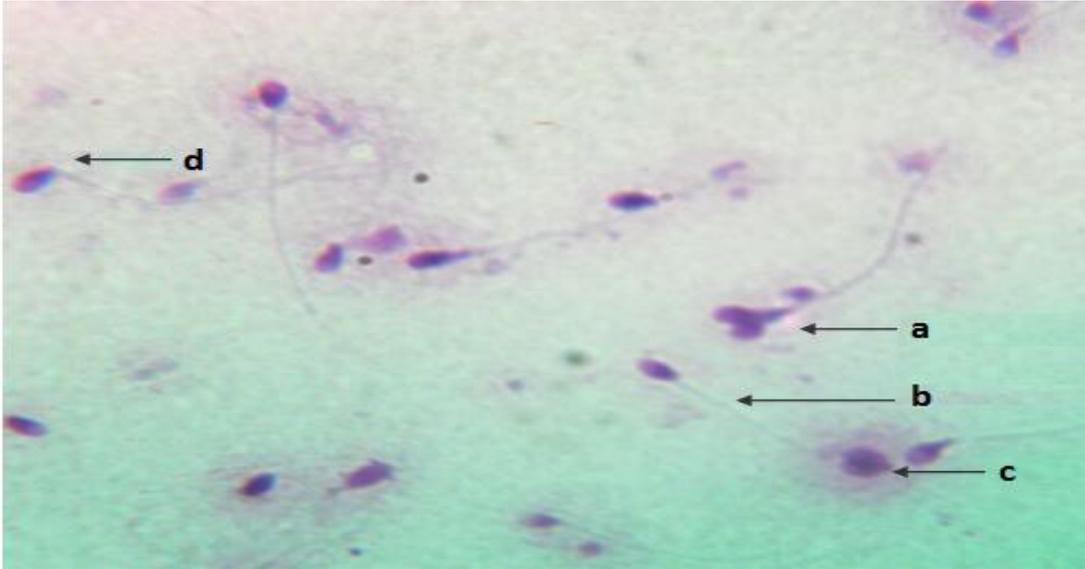


Fig43: Changement du taux des spermatozoïdes à morphologie Normale au cours de la période 2000-2015



Picture I: Spermocytogramme présentant des anomalies spermatiques (Gx40)

a: Spermatozoïde double tête, **b:** spz normal, **c:** cellule immature, **d:** spz angulé

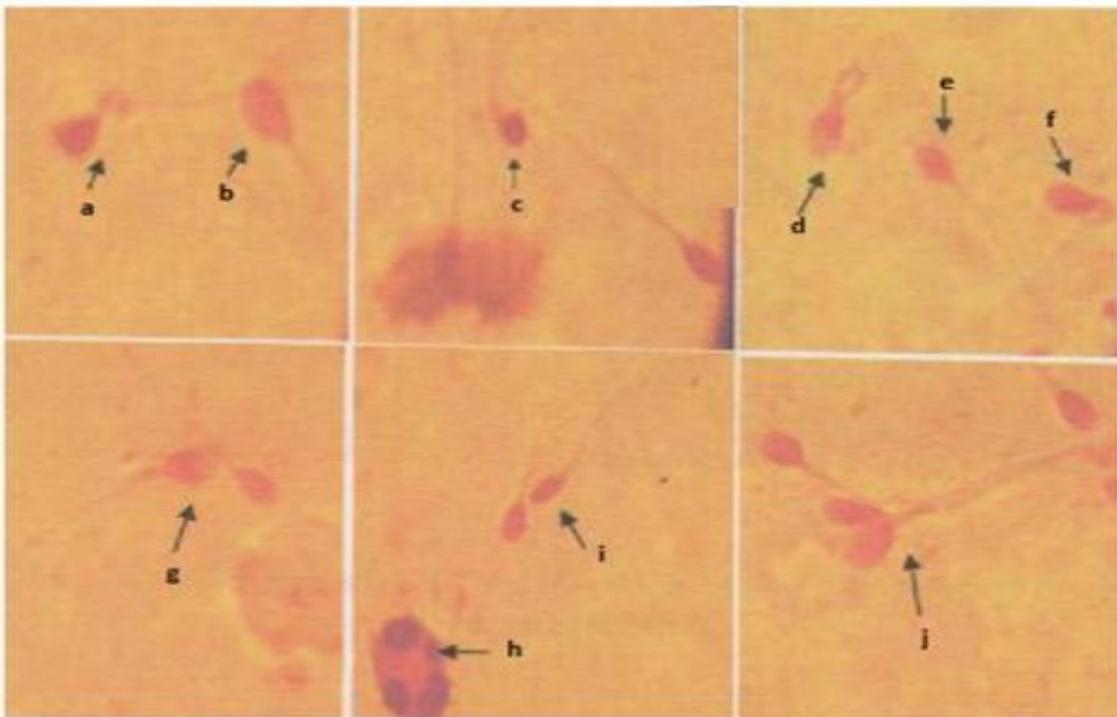


Planche II : Observation microscopique des anomalies spermatiques chez un patient oligospermique (Gx100)

a: spermatozoïde (spz) angulé; **b:** spz macrocéphale; **c :** spz microcéphale; **d:** spz à flagelle enroulé; **e:** spz normal ; **f :** spz à calibre irrégulier ; **g:** spz macrocéphale; **i:** spz microcéphale à tête aminci ; **h :** polynucléaire; **j :** spz à double tête et double flagelle.

I.1.1.4. Etude de la concentration des spermatozoïdes

L'étude spermocytologique des 188 éjaculats a montré que la concentration des spermatozoïdes diminue avec le temps, elle est augmentée ($167.54 \pm 2.33 \times 10^6/\text{mL}$) en 2005 chez la tranche d'âge la plus jeune [25-30] ans, puis diminue progressivement jusqu'à atteindre un taux très faible sous le seuil de 55×10^6 ($24.5 \pm 1.02 \times 10^6/\text{mL}$) en 2009 chez la tranche d'âge [30-35] ans. Une baisse mais non significative de la densité du sperme a été également observée (-3,43 % par an), cette diminution moyenne de $67,5 \times 10^6 \pm 23,67 \times 10^6$ à $64,78 \times 10^6 \pm 8,52 \times 10^6 /\text{mL}$? (fig. 44).

Nos résultats concordent aussi avec ceux rapportés par Carlsen *et al.* (1992) dans une méta-analyse de 61 articles publiés entre 1938 et 1990 qui confirme l'évolution séculaire des valeurs de la concentration spermatique chez près de 15 000 hommes en bonne santé. Pendant la période considérée, la concentration des spermatozoïdes diminuait de 1% environ par an, elle passe de 113 millions par mL en moyenne dans les années 1930 à $66 \times 10^6 /\text{mL}$ en moyenne 50 ans plus tard. De même, le volume de sperme a diminué parallèlement de 0.65% (3.40 mL vs 2,75 mL). Une seconde étude Française apparue dans la même période, publiée par **Jacques Auger** et Pierre Jouannet, (1995) portant sur 1351 sujets sains a abouti à un résultat comparable (baisse de 2,1% de la concentration en spermatozoïdes et de 0,6% des spermatozoïdes motiles par an entre 1973 et 1992).

Rolland *et al.* (2015) ont enregistré aussi une baisse de la densité spermatique durant la période 1989 et 2005, ces concentrations sont passées de $74 \times 10^6/\text{mL}$ en 1989 à $50 \times 10^6 /\text{mL}$ en 2005.

Ces variations de la concentration du sperme et du nombre total de spermatozoïdes sont à l'origine d'une hétérogénéité géographique et l'influence de divers facteurs de l'environnement et le mode de vie comme le rapporte une étude faite chez les hommes Danois à Sydney (Jorgensen *et al.* 2002).

Paradoxalement, d'autres chercheurs ne trouvent aucun changement significatif dans la concentration du sperme au cours des périodes étudiées 2001-2007 et 2008-2014, les taux étaient similaires et respectivement de $63 \times 10^6/\text{mL}$ et de $61 \times 10^6 /\text{mL}$ (Andersen *et al.*, 2000).

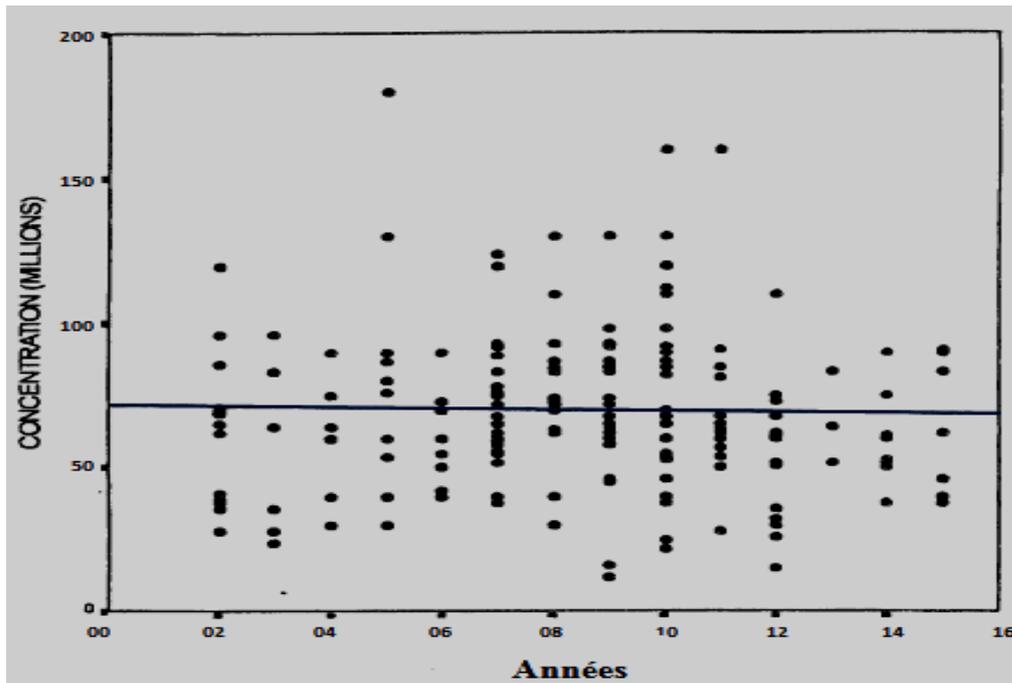


Fig44: Changement de la concentration des spermatozoïdes au cours du temps (2000-2015)

I.2.ETUDE 2 - Effet des facteurs environnementaux sur l'infertilité masculine

I.2.1. Répartition des patients selon le type de spermogramme

L'analyse de l'ensemble des spermogrammes effectués au laboratoire d'analyses médicales spécialisé en spermologie dans la wilaya de Sidi-Bel-Abbès indique que plus de deux tiers des 149 patients (69.12%) présentaient une anomalie du spermogramme contre un tiers un spermogramme normal (30.87%) (fig.45).

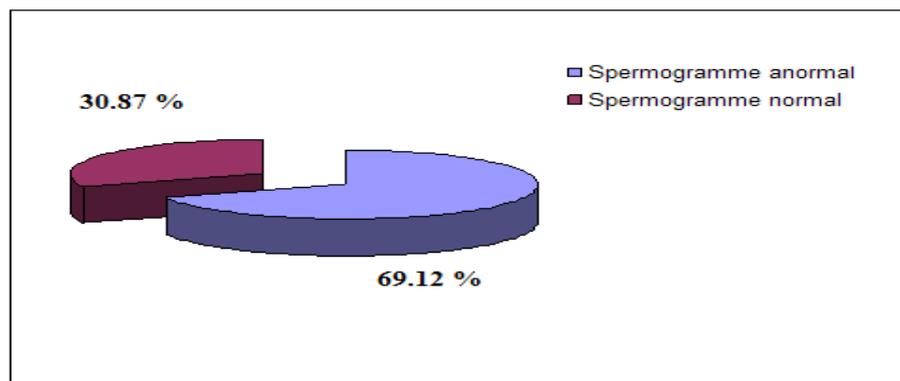


Fig.45 : Répartition des patients selon le type de spermogramme

I.2.2.Lieu de recueil du sperme

Le lieu de recueil du liquide séminal influence largement les données du spermogramme. Dans notre étude, 60.4% de recueil de l'éjaculat a été effectué à domicile pour des raisons de culture, des conditions de vie et surtout de religion et seulement 39.6% des patients font leur recueil au laboratoire (fig.46).

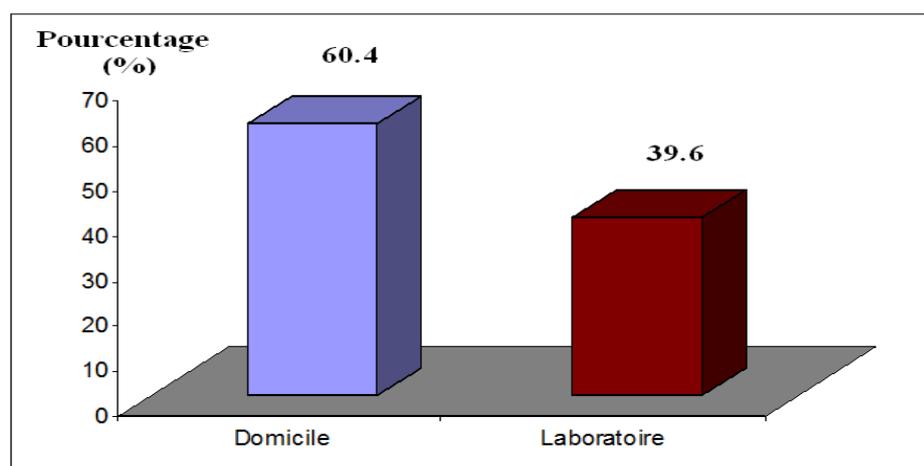


Fig.46 : Taux des patients en fonction du lieu de recueil du sperme

I.2.3.Mesure du pH

L'étude de la mesure du pH montre que 62.41% des spermogrammes ont un pH acide (<7.2) et 24.16% un pH alcalin (>7.8). Le taux de pH normal (7.2-7.8) est de 13.42% qui signifie un témoin indirect d'une sécrétion normale des glandes annexes (Tableau 6).

Tableau 6 : Taux des patients présentant une anomalie du pH

pH	Pourcentage (%)
Acide	62.41
Alcalin	24.16
Normal	13.42

I.2.4.Mesure du volume spermatique

L'analyse des spermogrammes a montré que la majorité (82%) des patients présentaient au recueil un volume spermatique normal (2-6mL), 14.76% une hyperspermie (> 6mL) et une faible proportion (3.35%) une hypospermie (< 2 mL) (Fig.47).

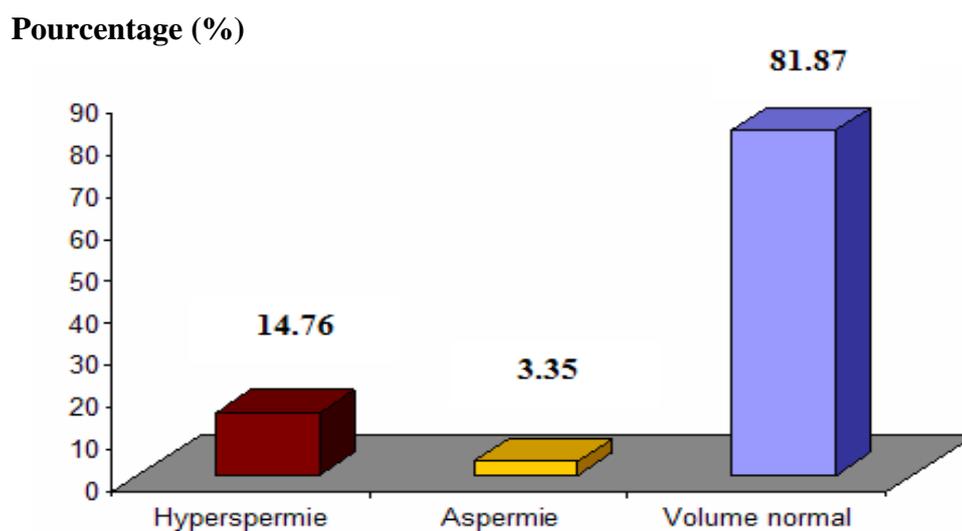


Fig.47 : Taux d'anomalie du volume spermatique chez les patients

I.2.5. Étude de l'agglutination du sperme

La recherche d'une éventuelle agglutination dans notre série d'étude nous a permis de démontrer que plus de 30% des patients présentaient des agglutinations dans leurs éjaculats (fig.48).

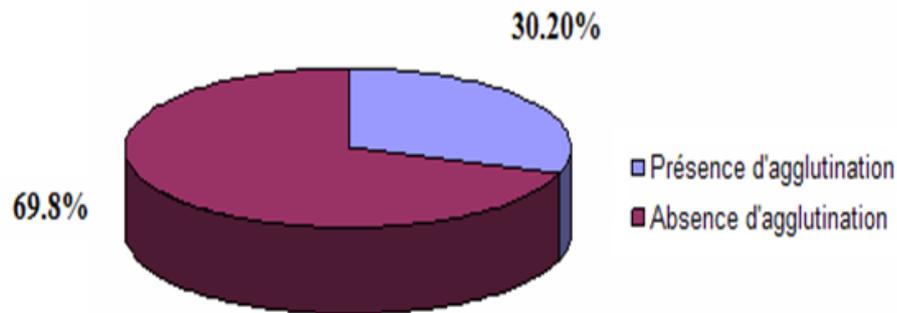


Fig.48: Taux d'agglutination du sperme chez les patients Algériens

I.2.6. Étude de la vitalité des spermatozoïdes

L'analyse de la vitalité des spermatozoïdes dans notre échantillonnage a montré qu'elle est normale chez 40.94% de nos patients, dans 33.55% des cas elle est qualifiée par une hypovitalité et 25.5% des cas présentaient une nécrozoospermie (fig.49).

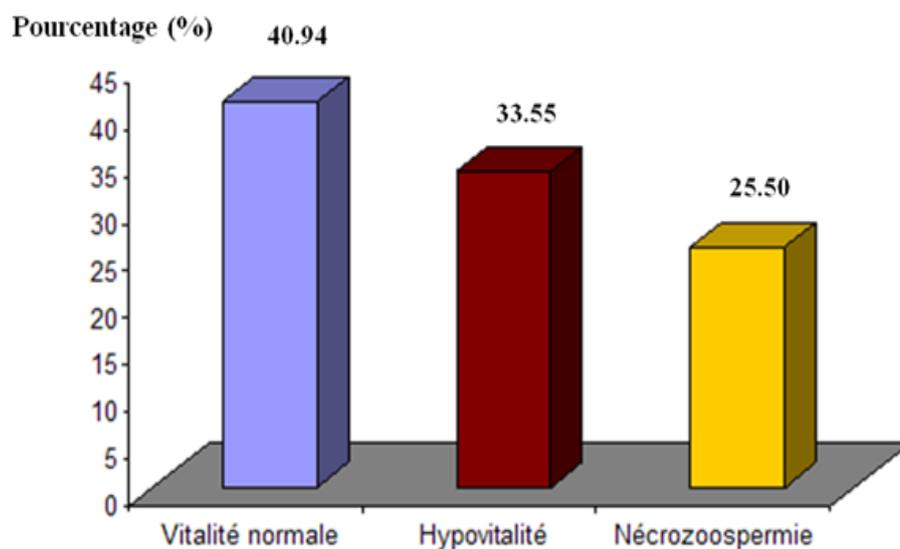


Fig.49: Taux de vitalité des spermatozoïdes chez les patients

I.2.7. Répartition des patients selon le type de stérilité

Concernant l'identification du type de stérilité chez les patients, notre investigation a montré que plus de 61 % présentaient une stérilité primaire (absence de grossesse après un minimum d'un an de rapports réguliers non protégés chez un couple qui n'a jamais eu de grossesse) et seulement, 38.25% une stérilité secondaire (absence de grossesse après un minimum d'un an de rapports réguliers non protégés chez un couple qui a déjà eu une ou plusieurs grossesses) (fig.50).

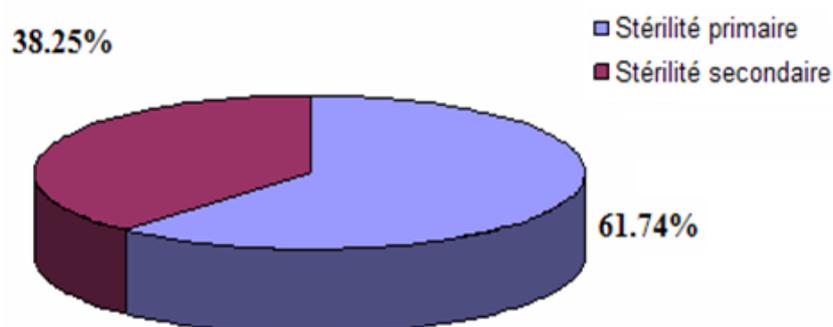


Fig. 50 : Répartition des patients selon le type de stérilité

I.2.8. Anomalies de la numération des spermatozoïdes selon le type de stérilité

L'étude de la numération des spermatozoïdes chez 149 patients a montré que plus d'un quart (26.17%) des patients présentaient une oligoasthénospermie, 18.8% une asthénospermie, 12.08% une oligoasthénotéatospermie (OATS), 4.7% une oligospermie sévère, 2.7% une oligospermie modérée et 4.7% une azoospermie dont 3.35% sécrétoire et 1.34% excrétoire (fig.51). Parmi les patients ayant un spermogramme normal (30.87%), des cas de stérilités primaires et secondaires ont été signalés qui signifie que la responsabilité d'infertilité est partagée chez les deux partenaires.

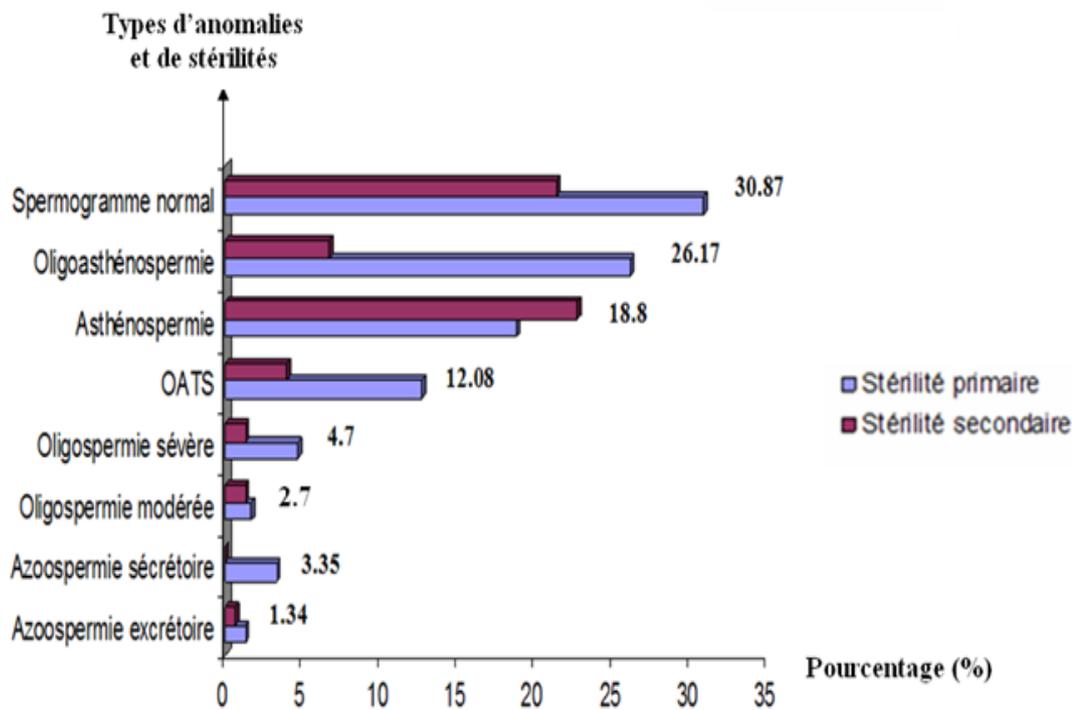


Fig.51: Taux d'anomalie de la numération des spermatozoïdes selon le type de stérilité

I.2.9. Etude du spermocytogramme

L'étude des spermocytogrammes a été réalisée dans notre laboratoire en se référant à la classification de WHO (2010). Les résultats de l'analyse des caractéristiques morphologiques du sperme a montré que plus de 3/4 des patients (75%) présentaient un spermocytogramme normal, 14.77% une tératospermie et presque 10% des frottis révélaiient la présence des cellules immatures (tableau 7, planche III).

Tableau 7 : Caractéristiques du spermocytogramme chez les patients infertiles

Type de spermogramme	Pourcentage (%)
Spermogramme normal	75.83
Tératospermie	14.77
Cellules immatures	9.40

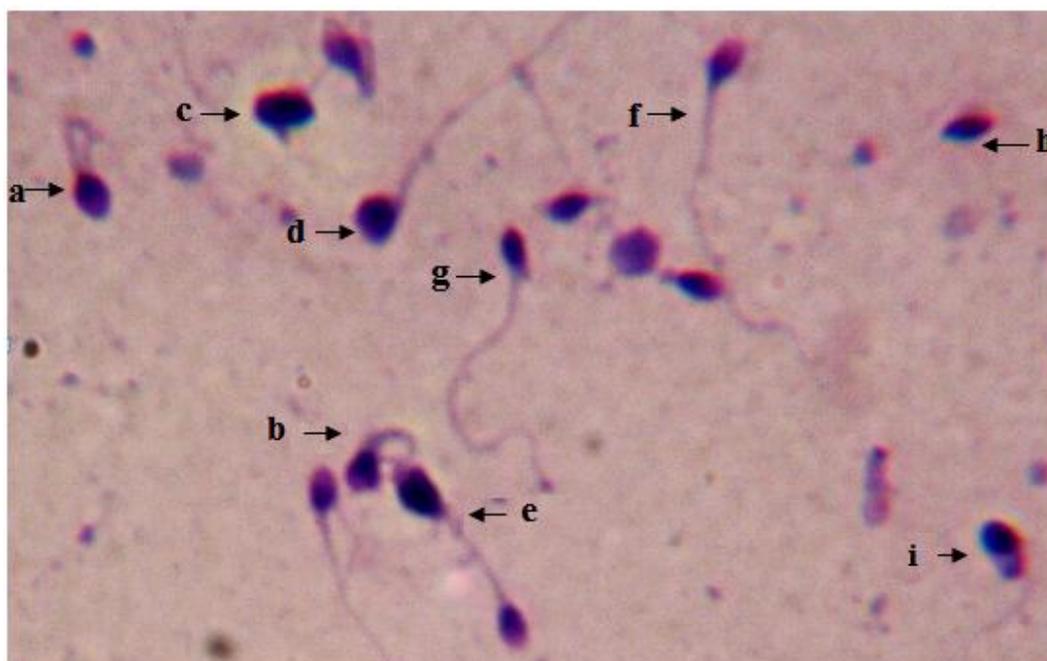


Planche III : Observation microscopique des anomalies spermatiques (Gx1000)
Chez un sujet âgé de 38 ans ayant souffert d'une oligospermie modérée

(a, b): Spzs macrocéphales enroulés ; (c, d, e) : Spzs macrocéphales; f : Spz normal, g: Spz microcéphale,
h : spz sans flagelle ; i : Spz avec anomalie de la pièce intermédiaire.

I.2.10. Exploration endocrinienne

a) Dosage de l'hormone gonadotrophine FSH

Sur 149 patients venant explorer leur problème de fertilité 11.5% présentaient un problème de numération spermatique dont 6.71% avaient une oligospermie et 4.7% azoospermie. Ces derniers ont pu bénéficier d'un dosage hormonal par la méthode radio-immunologie pour préciser la nature de l'azoospermie et l'origine de l'anomalie oligospermique. Il faut noter qu'une forte augmentation du taux de base de FSH a été enregistrée chez quatre de ces patients (14 et 20mUI/L) alors qu'elle était normale chez les trois autres (3 et 8.2 mUI/L) (fig.52).

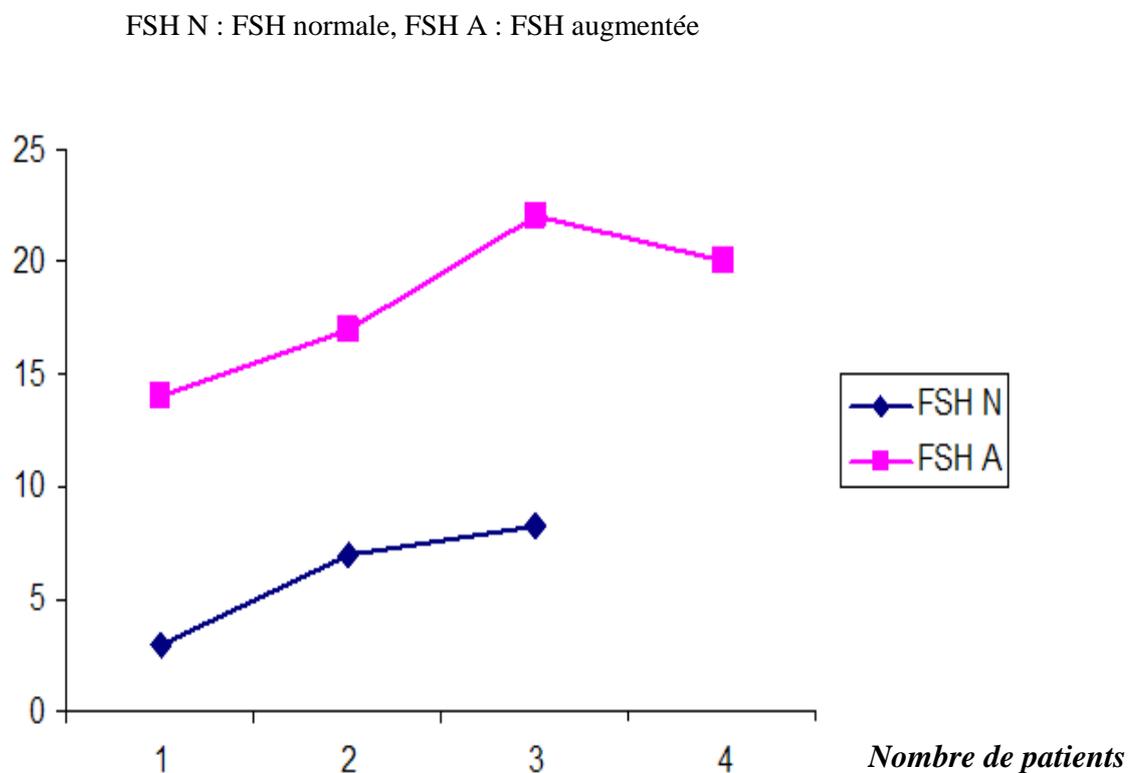


Fig.52 : Taux de FSH chez les patients azoospermiques

I.2.11. Répartition des patients selon leurs antécédents pathologiques

Il a été rapporté que certaines pathologies affectent énormément la fertilité de l'homme, parmi elles : la varicocèle, l'hernie inguinale et le traumatisme des bourses et des verges (ESHRE, 2005). Dans notre série nous avons rapporté de nombreuses affectations associées aux difficultés de conception des patients et suite aux interrogatoires sur leurs antécédents médicaux, les pathologies révélées dans l'ordre d'importance sont les suivantes: les oreillons (24.83%), la varicocèle (19.46%), l'hydrocèle (8.72%), l'hernie inguinale (10.73%), l'HTA (10.06%), le traumatisme des bourses et des verges (6.71%), le diabète (6.04%), l'appendicectomie (5.36%), l'épilepsie (3.35%), l'insuffisance rénale (2.68%) et la leucémie myéloïde chronique (LMC) avec la cure (2.01%) (fig.53).

Pourcentage %

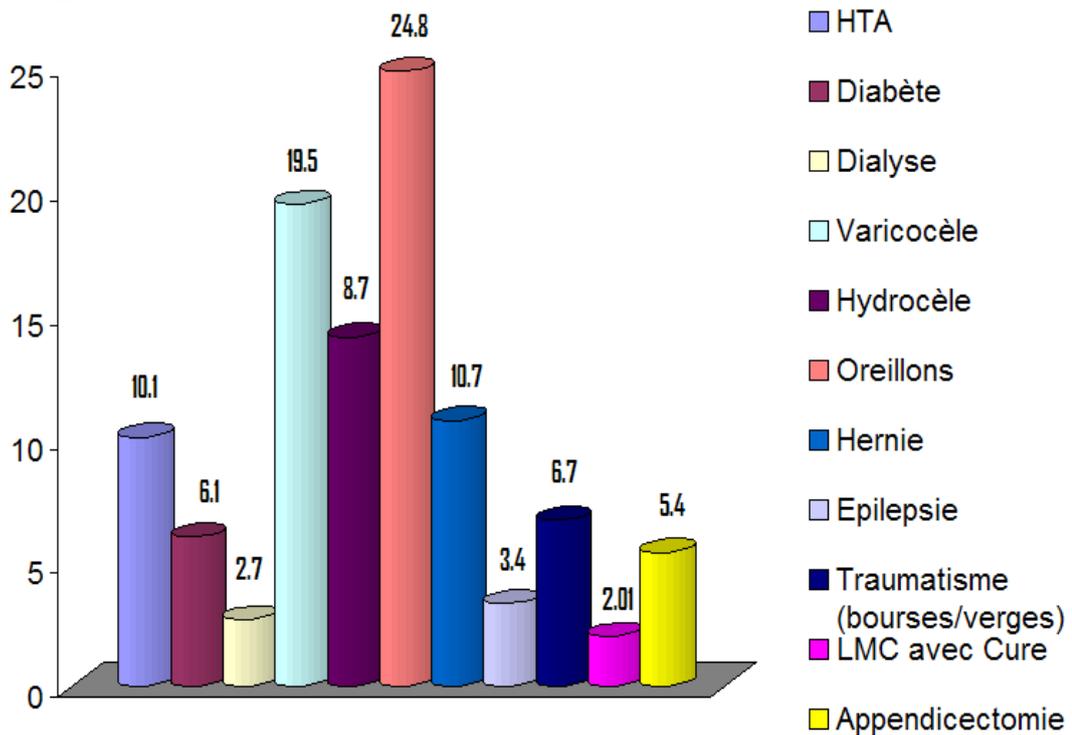


Fig.53 : Les antécédents pathologiques chez les patients infertiles

I.2.12. Impact des facteurs de risques professionnels et environnementaux sur la fertilité masculine

L'étude de l'influence de certains facteurs de risques professionnels et environnementaux nous a permis de révéler chez nos patients une prédominance de la pratique du tabagisme chez 62.4% des cas, 10.73% sont sous le facteur de stress, 8.05% sont en contact avec les métaux lourds (plomb), 6.04% utilisent des pesticides dans leur activité d'agriculture, 3.35% consomment de l'alcool, 3.35% sont exposés à des chaleurs élevées (soudeur, boulanger, chauffeurs de taxi...), 2.68% sont exposés à des rayons X (manipulateurs en radiologie), 2% ont subi une chimiothérapie et 1.34% consomment du cannabis (fig.54).

Pourcentage (%)

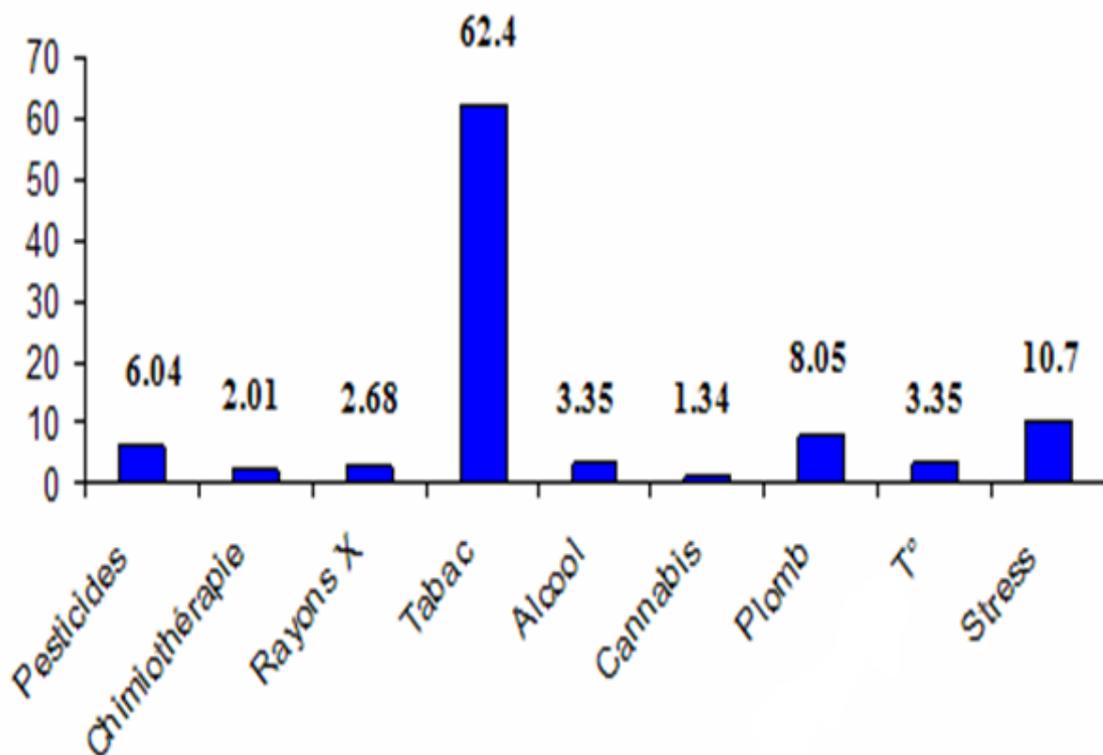


Fig.54 : Facteurs de risques professionnels et environnementaux influençant la fertilité des patients

I.2.13. Identification des germes dans les spermocultures

Les résultats de la spermoculture dans notre série ont révélé la présence de nombreux et différents germes dont certains ont été identifiés comme appartenir à la catégorie des gram positif tels que les Staphylocoques 6% et d'autres négatif comme Entérobactéries 32%, Klebsiella 21%, Serratia 17%, Escherichia coli (15%), et Proteus 9%. Ces germes sont incriminés dans les différentes anomalies constatées au niveau du spermogramme à savoir la diminution du volume, de la mobilité, la présence d'agglutination et des leucocytes (fig.55).

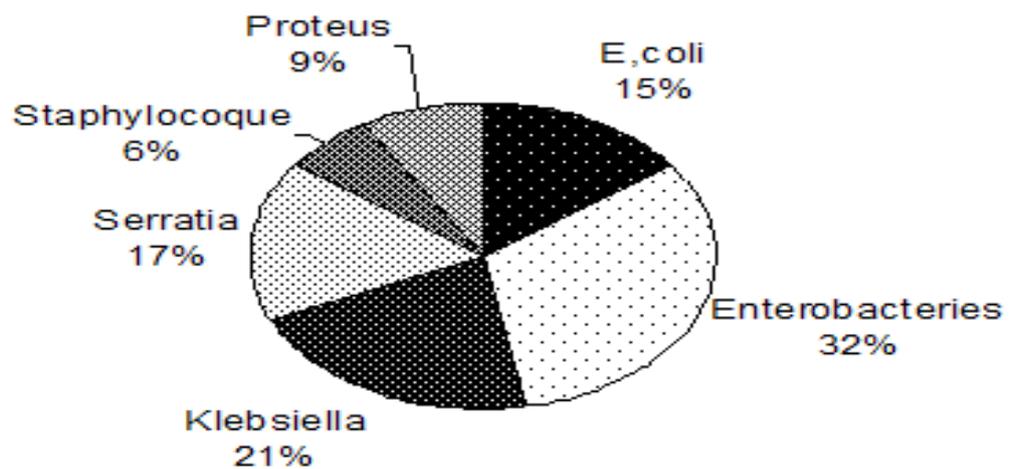


Fig.55 : Taux de germes pathogènes présents dans la spermoculture

I.3. ETUDE 3 -Prise en charge des couples infertiles : Comparaison du taux de succès de l'IAC chez la population Algérienne et Hollandaise

I.3.1.Taux et types d'anomalies de la numération des spermatozoïdes

L'étude de la numération des spermatozoïdes chez les patients Néerlandais a montré que plus d'un tiers des patients infertiles (32%) présentaient une asthénospermie, 16.4% une oligoasthénospermie et 9% une oligospermie. Le taux d'azoospermie et de spermatozoïdes immobiles étaient respectivement de 5.73% et 3.27%. Ces résultats montrent une forte concordance avec ceux retrouvés en Algérie du moins pour le taux d'anomalies spermatiques asthénospermique qui est similaire (32%), quant au taux d'oligoasthénospermie est faible (10%) (fig.56).

La présence d'anomalies spermatiques a été également retrouvée dans l'étude de Rochebrochard (2003) qui ont montré que les spermés issus de patients oligospermiques ont des taux de protéines carboxylées (marqueurs d'oxydation protéique), significativement supérieurs à ceux qui ont un spermogramme normal. Ces taux sont positivement corrélés à des anomalies acrosomiales des spermatozoïdes. Ces dommages nucléaires, membranaires et mitochondriaux représentent un facteur de risques pour le faible taux de fécondation, pour les anomalies du développement embryonnaire préimplantatoire et les fausses couches.

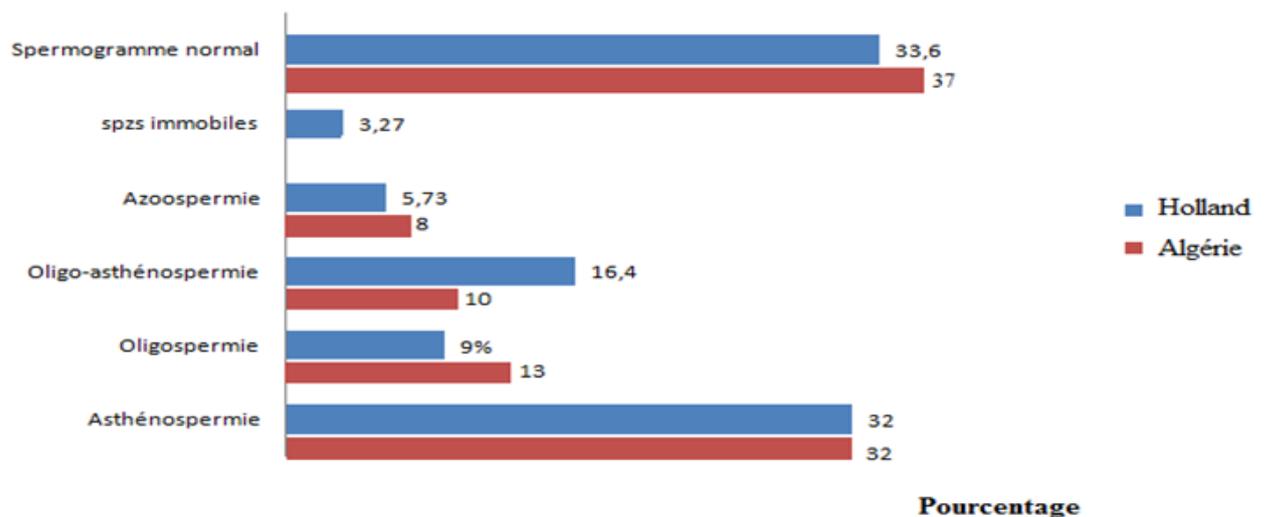


Fig.56 : Répartition des patients selon le type de spermogramme

I.3.2. Répartition des patients selon le type d'infertilité

En ce qui concerne le type de stérilité chez les couples Algériens et Néerlandais, notre investigation a montré que plus de deux tiers de ces patients présentaient respectivement une stérilité primaire 64.23% et 67.20%. La différence n'est pas significative entre les deux groupes de couples infertiles aussi bien pour l'infertilité primaire que secondaire (tableau 8).

L'âge moyen de l'ensemble des patientes explorées était de 31.9 ± 3.9 ans. L'âge des patientes ayant obtenu une grossesse après IAC chez les femmes algérienne et hollandaise est respectivement de 31.9 ± 3.9 ans et 32.4 ± 4.2 ans, ce taux est pratiquement comparable chez les deux groupes et la durée moyenne de l'infertilité est égale à 4.53 ± 2.26 ans. Ces moyennes d'âge correspondent à celles publiées dans le rapport de l'année 2005 de la société européenne de la reproduction humaine et d'embryologie (ESHRE, 2005), et varient entre 32 et 36 ans pour l'Europe, 34.01 ans en Allemagne, 35.56 ans en Suisse, 35.64 ans en Grèce et 33.64 ans en Belgique.

Tableau 8 : Comparaison du taux et du type d'infertilité chez les patients Algériens et Hollandais

Type d'infertilité	IAC Algérie		IAC Pays-Bas		P
	n	%	n	%	
Primaire	64	64	82	67.20%	0.63
Secondaire	36	36	40	32.8%	
Total	100	100%	122	100%	

I.3.3. Répartition des couples en fonction de la durée de l'infertilité

La durée d'infertilité a été analysée en tenant compte de 3 classes différentes d'infertilité réparties ainsi : <2 ans, 2-5 ans et >5 ans. Le taux des patients ayant une durée d'infertilité égale à 2 ans était respectivement de 44% et 45.90% chez les couples Algériens et Néerlandais (fig.57). La durée d'infertilité dans les trois classes était comparable entre les deux populations, la valeur du *p* étant proche de la significativité ($p=0.0522$), est en faveur d'une durée d'infertilité dans l'ensemble plus courte dans le groupe des couples Néerlandais.

La durée moyenne d'infertilité était de 3.21 ± 1.28 ans chez les deux groupes de population, avec des extrêmes de 0.6 à 6 ans, résultats presque identiques à celui obtenu par Hamamah *et al.*, 2004 dont la durée moyenne d'infertilité était de 3.4 ans avec des extrêmes allant de 1 à 10 ans. Il faut noter que plus de 20% des couples infertiles présentent une durée d'infertilité supérieure à 5 ans aussi bien chez les patients algériens que hollandais. Et plus de un tiers (33% algériens vs 32,80% hollandais) des patients souffraient d'infertilité comprise entre 2 et 5ans (voir tableau 9 en annexe).

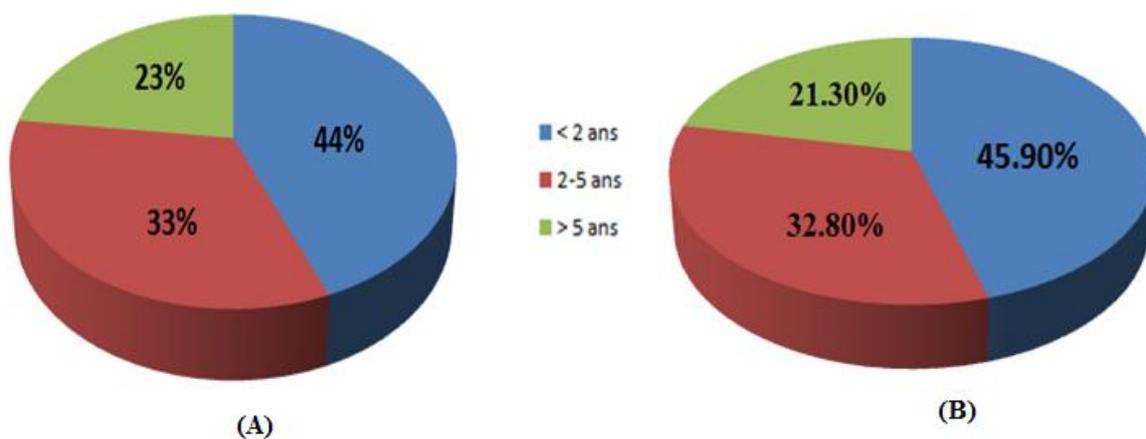


Fig.57 : Répartition des couples en fonction de la durée de l'infertilité en Algérie(A) et au Pays-Bas (B)

I.3.4.Taux de la numération des spermatozoïdes selon l'âge des patients

Les résultats obtenus chez les patients Algériens montrent la même tendance de progression sauf que les taux sont réduits de 20 à 25% par rapport à ceux trouvés dans la population Hollandaise, à l'exception de la tranche d'âge comprise entre 40 et 44 ans où le taux de spermatozoïdes est comparable, il est d'environ $75 \times 10^6/\text{mL}$. En effet, la numération spermatique atteint une valeur maximale entre 30 et 40 ans ($93.62 \pm 1,22 \times 10^6/\text{mL}$). Ce taux est réduit presque de moitié et reste stable à partir de la quarantaine (54.38 millions/mL) (fig.58).

Concentration du sperme ($10^6/\text{mL}$)

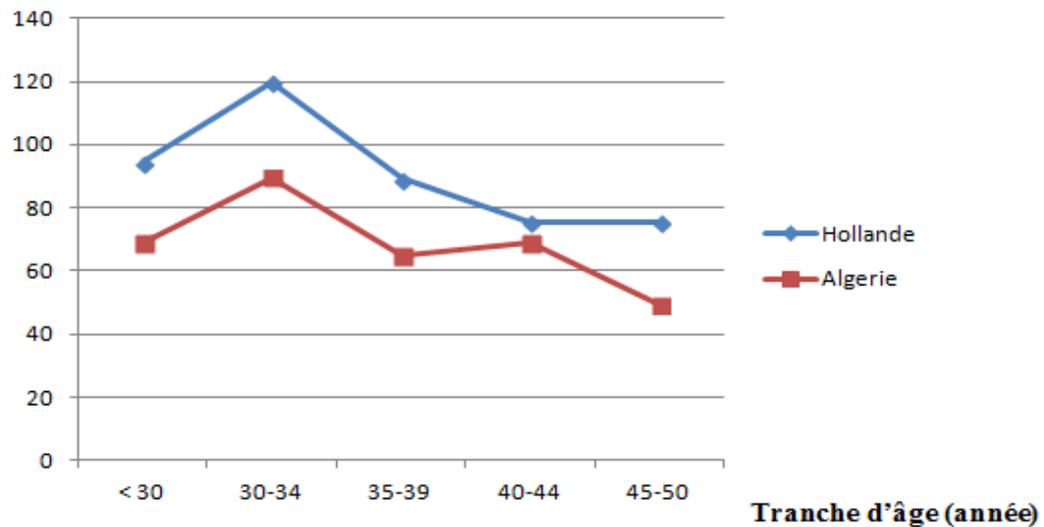


Fig.58 : Evaluation de la concentration des spermatozoïdes en fonction de l'âge

I.3.5. Comparaison des variables qualitatives relatives aux caractéristiques biologiques chez les deux groupes de patientes

Dans cette étude, nous avons analysé 222 rangs de tentative effectués chez 100 patientes Algériennes et 255 cycles de tentative chez 122 Néerlandaises.

Une analyse ANOVA comparative des caractéristiques cliniques et biologiques liées à la patiente et aux cycles de traitement entre les deux groupes a été réalisée.

Le tableau 9 ci-dessous, présente les résultats des différentes variables qualitatives et quantitatives étudiés :

Aucune différence significative n'est retrouvée entre les deux groupes en ce qui concerne l'âge ($p=0.2952$), l'IMC (indice de masse corporel) ($p=0.9972$) et le type d'infertilité des patients ($p=0.63$). Dans l'ensemble, l'IMC est comparable dans les deux groupes, à l'exception d'une grande proportion de patients (96% des hollandais vs 85.5% des algériens) qui présentaient un IMC supérieur 40 Kg/m^2 qui signifie que l'obésité sévère a un impact fort sur l'infertilité du couple.

En revanche, l'origine de l'infertilité a un impact sur les chances d'obtention d'une grossesse si l'on tient compte des troubles ovulatoires qui sont en faveur d'un meilleur pronostic lors d'un dérèglement du cycle folliculaire ($p=0.0014$).

Par ailleurs, le rapport LH/FSH en début de cycle a un impact significatif sur les chances d'obtention de grossesses si le rapport >1 ($p=0.0302$). L'analyse des résultats conclue qu'une élévation du rapport LH/FSH d'une unité augmente de 2.5 fois la chance d'obtenir une grossesse biologique. Cependant, on observe une chute des taux de grossesses en Algérie et aux Pays-Bas (10% vs 11.11%), respectivement à partir de 36 ans ($p=0.0192$). Enfin, la durée d'infertilité, l'origine de l'infertilité, la taille et le nombre des follicules matures, montrent une différence significative et observés comme ayant un impact positif sur les chances d'obtention une grossesse biologique (tableau 9).

Tableau 9: Comparaison des caractéristiques biologiques chez les deux groupes de patientes

Paramètres	Algérie		Pays-Bas		P value
	n	%	n	%	
Tranche d'âge					
19-25 ans	16	16	24	19.67	0.2952
26-30 ans	34	34	42	34.42	
31-35 ans	22	22	31	25.4	
36-39 ans	28	28	25	20.49	
Durée d'infertilité					
< à 2 ans	44	44	56	45.90	0.0232
>2 et < 5 ans	33	33	40	32.80	
> à 5 ans	23	23	26	21.30	
Etiologie d'infertilité					
Troubles ovulatoires	06	06	22	18.03	0.0014
Idiopathique	19	19	8	6.55	
Autres causes (varicocèle, infection, stress...)	75	75	92	75.42	

Type d'infertilité					
Primaire	64	64	82	67.2	0.63
Secondaire	35	35	33	32.8	
Classe d'IMC					0.9972
<25 kg /m ²	00	00	00	00	
25 -35 kg /m ²	01	01	02	4.2	
35-40 kg /m ²	03	03	18	21	
> 40 kg /m ²	96	85.24	104	96	
Rapport LH/FSH					0.0302
< 1	38	38	42	48.2	
> 1	14	14	80	82.41	

I.3.6. Influence de l'IAC et des facteurs féminins sur le taux de grossesses

Dans le groupe des patientes Algériennes, les 222 rangs de tentatives ont permis l'obtention de 33 grossesses (grossesse échographique à 8SA avec au moins 1 embryon ayant une activité cardiaque positive), 3 grossesses arrêtées au premier trimestre et 3 grossesses biochimiques, dont deux se sont avérées évolutives par la suite. Au final, 67 patientes n'ont pas pu tomber enceinte.

Dans le groupe des Néerlandaises, les 255 cycles suivis d'insémination artificielle avec sperme du conjoint (IAC), ont permis d'obtenir 70 grossesses, 5 grossesses arrêtés au premier trimestre dont une est devenue évolutive, et trois grossesses biochimiques, qui par la suite sont devenues évolutives. Les patientes ayant présentées des grossesses biochimiques ont progressé vers des grossesses évolutives. Au final, 52 patientes n'ont pas pu être enceintes.

I.3.7. Taux de grossesses en fonction de l'âge de la patiente

Le taux de grossesse obtenu chez les patientes Hollandaises est deux fois plus élevé que celui rapporté en Algérie (17.33%), il est de 34.09% chez les patientes jeunes moins de 30 ans, puis diminue jusqu'à 22.64% chez les femmes âgées entre 30 et 34 ans. Cette diminution est imputée à une forte consommation ou exposition au tabac (actif et passif) et une plus longue utilisation des contraceptifs depuis l'âge de 16 ans. La tranche d'âge la plus touchée par la diminution du taux de grossesses est celle âgée de 38 ans aussi bien chez les femmes Algériennes qu'Hollandaises (11.11% vs 10%) ($p < 0.05$) (Tableau 11).

Tableau 11. Taux de grossesses (TG/Cycle) après stimulation en fonction de l'âge des couples

Age (ans)	Nbre de tentatives	Nbre de grossesses	TG/cycle en Algérie (N=100)	TG/cycle aux Pays-Bas (N=122)
< 30	88	30	22.91%	34.09%
30 - 34	106	24	17.39%	22.64%
35 - 38	52	15	24.61%	28.84%
> 38	9	1	10%	11.11%
Total	255	70	100%	100%

I.3.8. Le type de stimulation ovarienne

L'analyse des résultats du taux de réussite de grossesse/cycle montre que sur 255 cycles, soixante-dix (70) grossesses cliniques ont été obtenues chez les patientes Néerlandaises, soit un taux de grossesses de 27.45% (70/255) par cycle de grossesses, 5 grossesses arrêtés au premier trimestre, et 3 grossesses biochimiques et enfin, 42.62% de grossesses se sont soldées par un échec. Dans les cycles stimulés, le taux de grossesses par cycle est plus élevé (28.57% (30/115), par rapport au cycle spontané (26.08% (40/140) ($p < 0.05$). En Algérie, le taux de grossesse par cycle stimulé est de 24.61% contre 19.71% en cycle spontané ($p < 0.05$), ces résultats sont sensiblement bas comparativement à ceux observés aux Pays-Bas mais restent plus élevés par rapport à

ceux trouvés dans la littérature. En effet, Klipstein et *al.* (2005) rapportent qu'au cours des cycles stimulés, les TG/cycles varient en fonction de la maturité des follicules et de la mobilité des spermatozoïdes (13.9% en cycles stimulés versus 7% en cycles spontanés). Ces résultats concordent avec ceux de Hughes qui révèle sur 5214 cycles étudiés, un effet significativement positif de l'IIU en cycles stimulés 9% contre 2% en cycles spontanés (tableau 12).

Tableau 12 : Influence de la stimulation ovarienne sur l'obtention du TG/cycles

Pays (années)	Nbre et âge des femmes (ans)	TG/cycles	
		Cycles stimulés	Cycles spontanés
Pays-Bas (2010-2012)	(n=122) 31.9±3.9	28.57%	26.08%
Algérie (2009-2011)	(n=100) 32.4±4.2	24.61%	19.71%
Boston Klipstein (2005)	(n= 381) 39.85±2.1	13,9%	7%
France Hugues (1997)	(n= 247) 32.1±3.6	9 %	2 %

I.3.9. Les paramètres et rendement spermatique

L'analyse du spermogramme lors des cycles spontanés et stimulés montre que la numération des spermatozoïdes mobiles inséminés est en moyenne de 1.5×10^6 /mL. Lorsque le nombre de spermatozoïdes progressifs inséminés est supérieur à 2.2×10^6 , le taux de grossesses par cycle est respectivement de 27.45% chez les patients âgés entre 30 et 34 ans et 28.84% chez la tranche d'âge 34 et 38 ans, apparemment ces patients ne présentaient aucun problème d'antécédents médicaux, environnementaux ou toxiques. Par contre, lors des cycles spontanés si le nombre de spermatozoïdes est inférieur à 2.2 millions le taux de grossesses/cycle (G/C) est significativement faible (20,45%) ($p < 0.05$). En Algérie, ce taux de grossesse reste légèrement faible (24.6%) même si la concentration des spermatozoïdes est supérieure à 2.2×10^6 /mL. Cependant, lorsque le nombre de spermatozoïdes inséminés est réduit ($750\,000$ /mL), le taux de grossesses/cycle (G/C) chute significativement à 7.89% ($p < 0.001$) (fig.59).

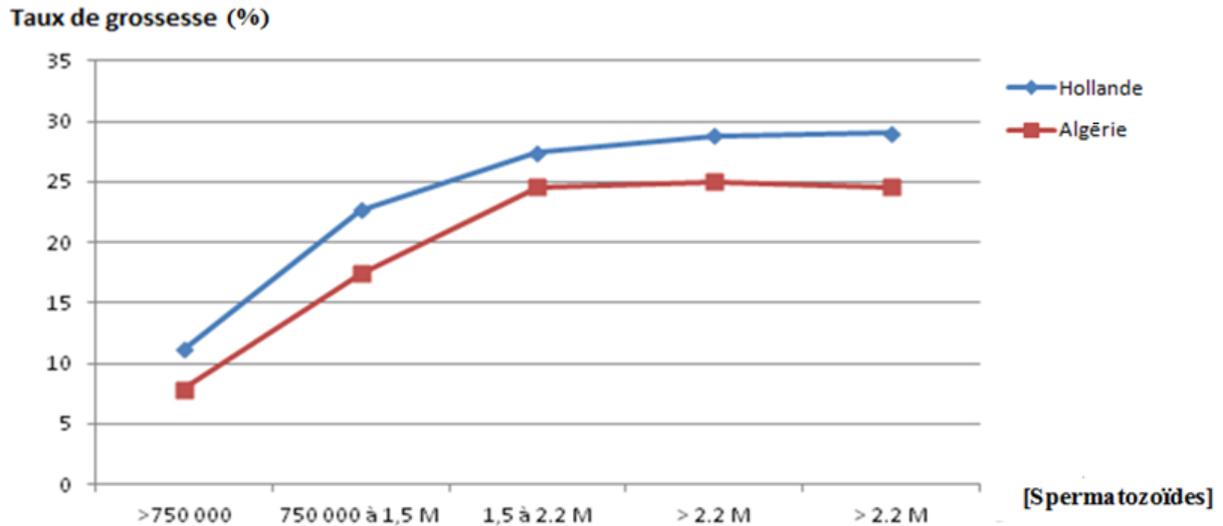


Fig.59 : Taux de TG/cycle en fonction du nombre de spermatozoïdes mobiles progressifs inséminés

I.3.10. Rang de la tentative

En considérant que le rang de la tentative et les chances de grossesses ne sont pas équivalentes dans notre série, les résultats trouvés chez les patientes Néerlandaises, les chances ou le taux cumulatif de grossesses sont obtenues à partir de la 4^{ème} tentative d'insémination (28.57 %) et lorsque le diamètre des follicules est > à 18 mm, par contre, en Algérie, ce taux est obtenu qu'à partir du 6^{ème} rang de tentative avec une petite différence mais non significative (24.54%) (Tableau 13).

Tableau 13. Influence du rang de tentative sur le TG/C en fonction de l'âge

Rangs/Pays	Hollande	Algérie
Paramètres	3-4	> 6
Age (ans)	31.9 ± 3.9	32.4 ± 4.2
Diamètre de follicule (mm)	18	>18
Nombre de grossesses	30	27
Nombre de tentatives	115	110
TG/Cycle	28.57%	24.54%

TG : taux de grossesse

I.3.11. Le lieu de recueil du sperme et succès de l'insémination

Le lieu de recueil du sperme influence largement les données du spermogramme. Dans notre étude, 60.4% de recueil de l'éjaculat ont été effectués au laboratoire. Il faut noter que le délai entre le recueil et le transport au laboratoire influe négativement sur certains paramètres du sperme en particulier la mobilité et c'est pour cela qu'il est impératif de respecter le délai de remise du recueil qui ne doit pas dépasser les 30 min (WHO, 2010).

Il faut signaler également, que le délai entre la fin de la préparation du sperme et l'insémination est en moyenne 41 minutes. Ainsi, selon le délai d'insémination, une différence significative a été observée entre les cycles ayant donné une grossesse (37.9 min) ou non (40.4 min) ($p < 0.05$).

Dans les cycles où le délai est supérieur à 40 minutes, le taux de grossesse obtenu est très faible (17.64%) par contre, il est très élevé (27.45%) lorsque le délai est inférieur à 40 minutes en associant un paramètre de succès qui est la mobilité progressive des spermatozoïdes (fig.60).

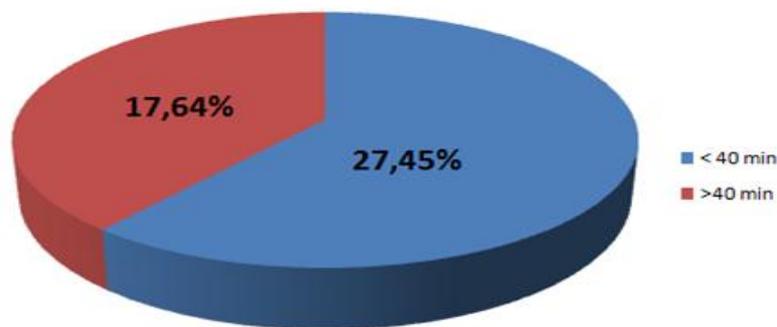


Fig.60 : Taux de grossesse en fonction du délai de préparation du sperme et de l'insémination

I.3.12. Le style de vie et les facteurs influençant l'infertilité du couple

Le style de vie peut contenir des facteurs délétères aux confins de l'étiologie. Le mode de vie chez les couples Néerlandais est marqué par les effets délétères du tabagisme, de l'alcoolisme et de la consommation élevée de caféine. En effet, 32.78% des hommes Hollandais fument plus de 10 cigarettes/jour, 26.22% consomment de l'alcool (20verres/semaine), et 4.9% consomment quotidiennement du café (>12 tasses/jour).

La pratique du sport concerne seulement 6.55% des patients exerçant un sport intensif et régulier (fig.61). Certaines affections médicales liées aux difficultés de conception chez les deux conjoints ont été rapportées à savoir par ordre d'importance: les troubles ovulatoires (18.03%), les infections (14.75%), le stress (12%), les problèmes tubaires (4.91%), l'endométriose légère (3.27%), l'obésité (3.27%) et l'infertilité idiopathique (6.55%). Cependant, plus ou moins de 20% des patients (21.31% des conjoints et 18.07% des conjointes) ne présentaient aucun antécédent médical. Les mêmes affections mais avec des degrés plus ou moins différents ont été rapportées chez les couples Algériens : le stress et dépression (18%), l'obésité (7%), les infections (13%), le tabagisme (6%), les troubles ovulatoires (7%) et les problèmes tubaires (6%). Néanmoins, le taux des patients n'ayant aucun antécédent médical est plus élevé (30%) chez les algériens par rapport à celui des hollandais (fig.62).

En Algérie, comme dans la culture d'autres pays musulmans, il est bien connu que la naissance d'un bébé stabilise le foyer et constitue une bénédiction pour le couple, son absence engendre des drames sociaux, tels que le divorce, la polygamie, le rejet et la frustration.

Enfin, Il a été confirmé que le style de vie peut induire une stérilité à cause des différents facteurs évoqués précédemment sur l'efficacité de la conception d'un enfant (Grynberg et *al.*, 2012) et que si l'espoir d'obtenir une grossesse d'un couple hors facteurs délétères est de 83% à un an, cet espoir n'est plus que de 61% en présence de deux facteurs délétères et seulement 38% en présence de quatre facteurs (Rossin et *al.*, 2009).

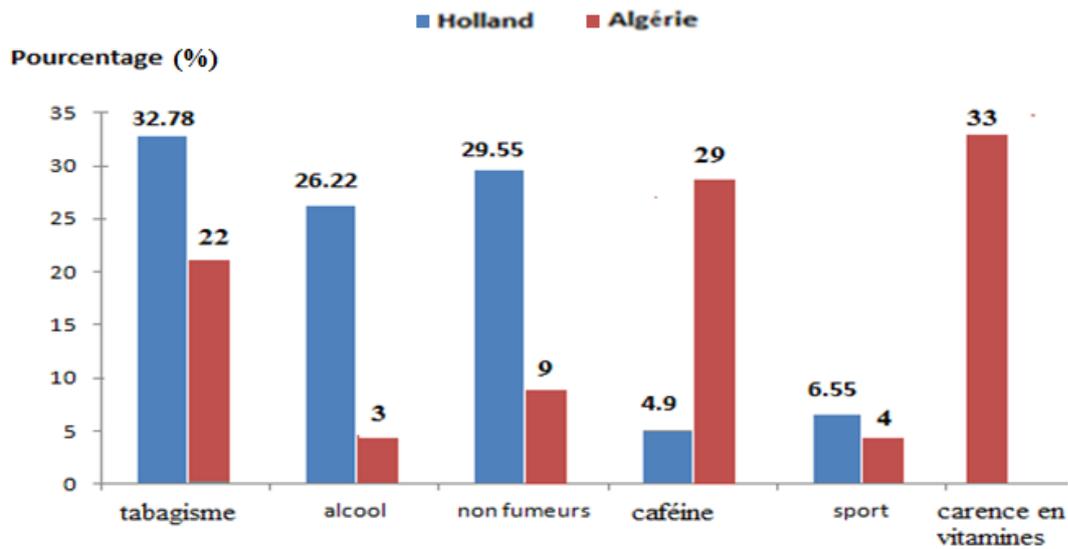


Fig.61: Facteurs de risques influençant sur la fertilité des couples Algériens et Hollandais

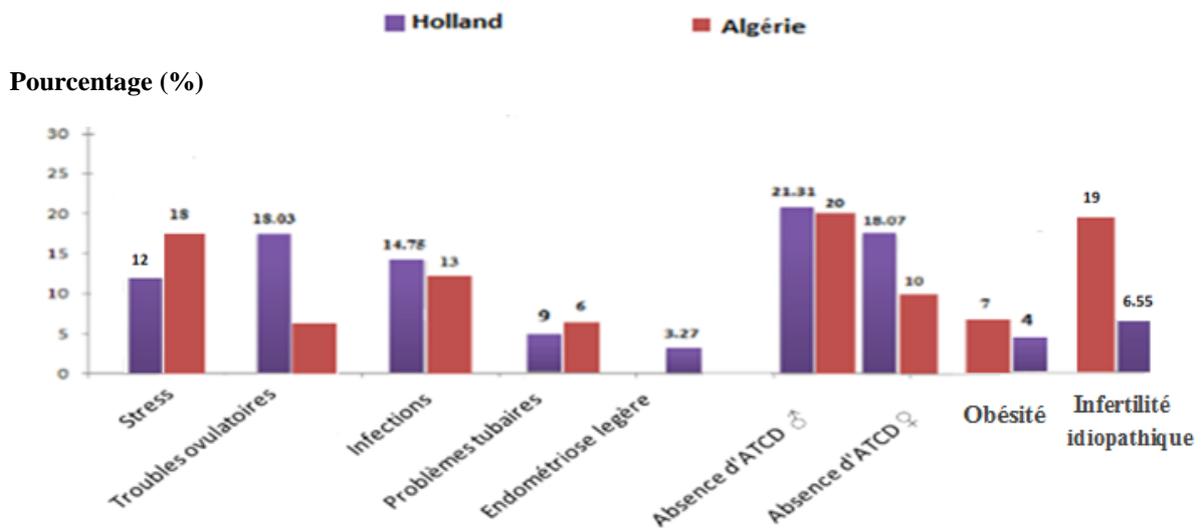


Fig.62: Influence des antécédents médicaux sur la fertilité du couple

I.3.13. Etude du statut social

Le niveau d'étude et la catégorie socioprofessionnelle des couples Néerlandais sont en réalité comparables à ceux des couples Algériens. En effet, notre étude rapporte que deux tiers (67.20%) des Néerlandais exercent en tant que cadre supérieur et un tiers (32.80%) ont un niveau moyen. Ces données sont concordantes avec celles trouvées en Algérie qui montrent que près deux tiers (60%) des patients possèdent un niveau d'étude universitaire et vivent dans des conditions favorables cependant, plus de un tiers (40%) ont un niveau socioprofessionnel bas.

CHAPITRE II. DISCUSSION GENERALE

1) ETUDE 1 : Déclin de la qualité du sperme chez la population Algérienne

Les données épidémiologiques suggèrent qu'approximativement près de 80 millions de la population mondiale est infertile où environ 15% des couples en âge de procréer (OMS, 2010). Il est admis aujourd'hui qu'il existe réellement un léger et constant déclin de la qualité et de la quantité du sperme. Ces changements dans les paramètres spermatiques nous ont amène à faire une investigation plus détaillée dans notre population Algérienne.

Pour ce faire, une étude prospective et rétrospective a été réalisée pendant la période 2000-2015 sur 188 jeunes partenaires âgés entre 25 à 35 ans dont les conjointes souffrent d'infertilité féminine ou idiopathique qui ont été incluses dans un programme d'insémination artificielle. L'objectif principal de cette étude est d'évaluer la qualité des paramètres spermatiques (le volume, la numération, la motilité, la concentration et la morphologie normale des spermatozoïdes) de ces jeunes partenaires au cours de cette dernière décennie dans la région Ouest de l'Algérie (Cas de la wilaya de Sidi-Bel-Abbès).

L'analyse du liquide séminal chez ces jeunes partenaires révèle des changements importants qui se sont opérés au niveau du nombre total des spermatozoïdes dont l'augmentation est statistiquement significative (+6.61%) suivie par une légère augmentation du volume (+0,1mL) et du pourcentage de la motilité spermatique (+0.27%). Parallèlement à ces changements, une chute mais, non significative de la concentration du sperme (-3,43%) par an, ainsi qu'une diminution significative du pourcentage de morphologie spermatique normale (-1,05%) ont été observées. Afin d'éliminer les principaux facteurs de confusion, deux paramètres ont été sélectionnés : l'âge jeune de ces hommes (25 à 35 ans) et la durée de l'abstinence courte (3 à 4 jours). Au cours de ces dernières années, certains auteurs ont rapporté une diminution de la qualité et de la quantité de sperme au cours du temps (Schwartz *et al.*, 1983 ; Jorgensen *et al.*, 2002 ; Feki *et al.*, 2009).

De nombreux autres chercheurs (Macleod *et al.*, 1979 ; Tummon *et al.*, 1992 ; Brake *et al.*, 1992 ; Suominen et Vierula, (1993) ; Fish *et al.*, 1995 ; Paulsen *et al.*, 1995 et Kutluyer *et al.*, 2015) ne soutiennent pas cette conclusion. Suominen et Vierula,

(1993) ont examiné, dans six études réalisées entre 1958 et 1992, le nombre de spermatozoïdes chez des hommes finlandais en bonne santé et les données ne montrent aucune diminution de la concentration spermatique dans le temps. Par contre, Paulsen et *al.* (1995) ont rapporté durant une longue période d'étude (21ans) après une évaluation des paramètres spermatiques chez 510 hommes blancs et sains dans la région dans Seattle et Tacoma, région de Washington, une légère augmentation mais statistiquement significative de la concentration, du volume, du pourcentage de la morphologie normale, et du nombre total de spermatozoïdes avec le temps. Dans une autre étude menée entre 1970 et 1992 sur 1283 hommes, Fisch et *al.*, 1995 ont rapporté que ces patients ont bénéficié d'une analyse spermatique avant l'opération de la vasectomie dans trois banques de spermes américaines et dans trois endroits géographiquement distincts. Ces chercheurs ont observé une augmentation statistiquement significative de la concentration des spermatozoïdes, mais aucun changement au niveau de la motilité et du volume spermatique n'a été noté. Une autre étude réalisée entre 1977 et 1992 par l'équipe Bujan et *al.* (1996) sur 302 hommes fertiles sains et candidats volontaires du don de sperme à Toulouse (France), n'a rapporté aucun changement avec le temps de la concentration moyenne des spermatozoïdes qui était de 83.12×10^6 . Nos résultats corroborent avec les données de l'ensemble des chercheurs qui ont signalé des baisses continues dans la qualité du sperme au cours du temps.

Leto et Frensilli, (1981) ont rapporté en 1973 dans une cohorte de 275 hommes donateurs volontaires de sperme aux États-Unis, que 77 % de ces hommes répondaient aux critères de donateurs volontaires du sperme en vue d'insémination artificielle, alors que seulement 37 % de ceux qui ont fait don en 1980 répondaient à ces critères. Par la suite, Carlesen et *al.* (1992) ont rapporté les évolutions séculaires des valeurs de la concentration spermatique de près de 15 000 hommes en bonne santé et fertiles en faisant une méta-analyse de 61 articles publiés entre 1938 et 1990. Ces études ne concernaient pas un suivi de cohorte mais une analyse écologique qui a chacune décrit les caractéristiques spermatiques d'hommes recrutés à une période donnée. Pendant la période considérée, la concentration des spermatozoïdes diminuait de 1% environ par an, elle passait de 113×10^6 /mL en moyenne dans les années 1930 à

66x10⁶/mL en moyenne 50 ans plus tard. Cette étude a été très discutée à cause de certains biais concernant la sélection des sujets et l'hétérogénéité géographique des populations considérées. L'étude fut par la suite réactualisée selon une méthodologie légèrement différente avec l'inclusion de 40 publications supplémentaires portant sur une période plus longue (Swan et *al.*, 1997). Selon l'auteur de cette étude, l'ajout de ces publications et le traitement des données permettant de prendre en compte l'origine géographique des sujets, rendant moins probable un biais de confusion lié aux caractéristiques géographiques, confirmant ainsi la baisse de la concentration spermatique aussi bien en Amérique du Nord qu'en Europe.

Plusieurs autres études ont rapporté un déclin de la population à l'échelle de la qualité du sperme au cours de ces 50 dernières années. Cette diminution de la qualité spermatique a été montrée également par l'étude d'Auger et *al.* (1995) sur 1351 d'hommes fertiles donneurs de sperme à Paris pendant 20ans, dont les résultats ont montré une diminution de la concentration moyenne de spermatozoïdes (-2,1% par an) et que le pourcentage des spermatozoïdes mobiles et morphologiquement normale a diminué respectivement de 0,6 et 0,5% par an. Auger et ses collaborateurs ont également signalé une augmentation significative de l'âge des donneurs de sperme au cours du temps et seulement 66% des hommes ont respecté les conditions d'une abstinence recommandée de 3 à 4 jours. Cependant, après avoir pris ces facteurs de confusion en compte (l'âge et la durée de l'abstinence), il y avait encore des baisses significatives dans les paramètres à savoir une baisse annuelle de la concentration du sperme et du taux de spermatozoïdes mobiles et normaux soit respectivement 0,3% et 0,7%, ($p < 0,001$). Irvine et *al.* (1996) ont rapporté dans une étude rétrospective de 577 de donneurs volontaires de sperme, en Ecosse, que 171 d'entre eux sont nés avant 1959, 120 entre 1960 et 1964, 171 entre 1965 et 1969 et 115 entre 1970 et 1974. La concentration médiane de sperme est tombée de 98x10⁶ parmi les donneurs nés avant 1959 à 78 x10⁶ chez les donneurs nés après 1970 ($p = 0,002$). Le nombre total de spermatozoïdes dans l'éjaculat a fortement diminué, il est passé de 301x10⁶ à 214x10⁶ ($P = 0,0005$), pareillement, le nombre total de spermatozoïdes mobiles a été significativement réduit de presque 6 fois, il est passé de 169,7x10⁶ à 29 x10⁶ ($p = 0,0065$).

Cette baisse de la qualité et de la quantité des caractéristiques des spermatozoïdes a été également rapportée chez les hommes féconds vivant en région parisienne entre 1973 et 1994. Auger et *al.* (1995) ont détecté une chute de la concentration des spermatozoïdes de l'ordre de 1,6 % par an en moyenne, le nombre total de spermatozoïdes dans l'éjaculat, meilleur reflet de la production testiculaire, avait diminué d'un tiers pendant la même période, aussi, le pourcentage de spermatozoïdes mobiles et morphologiquement normaux ont été significativement diminué. À l'inverse, dans une population de même type, une telle diminution séculaire n'était pas retrouvée dans le Sud de la France, mais, la production moyenne de spermatozoïdes était plus basse qu'à Paris mettant en évidence l'existence de différences régionales (Bujan et *al.*, 1996). Par ailleurs, Schwartz et *al.* (1983) rapportent dans une étude portée sur 833 hommes fertiles qu'il n'existe aucune relation entre les caractéristiques du sperme et l'âge sachant que le facteur de confusion la durée de l'abstinence a été éliminé. Ils ont trouvé une amélioration dans les caractéristiques du sperme jusqu'à l'âge de 25 ans, suivie d'une stabilisation puis une diminution subséquente.

La confrontation de plusieurs études et nos résultats concernant les variations séculaires de la qualité du sperme indique que des variations notables chez ces jeunes partenaires tendent vers le déclin des paramètres spermatiques. Cette variation concerne le volume, la motilité, la concentration et la morphologie normale de spermatozoïdes et indépendamment des facteurs génétiques ou ethniques. Ces variations pourraient aussi être liées avec un certain nombre de facteurs relatifs aux antécédents médicaux, au style de vie et à l'environnement général ou professionnel de ces hommes.

Dans notre étude, l'analyse des éjaculats de 188 patients par le spermogramme et le spermocytogramme a fait l'objet d'un contrôle de la qualité spermatique. Les méthodes d'analyses du sperme utilisées dans le laboratoire d'analyse médicale et de spermologie étaient standardisées. Les principaux facteurs susceptibles de biaiser les résultats comme l'âge ou le délai d'abstinence sexuelle précédant l'examen ont été pris en compte et éliminés. Une exploration adéquate des paramètres spermatiques a

permis de déceler des changements au niveau de la concentration des spermatozoïdes qui s'est révélée significativement basse (-3.43% par an), en revanche, le volume, la mobilité et le nombre des spermatozoïdes se sont avérés légèrement augmentés à Sidi-Bel-Abbès.

Plusieurs études fondées sur une méthodologie similaire ont été publiées. La majorité d'entre elles indique des différences géographiques de la production et de la qualité spermatique d'une part, et d'autres part la pollution de l'environnement et le contact avec différents produits chimiques des industries retrouvés dans l'air, le changement de climat (différence de température dans le monde) (Rolland et *al.*, 2005 et Swan et *al.*, 1997).

Des études épidémiologiques se sont attachées à mettre en évidence l'impact de facteurs environnementaux, la pollution et le changement climatique sur la concentration spermatique, avec parfois comme objectif affiché d'identifier celui susceptible d'expliquer une diminution de la médiane de la concentration spermatique d'environ 50 % en 50 ans. Les résultats les plus probants concernent les expositions professionnelles et notamment l'exposition au pesticide DBCP (dibromochloropropane), à des doses probablement élevées, dans les années 1970, qui s'est révélée susceptible d'accroître fortement le risque d'azoospermie (Whorton et *al.*, 1977 ; Whorton et Foliart, 1988 ; Jensen et *al.*, 2006), l'exposition professionnelle au plomb inorganique (Bonde et *al.*, 2002), à la chaleur, aux rayonnements ionisants ou à d'autres composés chimiques comme les éthers de glycol, le dibromure d'éthylène (autrefois utilisé comme additif dans l'essence et comme pesticide), le disulfide de carbone ou certains pesticides qui circulent dans l'air (Perry, 2008).

Rolland et *al.* (2005) ont montré dans une vaste étude française, portant sur plus de 26 000 sujets, une diminution de la concentration des spermatozoïdes. Cette baisse est interprétée par **le lien entre cette réduction des spermatozoïdes et l'environnement. Les perturbateurs endocriniens (PE) comme les parabènes, le Bisphénol A (BPA) ou les phtalates, pourraient être coupables.** La cause peut être aussi en relation avec la pollution, par migration des substances toxiques par le biais de l'eau et l'alimentation (migration de substances depuis l'emballage, contamination des sols de cultures, résidus hormonaux dans la viande), mais également l'air et les

cosmétiques, sont les principales sources d'exposition aux PE. L'organisme est exposé chaque jour durant toute la vie à ces contaminants, par inhalation, ingestion, ou contact. **C'est donc une exposition à long terme. Il a été rapporté par certains auteurs que** le maintien artificiellement en vie des testicules fœtaux d'origine humaine dans des boîtes de culture pendant 3 jours, en présence de BPA par rapport à ceux non exposés, entraîne une diminution de la sécrétion de la testostérone par **les fragments testiculaires de fœtus exposés, ainsi qu'une diminution d'une autre hormone testiculaire Dihydrotestostérone (DHT) nécessaire à la descente des testicules dans les bourses.**

Les phtalates (PVC) sont des substances chimiques rajoutées au polychlorure de vinyle lors de la fabrication d'objets en plastique, leur exposition peut être par inhalation, ingestion ou absorption cutanée. On les retrouve donc dans pratiquement tous les articles en PVC : ballons, nappes, tuyaux, rideaux de douche, emballages, cosmétiques, colles, matériel médical, mais aussi dans les jouets.

Une étude menée par une équipe de chercheurs de l'INSERM (2010) a démontré expérimentalement que les phtalates étaient délétères pour la mise en place du potentiel reproducteur masculin dans l'espèce humaine. Ces auteurs ont réussi à reproduire dans une boîte de culture le développement du testicule observé *in vivo*. Dans ce système, l'ajout de MEHP (Mono-Ethylhexyl-phtalate), le métabolite actif du DEHP (di-2-éthylhexyl-phtalate), le phtalate le plus fréquemment utilisé dans les articles en plastique, provoque au bout de 3 jours la disparition de 40% des cellules germinales fœtales.

Wolff et al. (2010) ont mené une étude auprès de 1100 petites filles âgées entre 6 et 8 ans, et ont montré que les phtalates seraient responsables de la puberté précoce. Deux analyses urinaires réalisées à un an d'intervalle ont révélé la présence de trois sortes de polluants chimiques présents dans l'environnement: des phénols, des phtalates, et des phytoestrogènes. Les chercheurs ont alors observé une association entre le taux de phtalates dans les urines et une puberté précoce chez ces petites filles.

Une autre étude concernant l'exposition aux Polychlorobiphényle (PCB) a montré que ces derniers pouvaient augmenter le temps pour tomber enceinte. Menée entre 2005 et 2009, l'étude a porté sur 501 couples participant à l'enquête LIFE

(Longitudinal Investigation of Fertility and the Environment) qui examinait la relation entre la fécondité et l'exposition aux produits chimiques environnementaux (*Buck Louis et al., 2012*).

Une autre étude récente réalisée par *Gaspari et al. (2012)* a suggéré qu'une exposition prénatale aux pesticides serait à l'origine de malformations génitales masculines externes. Cette étude a été menée pendant 2 ans au Brésil, pays dans lequel beaucoup d'habitants vivent dans des favelas dépourvues d'égoûts, où pullulent les insectes. Les insecticides sont donc utilisés massivement. Au total, 2710 garçons ont été examinés dans les 48 heures après leur naissance. Les scientifiques ont trouvé trois anomalies génitales : l'absence de descente des testicules dans les bourses (cryptorchidie 0.85%), la position anormale du méat urinaire (hypospadias 0.55%) et le micropénis 0.66% (défini comme de morphologie normale mais mesurant moins de 31 mm, par rapport à la moyenne qui est de 47 mm dans cette population). En parallèle, les chercheurs ont évalué l'exposition prénatale à l'aide d'un questionnaire adressé aux parents. Ils ont alors constaté que 92 % des garçons présentant une malformation génitale avaient subi une exposition durant la période fœtale.

De plus, 80 % des mères et 58 % des pères avaient eu une ou plusieurs activités professionnelles impliquant l'usage de pesticides ou d'autres perturbateurs endocriniens.

En 2013, l'Agence Européenne de l'Environnement (AEE) a rendu public un rapport mentionnant des cas pour lesquels **les signaux d'alarmes concernant les PE, mais, aussi de beaucoup d'autres polluants ont été ignorés, cachés ou relativisés, provoquant dans certain cas la mort, la maladie et la destruction de l'environnement.** Parmi ces études de cas, le rapport mentionne notamment les analyses de l'empoisonnement au mercure industriel, les problèmes de fertilité causés par les pesticides, les perturbateurs endocriniens présents dans les plastiques, et les produits pharmaceutiques modifiant les écosystèmes, par exemple : l'éthinylestradiol, cette hormone de synthèse utilisée dans les pilules contraceptives. Elle est suspectée de passer dans l'environnement par le biais des eaux usées depuis 1976. Au milieu des années 1980, son action sur la faune aquatique est avérée alors que ce n'est qu'en 2012,

près de trente ans plus tard, que Bruxelles décrète l'éthinylestradiol comme "substance prioritaire".

Dans la population générale, beaucoup de facteurs sont suspectés mais peu de facteurs ont été clairement identifiés; tels que le surpoids et le mode de vie malsain (Fizazi et *al.*, 2015), dont l'origine peut être alimentaire (Karmaus et *al.*, 2009). L'exposition au tabac durant la vie intra-utérine, qui a été associée à une diminution d'environ 20% de la concentration spermatique à l'âge adulte, par rapport à des hommes dont la mère ne fumait pas lorsqu'elle était enceinte (Jensen et *al.*, 2005 et Ramlau-Hansen et *al.*, 2007).

2) ETUDE 2 : Effet des facteurs environnementaux sur l'infertilité masculine

L'exploration de la stérilité du couple comporte plusieurs étapes successives, tenant compte des principales causes d'infertilité ou d'hypofertilité, aussi bien chez l'homme que chez la femme. Il est logique de commencer par l'étude des caractéristiques du sperme qui est le spermocytogramme. Cet examen est d'interprétation difficile, compte tenu de l'importante variabilité des paramètres. c'est dans cette optique que nous avons mené une étude prospective entre 2010 et 2012 sur 149 patients infertiles venant au service d'urologie du CHU de Sidi-Bel-Abbès pour explorer leurs problèmes d'infertilité qui par la suite ont été orientés vers un laboratoire d'Analyses Médicales spécialisé en Spermiologie.

Les objectifs de cette étude sont d'une part, d'évaluer la qualité des paramètres spermatiques (spermogramme, spermocytogramme et spermoculture) et d'autre part, de rechercher les causes impliquées dans cette infertilité. Pour l'étude prospective, le principal problème rencontré a été le manque de recueil d'informations chez le conjoint qui était souvent absent. Il convient de signaler à l'issue de notre étude prospective que plus de deux tiers des patients (69.12%) présentaient des anomalies spermatiques. Ce taux d'anomalies très élevé a été également retrouvé dans de nombreuses études comme celles rapportées par Ron-el et al. (2000) et Klipstein et al. (2005). Il faut noter aussi que le délai entre le recueil et le transport au laboratoire influe négativement sur certains paramètres du sperme en particulier la mobilité, c'est pour cela qu'il est impératif de respecter le délai de remise du recueil qui ne doit pas

dépasser les 30 minutes. En Algérie, pour des raisons culturelles et religieuses 60.4% des éjaculats ont été recueillis à domicile, Sachant que le recueil du liquide séminal à domicile ne garantit pas la qualité du prélèvement et les conditions d'acheminement. Geoffroy-siraudin et *al.* (2012) admettent qu'il existe une relation entre le délai de recueil de l'éjaculat et la fin de la préparation du sperme ainsi que l'insémination est en moyenne de 40,2 minutes. En effet, dans les cycles où le délai est supérieur à 40 minutes, les taux de grossesses sont de 20,3% contre 27,7 % lorsque ce dernier est inférieur à 40 minutes.

L'infertilité masculine est aussi influencé par un certain nombre de facteurs à savoir le pH du liquide séminal, le volume, l'âge, la situation socioéconomique, les antécédents médicaux...

En effet, l'alcalinité du pH peut être expliquée comme a été rapportée dans la littérature par une insuffisance prostatique ou par la présence d'infection, alors que l'acidité du pH est due à un dysfonctionnement vésiculaire séminal ou parfois à une collection incomplète du sperme (Okonofua et *al.*, 2003).

Le critère volume semble être un paramètre prédictif des problèmes de fertilité, l'hyperspermie pourrait être expliquée chez nos patients par la présence d'une infection des glandes annexes en particulier les vésicules séminales (FIVNAT, 2007). Par ailleurs, cette augmentation du volume spermatique peut aussi jouer un rôle dans l'infertilité, par dilution des spermatozoïdes et évacuation trop rapide du sperme lors de la relation sexuelle (Salman et *al.*, 2008). Quant à l'hypospermie, elle peut être la résultante d'un problème technique de recueil du sperme, ou la présence de la varicocèle, ou une agénésie des canaux déférents et des vésicules ou parfois une éjaculation rétrograde suspectée. Compte tenu de l'interaction entre le plasma séminal et les spermatozoïdes, on peut facilement imaginer un effet délétère sur la mobilité et sur le pouvoir fécondant chez ces patients (Charlier et *al.*, 2002 et Bouye et *al.*, 2014).

La présence d'agglutinations dans les spermés de nos patients sont le plus souvent associés à des cas de polyspermies (>250 millions/mL) comme il a été démontré par de nombreux chercheurs (Gunby et *al.*, 2008 et Augood et *al.*, 2010). Par ailleurs, ces agglutinations pourraient être dues à la présence des auto-anticorps séminaux dirigés et fixés sur le flagelle ayant pour conséquence la modification de

l'amplitude du battement flagellaire et donc sa progressivité. Ils sont plus fréquemment détectés dans la population masculine ayant des antécédents infectieux (Collet et *al.*, 1988). L'infertilité d'origine tubaire et ovarienne, qui représentait 7% des cas et relevait d'une indication absolue d'AMP, ont fait l'objet de traitements dont l'efficacité est limitée.

L'âge relativement jeune de nos patientes (âge moyen de 28.5 ans) ainsi que celui des conjoints (39.5 ans) est un élément de bon pronostic en matière de procréation assistée, mais, la plupart de nos patientes appartiennent à la catégorie socioprofessionnelle la plus défavorisée le faible revenu de ces patients pourrait expliquer le fort pourcentage de ces patients n'ayant pas pu bénéficier des traitements programmés à cause de leur coût exorbitant.

L'absence de spermatozoïdes vivants dans l'éjaculation, la présence de tératospermie et de formes immatures nous ont orientés vers la recherche d'un problème infectieux chez ces patients. Ces données sont concordantes avec la plupart des travaux rapportés par la littérature (Abarikwu et *al.*, (2013) ; Najafi et *al.*, (2015). Les patients présentant une azoospermie traités par des antibiotiques, par de l'arginine et par des anti-inflammatoires n'ont aboutis à aucun taux d'abandon élevé relevé dans notre étude (39.13%) s'explique non seulement par l'inaccessibilité financière à des traitements biologiques mais aussi par le découragement des couples face au manque de résultats obtenus avec les traitements classiques. Cependant, Ron-el et al. (2012) a montré que c'est la stérilité secondaire (54.20%) qui prime sur la stérilité primaire (45%). Ces taux élevés de stérilité primaire et/ou secondaire pourraient être expliqués du moins par l'étude de Najafi et *al.*, (2015) (66.8% de stérilité secondaire et 33.2% de stérilité primaire) par la recrudescence des infections sexuellement transmissibles dans la région de Bamako en Afrique. L'exploration endocrinienne effectuée par l'intermédiaire du dosage des hormones gonadotrophines (FSH et LH) avait but de préciser la nature de l'azoospermie et l'origine de l'anomalie oligospermique. L'augmentation de la FSH traduit un déficit ou une insuffisance des cellules de Sertoli qui permet d'évoquer une origine sécrétoire (azoospermie sécrétoire). Ces taux élevés de FSH ont pour conséquence la perturbation du cycle spermatogénique, dont les

causes sont dues aux antécédents médicaux à savoir : la chimiothérapie, l'irradiation et l'orchite (Charlier et *al.*, 2002).

Chez les azoospermiques, les valeurs normales de la FSH définissent de bonnes conditions de différenciation azoospermique ce qui traduit qu'elle est d'origine excrétoire. Dans notre série, deux cas d'azoospermie excrétoire seulement ont été détectés, le premier présentait un accident de voiture et le second confirmait que son cas est d'origine héréditaire, voire des antécédents d'infections non traitées. Cette situation est théoriquement possible, si le taux de la FSH est normal cela n'exclue pas la présence d'un trouble de la fonction testiculaire, expliquée parfois par des arrêts de maturation des spermatocytes au stade méiotique due à une obstruction ou une destruction des tubules séminifères. Okonofua, (2003) admet que ce n'est que lorsque la gamétogenèse est arrêtée avant le stade spermatide que la FSH plasmatique est élevée.

Les caractéristiques du sperme sont susceptibles d'être influencées par les conditions du recueil, le délai d'abstinence, et toute affection survenue dans les 3 mois précédant l'examen. Il apparaît, ainsi, hasardeux de tirer des conclusions définitives sur la base d'un seul examen et il est conseillé de le renouveler. Le spermogramme peut être complété par l'analyse fine des paramètres du mouvement spermatique. Une certaine relation entre les différentes anomalies des spermatozoïdes, les antécédents médicaux, le mode de vie, les facteurs professionnels et environnementaux rapportés par (Richard et *al.* 2002). Ces auteurs ont montré que le profil des anomalies morphologiques pourrait être la réponse du testicule face à une agression leucocytaire, une origine infectieuse ou également un stress telle que la présence de la varicocèle.

De plus Smith et Buyalos, (1996) ont démontré que la persistance d'un reste cytoplasmique au niveau de la pièce intermédiaire de spermatozoïde semble être en relation avec des altérations marquées de diverses fonctions spermatiques. Sa présence semble être la traduction cytoplasmique d'une peroxydation lipidique excessive qui est capable de générer des radicaux libres qui sont eux même aptes à provoquer une peroxydation lipidique spontanée. Gallardo et *al.* (1999), et Cornud et *al.* (1999) rapportent que les altérations du sperme, en particulier la diminution de la mobilité fléchante et du pourcentage de spermatozoïdes morphologiquement normaux sont plus

fréquentes dans la population masculine hypofertile. Sur le plan urogénital des antécédents de torsion ou traumatisme testiculaire multiplient par 5.4 le risque d'azoospermie sécrétoire chez les hommes inféconds primaires Tassi et *al.*,(2006). Lamarchea et *al.*,(2007) ont également montré que la présence d'une varicocèle augmente le risque d'oligoasthénospermie par 3.3 chez les inféconds secondaires.

Par ailleurs, de nombreux chercheurs ont démontré que la varicocèle est impliquée dans 35% de la stérilité masculine (Tassi et *al.*,2006). Le caractère inconstant de l'action nocive de la varicocèle sur la spermatogenèse a été notée, dans les troubles de l'érection et dans l'éjaculation rétrograde.

Des anomalies morphologiques des spermatozoïdes, une diminution du volume testiculaire et une dégradation de la fonction des cellules de Leydig a été constatée par Menezo, (2006). De nombreuses études, trouvant souvent des résultats contradictoires, admettent que cette image d'anomalies séminales qui apparaissent suite à une varicocèle n'est pas spécifique et peut s'observer au cours d'infections bactériennes ou virales, de réactions allergiques, après une prise de certains composés antispermatogéniques ou après traumatisme, sauf dans le cas de stress, elle est transitoire (Botchan et *al.*, 2001 et Lelannou, 2002). La survenue des oreillons à répétition avant la puberté est considérée comme une cause majeure des problèmes de conception. Nos résultats montrent qu'environ 25% des hommes ayant contracté les oreillons avant et après leur puberté deviennent infertiles. Son atteinte s'annonce vers une atrophie testiculaire, une reprise de la fièvre et un traumatisme du scrotum ce qui provoque une diminution de la production spermatique aboutissant à une stérilité (Paulson, et *al.*,2001). Les maladies associées, tel que le diabète sucré peut également avoir des effets délétères sur la fertilité. Klonoff-cohen et Natarajan,(2004) observent chez 28% des patients diabétiques une anomalie du sperme provoquée par des troubles sexuels de type impuissance liée à un problème vasculaire ou neurologique. De même, pour le cas d'insuffisance rénale chronique, elle est à l'origine d'un dysfonctionnement sexuel, ce qui aboutit à une diminution de la qualité de la vie relationnelle du couple. Dans les insuffisances rénales, le taux de testostérone libre bas stimule l'augmentation du taux de LH et de FSH entraînant la diminution de la spermatogenèse.

Lorsque le taux de la prolactine est élevé à cause de la diminution de son élimination rénale ceci influence directement les modifications hormonales de l'urémie et est responsable de la gynécomastie, qui est généralement retrouvée dans 2 à 5% des cas d'infertilité masculine (Guerin et *al.*, 2005).

La prise de certains médicaments neuroleptiques et antidépresseurs chez les épileptiques et ceux présentant une anorexie mentale est à l'origine de tous problèmes d'infertilité masculine qui peuvent provenir d'une libération défectueuse du sperme dans les voies génitales féminines, situation pouvant être due entre autre à l'impuissance, l'éjaculation précoce et des problèmes de la libido parfois liés à des troubles endocriniens (Rossin, 2006 ; Herbemont et Sifer, 2015). Aussi, il a été rapporté que l'intervention chirurgicale dans la région du pelvis (hernie, appendicectomie) entraîne des problèmes d'infertilité masculine (Collet et *al.*, 1988). On remarque qu'il existe une certaine concordance entre nos résultats et ceux de Ferrara et *al.*, (2002) qui ont trouvé environ 39 % de spermogrammes normaux et 17% d'asthénospermie. Par ailleurs, Ron-el et *al.* (2000) a démontré que chez 335 patients, 23.5% présentaient une oligospermie et 55.9% une oligoasthénospermie par rapport à nos résultats. Ces anomalies sont rattachées par la plupart des auteurs à une infection génitale, la varicocèle et le vieillissement paternel.

Il faut noter, dans notre série nous signalons que la plupart de nos patients (41%) prenaient un traitement à base d'androgène (Andriol), qui est connu pour son effet délétère sur la spermatogenèse, ces androgènes sont à l'origine d'une chute progressive du pourcentage des gamètes, de la morphologie et de la mobilité normale à partir de 35 ans (Byrd et *al.*, 1994). Pour cela la fertilité antérieure ne permet pas de préjuger sur la fertilité du moment et que la fréquence des anomalies et du vieillissement paternel jouent un rôle important dans ce problème d'infertilité (Belaisch-allart., 2001 et Ronel et *al.*, 2002).

Un autre élément affectant le processus à prendre en considération est l'effet de la chimiothérapie sur la fonction de la reproduction mâle en particulier sur l'altération quantitative et qualitative des cellules germinales, des gamètes produits et des cellules de Leydig. L'altération de ces derniers est en fonction de l'âge, en effet, si la

chimiothérapie a débuté à l'âge prépubère, cela entrainera un taux de stérilité élevé (Okonofua, 2003).

Le tabagisme a été aussi incriminé dans l'altération de la fertilité, en effet, certains auteurs ont montré que la consommation du tabac a des effets pernicioeux sur la fertilité humaine notamment sur les spermatozoïdes (Paulson et *al.* 2001). Ces études suggèrent que le tabagisme actif serait intimement lié à un stress oxydatif issu d'une peroxydation lipidique accrue qui serait responsable d'anomalies spermatiques dues aux altérations de l'ADN par oxydation de la guanine. L'augmentation de cette peroxydation lipidique peut expliquer le pourcentage très faible des formes fléchantes de la mobilité spermatique et une altération de la membrane et de la morphologie de la pièce intermédiaire. Par ailleurs, une atteinte de la numération spermatique a été rapportée chez les hommes fumeurs présente souvent une oligospermie, une anomalie qui traduit dans la majorité des cas une souffrance de l'épithélium sertolien causée par une altération de l'ADN due aux radicaux libres, et par une augmentation de l'apoptose des cellules germinales conduisant ainsi à une diminution de la numération spermatique. Par ailleurs, comme il a été rapporté par Freour et *al.* (2011) la consommation de certaines drogues comme le cannabis (molécule de marijuana) a un effet délétère sur la capacité de fécondation de l'ovule par les spermatozoïdes à cause d'une forte concentration du THC (Tetrahydrocannabinol) dans les spermatozoïdes lorsqu'elle est fortement consommée.

De même, la consommation en excès d'alcool présente des effets néfastes sur la fertilité masculine et semble réduire la libido et donc la fréquence des rapports sexuels pour l'homme, ce qui allonge notablement le délai de conception du couple (Giacomini et *al.*, 2015). A cet effet, Devi et *al.*,2015) ont démontré que dans le cas de cirrhose, il y a une chute de la numération et de la mobilité des spermatozoïdes, cette cirrhose hépatique pourrait entraîner des mutations dans l'ADN du spermatozoïde, lesquelles s'expriment chez la descendance.

D'autres facteurs comme la température ne devraient pas être ignorés, puisque l'exposition à une température élevée ralentit la spermatogenèse (Fauque et *al.*, 2014 et Giacomini et *al.* 2015). En effet, 3.35% des patients en raison de leur travail au Sahara et de leur mode de vie présentent épisodiquement des températures proches ou

supérieures à 40°C et 5.37% des boulangers exposés quotidiennement à une température élevée affectant leur fertilité (Paulson et *al.*, 2001).

Ainsi, autre étude française menée par Matorras et *al.*(2006) rapportent que pratiquement toute augmentation de la température scrotale provoque des altérations de la spermatogenèse qui se manifeste par une chute importante de la production spermatique et présentant des anomalies morphologiques.

Au cours de ces dernières décennies, le facteur stress et chaleur semblent jouer un rôle déterminant dans la baisse de la fertilité masculine. Dans notre étude, 37.58% de nos patients, ils ont avoué être très stressés à cause de leur instabilité professionnelle sont des militaires. De même, plus d'un tiers de notre série (30.20%) exercent une activité chauffeurs de taxi, qui en raison de leur position assise pendant de longues périodes augmente la température scrotale ce qui diminue considérablement la qualité des spermatozoïdes. De même, en raison de certaines conditions de travail défavorables, certains patients (16.8%) dont 6.72% agriculteurs et 10.06% plombiers ayant exercé ces activités depuis longtemps présentent une baisse de fertilité (oligospermie) car ils sont en contact permanent avec des métaux lourds (plomb, mercure) ou des pesticides. Ces produits entraînent des anomalies de la morphologie spermatique telles que la macrocéphalie et une diminution de la mobilité des spermatozoïdes ce qui allonge le délai de conception (Fauque et *al.*,(2014) ; Devi et *al.*,(2015)).

De même, le contact avec les rayons ionisants affecte le processus de la spermatogenèse en effet, les infirmiers ayant des activités de manipulation en radiologie présentent des problèmes d'infertilité et cela à cause des rayons X, qui sont connus pour leurs effets délétères sur la spermatogenèse entraînant une stérilité temporaire (azoospermie temporaire) si la dose est comprise entre 2 et 6 Gy. Diao et *al.* (2006) rapportent que cette azoospermie devient définitive si la dose est supérieure à 8Gy.

Par ailleurs, Il a été rapporté également par certaines études que la fertilité masculine est l'une des principales fonctions vitales mises en péril par les téléphones portables (Folligan et *al.* (2011) ; Zhang et *al.* (2013)). Cette étude publiée dans le journal britannique en 2004 (ESHRE) précise que l'usage du téléphone portable peut

réduire le nombre de spermatozoïdes dont la concentration diminue environ de 29% (83 M/mL à 59 M/mL) pour ceux qui gardent le portable accroché à la ceinture.

L'infection aiguë a été aussi incriminée dans les problèmes d'infertilité en effet, elle agit sur la fécondance du sperme par la modification de la composition du plasma séminal favorisée par les germes, les leucocytes et/ou les anticorps antispermatozoïdes et enfin, par des lésions épithéliales qu'elle provoque (Picard-Hagen et *al.*, 2015). Ces lésions modifient la sécrétion et la réabsorption liquidienne entraînant des oligozoospermies sévères qui sont rarement compensées par une multiplication cellulaire réparatrice. De plus, il est connu que tout processus inflammatoire chronique généré par les toxines bactériennes entraîne des scléroses des voies génitales avec obstruction canalaire secondaire diminuant le nombre, la mobilité et la vitalité des spermatozoïdes dans l'éjaculat (oligoasténozoospermie et nécrozoospermie) (Mahon et Cotter, 2014 et Niederberger et *al.*, 2015).

3) ETUDE 3 : Prise en charge des couples infertiles : Comparaison du taux de succès de l'insémination artificielle avec sperme du conjoint (IAC) cas de la population Algérienne et Hollandaise

Pour étudier le taux de succès de l'insémination intra-utérine chez les couples infertiles Algériens et Hollandais, nous avons réalisé entre 2010 et 2012 une étude prospective et rétrospective comparative de ces deux populations sur le taux de succès de l'IAC. Nous avons tenté de montrer l'importance pronostique de l'IAC à l'égard du succès de l'IAC, d'analyser quelles sont les raisons de la demande tardive de la prise en charge et enfin, de former un modèle de réussite à partir duquel les résultats de la suite des cycles pourraient être prédits avec plus de précision qu'auparavant. L'exploration de l'infertilité de ces couples s'est basée sur l'analyse de quatre critères indispensables : le nombre de follicules, le diamètre folliculaire (>18mm), la durée de l'infertilité et l'évaluation des caractéristiques du sperme (la motilité progressive et le nombre des spermatozoïdes). Le but principal de notre étude était de déterminer l'efficacité de la prise en charge des couples en IAC, associant des cycles spontanés à des cycles stimulés par citrate de clomifène et une préparation du sperme par la technique Swim-Up (migration ascendante sur un milieu Sil-Select Plus) et gradient de densité. Les résultats de notre investigation a montré que plus de deux tiers des

couples Néerlandais et Algériens souffraient d'une stérilité primaire (67.20% versus 64.23%) et que l'âge moyen des patientes était similaire (31.9 ± 3.9 ans). Plus de soixante-cinq pourcent (65.57%) des patients Néerlandais ont fait leur recueil au laboratoire, alors que 61% des prélèvements spermatiques sont faits à domicile chez les patients algériens. Il faut noter que le prélèvement à domicile ne garantit pas la qualité du recueil ni les conditions d'acheminement. Le délai moyen préconisé entre la fin de la préparation du sperme et l'insémination ne doit pas dépasser pas les 40.2 minutes. En effet, Geoffroy-Siraudin et *al.* (2012) admettent qu'il existe une différence significative entre les cycles ayant donné (37,6 minutes) ou pas une grossesse (40,3 minutes) ($p < 0,05$). Dans les cycles où le délai est supérieur à 40 minutes, le taux de grossesse était de 20,3 % alors qu'il est plus élevé (27,7 %) lorsque ce délai est inférieur à 40 minutes. Il est à noter que parmi les couples infertiles Néerlandais, 27.04% avaient des conjointes ayant déjà obtenu une grossesse avec d'autres partenaires. Les résultats de l'analyse de la numération des spermatozoïdes montrent une grande similitude entre les hommes Néerlandais et Algériens à savoir 32% des patients présentaient une asthénospermie et 10% une oligoasthénospermie. Cette dernière anomalie a été également rapportée par les chercheurs Néerlandais dans le Sud de la Hollande par Donckers et *al.* (2011) entre 2001 et 2003 qui ont montré la présence de taux élevé de protéines carbonylées (marqueurs d'oxydation protéique) dans le liquide séminal de ces patients. Ces taux élevés de protéines sont positivement corrélés à des anomalies acrosomiales des spermatozoïdes. Concernant l'étude du taux de succès de grossesse par cycle chez les patients Néerlandais, les résultats montrent que 27.45% de grossesses cliniques ont été obtenues contre 42.62% d'échec de grossesse, 5.71% de fausses couches spontanées, 2.85% grossesses extra-utérine et 4.28% interruptions médicales de grossesses. Aucune différence significative entre cycle spontané et stimulé n'a été trouvée, le taux de grossesse par cycle stimulé est de 28.57% et cycle spontané est de 26.08% ($p > 0.05$). Par ailleurs, les taux de succès sont deux fois plus importants au Pays-Bas par rapport à ceux rapportés en France en 2002 par l'équipe Ferrara et *al.* (2002) (28,57 % versus 13%). En Algérie, le taux de grossesse par cycle stimulé est significativement plus important (24.61%) par rapport au cycle spontané (19.71%) ($p < 0.05$). Ces résultats sont sensiblement bas par rapport à

ceux obtenus aux Pays-Bas. Ces données indiquent une certaine vision inquiétante de la réalité du problème économique particulièrement alarmant en Algérie dans le domaine de la santé. Ces taux faibles de grossesses sont vraisemblablement liées à des anomalies des caractéristiques du spermogramme chez les patients Algériens: en particulier le pH acide (<7.2) (82%) élevé qui est le reflet d'un défaut de sécrétions prostatiques.

La viscosité prend elle aussi sa place dans la détermination de l'échec des chances de grossesse car 83% des patients algériens ont une viscosité anormale, ce qui explique une liquéfaction incomplète par une insuffisance prostatique. Ikechebelu et *al.* (2007) ont fait une méta-analyse de 70 études et ont abouti à des conclusions en faveur de l'IUI associée à la stimulation de l'ovulation. Les taux de succès en cycle spontané rapportés sont 21 % en cas d'IUI versus 35.4 % après induction par citrate de clomifène. En effet, le taux de succès est assuré lorsque le nombre de spermatozoïdes inséminés est supérieur à $1.5 \times 10^6/\text{mL}$. Nos résultats corroborent avec ceux de ces chercheurs (Ikechebelu et *al.* (2007) et confirment que la motilité progressive et le nombre de spermatozoïdes dans l'inséminât représentent les deux valeurs pronostiques de succès de l'insémination.

Les indications du recours à l'insémination artificielle dans notre série sont globalement similaires à celles rapportées dans le bilan annuel de la fédération française des CECOS (2012). La présence d'un facteur ovulatoire féminin d'infertilité modifie dans notre série la réussite et la prise en charge des couples en IAC.

Aussi, l'étude de l'influence de certains facteurs de risques toxiques tels que (alcool, tabac), médicaux (infections, troubles ovulatoires) et psychiques (stress et dépression) nous a permis de révéler une prédominance du tabagisme chez 32.78% des patients. Freour et *al.* (2011) ont rapporté dans leur étude que les substances comme la cotinine (métabolite de la nicotine) ou le cadmium franchissent la barrière hémotesticulaire et sont retrouvées dans le plasma séminal des fumeurs à des taux proportionnels aux taux sériques et ont tendance à provoquer une diminution de la numération des spermatozoïdes en relation avec une atrophie testiculaire et une altération de la spermatogenèse.

Les résultats rapportant 52 grossesses non évolutives suite à des antécédents d'endométriose (3.27%) chez les patientes Hollandaises et (11%) chez la population Algérienne concordent avec ceux de Dogan et *al.* (2015) qui ont précédemment signalé un taux de grossesse de 50 % inférieur chez les patientes souffrant d'endométriose par rapport à l'infertilité idiopathique chez les patientes traitées avec IAC seul. Bodri et *al.* (2015) ont démontré que la vitesse de disparition des ovocytes varie d'une femme à l'autre mais, elle s'accélère à partir de 38 ans, ces résultats corroborent avec nos résultats obtenus en IIU qui confirment qu'à partir de 39 ans le taux de grossesse chute et atteint 11,11%. Notre étude a montré que les taux de grossesses varient de façon significative en fonction du nombre de spermatozoïdes progressifs inséminés mais pas en fonction de l'âge des conjoints infertiles.

Ce qu'on peut dire que la diminution du taux de grossesse est en fonction de l'âge mais aussi en fonction de certains facteurs perturbateurs externes de l'infertilité, telle qu'une alimentation déséquilibrée et déficiente en certaines vitamines (vitamine E et D). Cette déficience en ces vitamines a été rapportée également en 2012 par une équipe de l'université de Milan en Italie (Alessio, 2015).

Par ailleurs, Paffoni et *al.* (2014) qui ont prouvé que le déficit en vitamine D peut affecter la fertilité chez les mammifères, mais les données sur l'humain sont moins convaincantes, rares et contradictoires, en particulier concernant la FIV. Sur ce point, Paffoni et ces collaborateurs (2014) ont recherché le déficit en 25-hydroxy-vitamine D [25 (OH) D] sérique (<20ng/mL). L'analyse du dosage sanguin de 25 (OH) D a été réalisé chez 154 femmes dont le taux est compris <20 ng/mL et 181 > 20 ng/mL montre que le taux de grossesse respectivement de 20% et 31%.

Notre étude antérieure a rapporté que la surcharge pondérale et certains facteurs toxiques (tabagisme, infections urogénitales, le varicocèle) et le style de vie incertain affectent énormément la fertilité masculine et concerne principalement le groupe d'âge avancé des hommes de plus de 35 ans (Fizazi et *al.* 2015).

Aussi, parmi les clés de succès de l'insémination artificielle du conjoint est la fréquence des rapports coïtaux tous les 2 ou 3 jours par semaines pendant la période de l'ovulation. Nos résultats indiquent que 65.57% de nos patients optent pour un rapport

sexuel tous les 2 à 3 jours plus tout en prenant en compte que la femme ne doit pas avoir une certaine anxiété ou un stress.

Sur le plan pratique, notre étude montre que la technique de centrifugation sur gradient de densité donne des résultats satisfaisants (27 %). Elle pourrait être d'utilisation plus simple que de la technique mini Swim-up (24. %). pour certains laboratoires.

Certaines études de la littérature mettent en évidence un impact plus ou moins positif de l'IAC sur les taux de grossesses en fonction de l'étiologie de l'infertilité. La majorité de ces études en cas d'infertilité inexplicée rapporte la supériorité des inséminations intra-utérines sur les rapports sexuels programmés, que ce soit en cycle stimulé ou en cycle naturel.

La méta-analyse de Hughes et *al.* portant sur 5214 cycles, chez des femmes présentant une infertilité idiopathique, retrouve un ratio de 2,37 (intervalle de confiance 95% [1,43 -3,90]) en faveur de l'insémination intra-utérine en cas de cycle stimulé. La méta-analyse de Zeyneloglu et *al.* (1998), réalisée également chez des patientes présentant une infertilité inexplicée, met également en évidence cette supériorité avec un ratio égal à 1,84 (intervalle de confiance 95% [1,30 - 2,62]). Guzick et *al.*(1998) aboutissent à des conclusions identiques.

Dans notre étude, les patientes présentant un test de Hühner négatif sans aucune autre étiologie apparente d'infertilité ont été analysées dans le groupe « idiopathique » et ont été prises en charge en IAC. Parmi les 27 patientes Algériennes dont (19) et Néerlandaises (8) considérées comme présentant une infertilité idiopathique dans le groupe IAC, 26 présentent un test post-coïtal négatif et une seule patiente Néerlandaise présente un test positif. L'intérêt du test de Hühner est controversé, la littérature anglo-saxonne le considère comme désuet. Ses performances sont médiocres avec une sensibilité selon les études de 0,09 à 0,71, une faible spécificité (0,62 à 1), une mauvaise valeur prédictive positive (0,56 à 1), ainsi qu'une valeur prédictive négative peu intéressante (0,25 à 0,75).

Six études rapportées dans la littérature sur les IAC réalisées en cycles naturels, deux concluent à un effet bénéfique de l'insémination intra-utérine (Check et *al.*1995 ; Kirby et *al.*1991) alors que Glazener et *al.*(1987), Friedman et *al.* (1991) et une étude

plus récente Scholten et *al.* (2012) ne retrouvent pas cet effet positif. Une méta-analyse effectuée en 2006 s'est intéressée à analyser l'intérêt d'une insémination intra-utérine en cycle stimulé ou naturel en cas d'anomalie de la glaire cervicale et de délai d'infertilité supérieur à un an.

D'autres auteurs Helmerhorst et *al.* (2006) ont conclu à l'absence d'évidence d'efficacité de l'IAC en cas d'infertilité cervicale et aux faibles propriétés diagnostiques et pronostiques attribuées au test de Hühner.

Abu Hashim et *al.* (2011) dans une étude randomisée, incluant 525 cycles de traitements d'induction de l'ovulation par Citrate de Clomifène suivie d'IAC, chez des patientes âgées de plus de 18 ans mais de moins de 38 ans, présentant un syndrome des ovaires polykystiques, un IMC < 30kg/m² et, montrent que les résultats en terme de grossesses ne sont pas significativement différents entre les deux groupes de patientes.

Dans notre étude l'analyse univariée chez les deux groupes Algérien et Hollandais a permis de déterminer les caractéristiques liées à la patiente pouvant avoir un impact sur les taux de grossesses évolutives dans les deux populations. Cependant, l'âge ($p=0.0192$), le délai d'infertilité ($p=0.0232$), l'origine de l'infertilité ($p=0.0014$), la taille et le nombre des follicules matures ($p=0.0125$), ont été observés dans notre étude comme un meilleur pronostic de chance d'obtenir une grossesse en cas de troubles ovulatoires.

Dans notre étude, l'analyse comparative des taux de grossesses évolutives en cas de trouble ovulatoire entre les deux populations montre que 44 grossesses ont été obtenues dans le groupe IAC chez les patientes Algériennes et 70 grossesses dans le groupe des femmes Hollandaises. Le taux de grossesses chez les couples infertiles augmente à partir du 3^{ème} ou 4^{ème} cycle de traitement aussi bien chez les Algériennes que les Hollandaises puis, il commence à chuter légèrement à partir du 5^{ème} cycle de traitement chez le groupe Néerlandais, alors qu'il reste stable chez le groupe Algérien.

L'endométriose touche 3.27% des femmes Néerlandaises infertiles. Le choix optimal de la prise en charge de cette pathologie est encore mal défini. Les traitements médicaux de l'endométriose n'apportent aucun bénéfice dans le traitement des femmes infertiles. Ozkan *et al.* (2008) indiquent que dans l'endométriose légère à modérée

avec des trompes perméables, une stimulation de l'ovulation associée à une insémination intra-utérine (IIU) après chirurgie semble licite à proposer.

La place de l'insémination artificielle avec sperme du conjoint (IAC) en cas d'insuffisance ovarienne prématurée a également été peu étudiée. La pratique d'insémination intra-utérine en présence d'une insuffisance ovarienne prématurée peut se concevoir si le bilan de réserve ovarienne est limité à condition que la patiente soit jeune et que le délai d'infertilité soit court, sinon un essai en fécondation *in vitro* doit être proposé d'emblée. Souter et *al.* (2014) rapportent chez des femmes de moins de 35 ans présentant une augmentation de la FSH en début de cycle et prises en charge en insémination intra-utérine, des taux de grossesses comparables aux femmes de même âge dont la FSH est normale, mais avec une augmentation importante des doses totales utilisées de traitements inducteurs de l'ovulation.

Dans notre étude, les caractéristiques cliniques et biologiques des patientes sont assez comparables dans les deux groupes. L'âge, le type d'infertilité de la femme, la consommation de tabac (actif ou passif), le nombre de cycles conduits, sont comparables. Les patientes de notre série sont assez jeunes, la majorité d'entre elles a moins de 35 ans et la classe 30-32 ans est celle qui regroupe le plus de patientes.

L'étude des facteurs pronostics liés aux facteurs cliniques et biologiques et aux cycles de traitement permettant l'obtention de grossesses évolutives ont été analysés. Tout d'abord, nous nous sommes intéressés à l'impact des différentes caractéristiques environnementales, cliniques et biologiques sur la femme. Les différentes études de la littérature médicale sur les facteurs pronostics d'obtention de grossesses en cas d'insémination intra-utérine retrouvés sont unanimes et sont : la pratique d'une induction de l'ovulation (Ghesquiere et *al.*, 2007) en particulier par Citrate de Clomifene (Cantineau et *al.*, 2011), le nombre de follicules recrutés (Dinelli et *al.* 2014), l'âge de la femme < à 36 ans (Almeida et *al.* (2011) ; Ashrafi et *al.* (2013), le rang de la stimulation (Soria et *al.*, 2012), la Concentration, la qualité et le nombre de spermatozoïdes (Dinelli et *al.*, 2014) et Yousefi et *al.*, 2011), les étiologies d'infertilité (meilleure en situation de troubles ovulatoires (Ashrafi et *al.*, 2013), le délai d'infertilité (Almeida et *al.*, 2011), le rapport LH/FSH > 1 (Yavuz et *al.*, 2013). En

revanche, une chute des taux de grossesses est observée dans les groupes à partir de 36 ans.

Dans tous les cas, une taille de follicules comprise entre 16 et 18 mm en stimulation folliculaire est associée à de meilleurs taux de grossesses que pour des follicules de tailles inférieures. Check *et al.* (2013) se sont intéressés aux femmes âgées de moins de 37 ans dont le taux plasmatique de FSH en début de cycle est >15UI/l et qui sont prises en charge en dehors de fécondation *in vitro*. Ces femmes ont trois fois moins de chance de concevoir que celles qui présentent une réserve ovarienne normale.

De plus, l'induction de l'ovulation doit être induite pas les gonadotrophines. Le délai d'infertilité et l'âge des patientes doivent faire remettre en question cette prise en charge, en cas de délai d'infertilité supérieur à 2 ans et d'âge limite (surtout après 36 ans), une prise en charge en fécondation *in vitro* d'emblée devrait être aussi proposée.

Conclusion

Références
Bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Abarikwu SO. (2013) Causes and risk factors for male-factor infertility in Nigeria. *Afr J Reprod Health*, (4):150-166.
- Abu Hashim H., Ombar O. and Abd Elaal I. (2011) Intrauterine insemination versus timed intercourse with clomiphene citrate in polycystic ovary syndrome: a randomized controlled trial. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 90(4):344-350.
- Adesokan A. A., Akanji M. A. and Yakubu M. T. (2007) Antibacterial potentials of aqueous extract of enantia chlorantha stem bark. *African journal of biotechnology*,6 (22) :2502-2505.
- Almeida JP., Pinelo S., Serra H., and al. (2011) Controlled ovarian stimulation and intrauterine insemination: an actual therapy? *Rev Bras Ginecol Obstet*, 33(11):341-347.
- Al-Moushaly A. (2013) Recent acquisitions in the medical treatment of infertility caused by ChlamydiaTrachomatis. *J Med Life*, 15(2):168-170.
- Alvarez C., Castilla J.A., Martinez L and al. (2003) **Biological variation of seminal parameters in healthy subjects.** *Hum Reprod*, 18(10):2082-2088.
- Alvin P., Calvez M. et al. (2005) Les problèmes courants liés à la vie sexuelle. *Péditrie*, Vol. 8, 2-5.
- Andersen AG., Jensen TK. and al. (2000) High frequency of sub-optimal semen quality in an unselected population of young men. *Human Reproduction*, 15:366-372.
- Ashrafi M., Rashidi M., Ghasemi A and al. (2013) The role of infertility etiology in success rate of intrauterine insemination cycles: an evaluation of predictive factors for pregnancy rate. *Int J Fertil Steril*,7(2):100-107.
- Ashford K., Wiggins A., Butler K., Ickes M., Rayens MK., and Hahn E. (2016) e-Cigarette Use and Perceived Harm Among Women of Childbearing Age Who Reported Tobacco Use During the Past Year. *Nurs Res*, 65(5):408-414.
- Auger J, Kunstmann JM, Czyglik F and Jouannet P. (1995) Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *N Engl J Med*, 332 : 281-285.
- Auger J. and Jouannet P. (1997) Evidence for regional differences of semen quality among fertile french men. *Hum Reprod*, 12: 740–745.

- **Auger J., Eustache F., and al.** (2001) Sperm morphological defects related to environment, lifestyle and medical history of 1001 male partners of pregnant women from four European cities. *Hum Reprod*, 12: 2710-2717.
- Aitken RJ., Clarkson JS. and Fishel S. (1989) Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation, and human sperm function. *Biol Reprod*, 40:183-197.
- Aitken RJ., Krausz C. and Buckingham D. (1994) Relationships between biochemical markers for residual sperm cytoplasm, reactive oxygen species generation, and the presence of leukocytes and precursor germ cells in human sperm suspensions. *Mol Reprod Dev*, 39: 268-279.
- Augood C., Duckitt K. and Templeton A.A. (2010) smoking and female infertility: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod*,(13):1532-1539.
- Aubard Y., Oktay K., Newton H et al. (2002) Cryoconservation of immature human oocytes and ovarian tissue: an emerging technology? *Fertil Steril*, 69:1-6.
- Azzoug S. Histoire de l'AMP en Algerie. Journal infoSoir, 04/12/2007.

B

- Barrière P., Freour T., Jean M. and al. (2004) Predictive value of CASA parameters in IUI with frozen donor sperm. *Int J Androl*, 32(5): 498-504.
- Bartoov B., Berkovitz A., and Eltes F. (2001) Selection of spermatozoa with normal nuclei to improve the pregnancy rate with intra cytoplasmic sperm injection. *J Med*, 12: 1067-1068.
- Bartoov B., Berkovitz A., Eltes F., Kogosovski A., Menezo Y., and Barak I. (2002) Real time fine morphology of motile human sperm cells is associated with FIV-ICSI. *J Androl*, 23: 1-8.
- Bateman S. (2011) Le principe de l'anonymat du don de sperme : remarques sur son histoire et son application. *Basic Clin Androl*, 21(3):192-198.
- Bayle B. (2003) L'embryon sur le divan: psychopathologie de la conception humaine. Paris, Masson, 58-66.
- Bayer SR., Seibel MM., Saffan DS. and al. (1988) Efficacy of danazol treatment for endometriosis in infertile women : a prospective randomized study. *J Reprod Med*, 33: 179-183.
- Birdsall M., Peek J., Valiapan S., Birdsall M., Peek J. and Valiapan S. (2015) Sperm quality in New Zealand: Is the downward trend continuing ? *Read the Journal*, 128 : 1416-1423.

- Benninghoff A et Drenckhahn D. (2008) Spermatogenese. Paris, Masson, 410-421.
- Benachour D. Le taux d'infertilité en Algérie à 15%, Journal L'expression, 30/04/2012.
- Belaisch-allart J. Insemination intra-utérine ou fécondation *in vitro*. (2001) Pourquoi choisir l'insémination en premier dans la plupart des situations. *Gynecol Obstet Fertil*, (29) : 567-568.
- Bommas-Ebert U., Teubner P., Voss R. et al. (2008) Partie spongieuse de l'urètre Gland et du pénis. Paris, Masson, 502-510.
- Boucher D., Bourrouillou G., Seifer I., Fellous M., Mc Elreavey K., and Dadoune JP. (1995) Sex chromosome mosaicism in males carrying Y chromosome long arm deletions. *Human Reproduction*, 12: 30-74.
- Bouye S., Marcelli F., Ghoneim T., lemaitre L. et al. (2014) Andrological description of a population of azoospermic men with agenesis of the vas deferens. *Prog urol*, 24(2):132-137.
- Boussouar F. and Benahmed M. (2004) Lactate and energy metabolism in male germ cells. *Trends Endocrinol Metab*, 15: 345-350.
- Bouye S., Marcelli F., Ghoneim T., lemaitre L. et al. (2014) Andrological description of a population of azoospermic men with agenesis of the vas deferens. *Prog Urol*, 24 (2):132-137.
- Botchan A., Hauser R., Gamzu R., Yogev L. and Yavetz H. (2001) Results of 6139 artificial insemination cycles with donor spermatozoa. *Hum Reprod*, 16:2298-2304.
- Brunner LS., Smeltzer SC., Suddarth DS., et Bare B. (2004) Tumeurs hypophysaires. Paris, Masson, p.310-315.
- Buvat J., Maggi M., Gooren L. and al. (2010) Endocrine aspects of male sexual dysfunctions. *J Sex Med*, 7:1627-1656.
- Buvat J., Buvat-Herbaut M., Marcolin G., Guittard L. et al. (1990) Hypofertilité masculine. Comparaison randomisée insémination intra-utérine versus rapport sexuel programmé après super-ovulation de la femme. *Contracept. Fertil.Sex.*, 18 : 435-438.
- Bujan L, Mansat A, Pontonnier F and Miusset R. (1996) Time series analysis of sperm concentration in fertile men in Toulouse, France between 1977 and 1992. *BMJ* 312:471-472.
- Bienvenu P., Garcia G., Chevallier D., et al. (1999) Stérilité du couple à définition masculine par azoospermie et fécondation *in vitro* assistée par micro-injection

(F.I.V.-I.C.S.I.). Réflexions à partir d'une étude prospective portant sur nos 42 premiers patients. *Prog Urol*, 4:425-429.

- Binder N.K., Sheedy J.R., Hannan N.J. and Gardner D.K. (2015) *Male obesity is associated with changed spermatozoa Cox4i1 mRNA level and altered seminal vesicle fluid composition in a mouse model. Mol. Hum. Reprod.*, 21:424-434.
- Blondel B., Supernant K., Du Mazaubrun C and Bréart G. (2008) Trends in perinatal health in metropolitan France between 1995 and 2003: results from the National Perinatal Surveys. *J Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.*,35(4):373-387.
- Bromfield J.J., Schjenken J.E., Chin P.Y., and al. (2014) *Maternal tract factors contribute to paternal seminal fluid impact on metabolic phenotype in offspring. Proc. Natl. Acad. Sci*, 111:2200-2205.
- Botchan A., Hauser R., Gamzu R., Yoge V and Yavetz H. (2001) Results of 6139 artificial insemination cycles with donor spermatozoa. *Hum reprod* 16: 2298-2304.
- Brake A. and Krause W.(1992) Decreasing quality of semen. *BMJ* 305:1498.
- Byrd W., Bradshaw K., Carr B. et al. (1987) A prospective randomized study of pregnancy rates following intrauterine and intracervical insemination using frozen donor sperm. *Fertil Steril*, 53(3):521-527.
- Byrd W., Drobnis EZ., Kutteh WH., and Marshburn P. (1994) Intrauterine insemination with frozen donor sperm : a prospective randomized trial comparing three different sperm preparation techniques. *Fertil Steril*, 62:850-856.

C

- Campina F. et Dudkiewicz-Sibony C. (2007) Le don de spermatozoïdes. *Gynecologie et Endocrinologie*,13:194-196.
- Cantineau AE., Cohlen BJ., Klip H. and Heineman MJ. (2011) The addition of GnRH antagonists in intrauterine insemination cycles with mild ovarian hyperstimulation does not increase live birth rates a randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *Hum Reprod*, 26 (5):1104-1111.
- Cazaban M., Duffour J., Fabbro-Peray P. et Duffour J. (2005) Santé publique. Paris, Masson, p 66-85.
- Cao Y., Xing Q., Zhang ZG., Wei ZL., Zhou P. and Cong L. (2009) Cryopreservation of immature and in-vitro matured human oocytes by vitrification. *Reprod. Biomed Online*, 19:369-373.
- Carlesen E, Giwercman A, Keiding N and Skakkebaek NE (1992) Evidence for decreasing quality of semen during the past 50 years. *BMJ* 305:609-613.

- CECOS. (2012) Cryoconservation de spermatozoïdes avant vasectomie: utilité et paradoxes à travers l'activité des CECOS. *Basic and Clinical Andrology*, 22 (3) : 162-170.
- Collet M., Reniers J., E. Frost, R. Gass et al. (1988) Infertility in Central Africa: infection is the cause. *Int J Gynaecol Obstet*, 26(3) 423-428.
- Commenges-ducos M., Tricaud S., a. Papaxanthos-roche, Dallay D. and Horovitz J. (1998) role of intra uterine insemination as treatment for specific factor of infertility. *Hum reprod* 13(1) (1998) 78-83.
- Cornud F., Belin X., Amar E., Delafontaine D. et al. (1998) Varicocele: strategies in diagnosis and treatment. *Eur radiol*: 9(3) (1999) 536-545.
- Chaffin CL., Brogan RS., Stouffer RL. and VandeVoort CA. (1991) Dynamics of Myc/Max/Mad expression during luteinization of primate granulosa cells *in vitro*: association with periovulatory proliferation. *Endocrinology*, 144:1249-1256.
- Charlier C. et Plomteux G. (2002) Effets perturbateurs endocriniens des pesticides organochlores. *Acta Clin Belg*, 57 (1):2-7.
- Check JH and Spirito P. (1995) Higher pregnancy rates following treatment of cervical factor with intrauterine insemination without superovulation versus intercourse: the importance of a welltimed postcoital test for infertility. *Arch Androl*, 35(1):71-77.
- Check JH. and Liss J. (2013) The effect of diminished oocyte reserve in younger women (age = 37) on pregnancy rates in natural cycles. *Clin Exp Obstet Gynecol*, 40(1) :27-28.
- Clément P., et Cohen-Bacrie P. (2004) Aspects biologiques de l'assurance qualité en AMP. Paris, Masson : 132-134.
- Clément JP. (2006) Aspects biologiques de l'assurance qualité en AMP. *Human Reproduction*, 16 (5) :807-817.
- Cook J., Dickens BM., and Mahmoud F. (2005) Assisted reproduction developments in the Islamic world. *Int J Gynecol Obstet*, 74: 187-193.
- Courbiere B., Saias-Magnan J., Metzler-Guillemain C., Perrin J., Noizet A. and Gamberre M. (2011) Female fertility preservation: feasibility of emergency IVF for embryo freezing. *Gynecol Obstet Fertil*, 39(9):497-500.
- Cornélis F., Krausz C., et Fellous M. (2001) *Annales d'endocrinologie*. Masson Paris, Vol 64, 5, p 403-417.
- Cornud F., Belin X., Amar E., Delafontaine D. et al. (1999) Varicocèle: strategies in diagnosis and treatment. *Eur Radiol* 9(3): 536-545.

- Cohen-Bacrie P., Ammar-keskes L. et *al.* (2000) Retentissement de l'infection génitale à Chlamydiae trachomatis sur le sperme chez des hommes consultant pour infertilité du couple. *Andrologie*, Vol 8, 1, p 25-35.
- Cohen-Bacrie P., Hazout A., et Hamamah S. et al. (2007) Évaluation de l'homme infertile : recommandations AFU. *Progrès en urologie*, 18, 95-101.
- Charlier C. et Plomteux G. (2002) Effets perturbateurs endocriniens des pesticides organochlores. *Acta. Clin. Belg*, 57 (1):2-7.
- Chocat A., Creveuil C., Galeraud-Denis I., Herlicoviez D., Herlicoviez M. et Sauvalle A. (2000) Valeur prédictive des paramètres spermatiques non automatisés et des paramètres cinétiques automatisés sur les taux de clivage en fécondation in vitro. *Gynécologie Obstétrique et Fertilité*, 29:301-307.
- Chocat A., Creveuil C., et Galeraud-Denis I. (2001) Valeurs prédictives des paramètres spermatiques non automatisés et des paramètres cinétiques. *Gynecol Obst et Fertil*, 3 : 32-40.
- Chung C., Flemming R., Jamieson M.E., Yates R. and Coutts J. (1990) Randomized comparison of ovulation induction with and without intra uterine insemination in the treatment of unexplained infertility. *Hum Reprod*, 10: 3139-3141.

D

- Daar B., Merali Z., Abdallah S. and Vayena E. (2002) Current Practices and Controversies in Assisted Reproduction. *World Health Organization Geneva*, 1 :15-21.
- David G., Bisson P., Czyglick F., Jouannet P., et Gernigon C. (1975) Anomalies morphologiques du spermatozoïde humain: Proposition pour un système de classification. *J Gynecol Obst Biol Reprod*, 4 : 37-86.
- David G., Auger J., et Eustache F. (2000) Standardisation de la classification morphologique des spermatozoïdes humains selon la méthode de David modifiée. *Andrologie*, 10(4) :358-373.
- Debry JM. (2001) Les andrologues en marge de l'ICSI. *L'Agenda de Gynécologie*, 23 : 1-3.
- Demoulin A. (2003) La varicocèle. *Med Liege*, 58 : 7-8 : 456-460.
- Desjeux C. (2010) Histoire de la contraception masculine : L'expérience de l'Association pour la recherche et le développement de la contraception masculine (1979-1986). *Politiques sociales et familiales*, 100 (1) :110-114.

- DeCherney AH., Hachicha R., Zhioua F., et al. (2007) Fertilité après cure hystéroscopique de synéchie. *Gynecol Obst et Fertil*, 23-28.
- DE Mouzon Nat J., Levy R. and Belaisch-allart J. (2007) Semen characteristics and quality of the conceptus in fertilization in vitro. *Gynécologie, obstétrique & fertilité*, 35 (3):216-223.
- Demoulin A. (2003) La varicocèle. *Rev Med Liege*, 58 : (7-8) : 456-460.
- Denoyer P. et Plaine E. (2007) Infertilité masculine. *Gynecol Obst*, 6 : 23-30.
- Devi AN., kumar TR., Pillai SM. and Jayakrishnan K. (2015) Expression profiles of nphp1 in the germ cells in the semen of men with male factor infertility. *Andrology* 3(4):685-693.
- Dinelli L., Courbière B. and Achard V. (2014) Factors of pregnancy after intrauterine insemination with the husband's sperm: conclusions of an analysis of 2,019 cycles. *Fertil Steril*, pii: S0015-0282(14)00039-9.
- Diao B., Faye O., Fall PA., Diallo AS. et Ndoeye AK. (2006) profil spermiologique de l'époux dans les couples infertiles en milieu negro-africain au senegal. *Andrologie* 16 (3):247-252.
- Donckers J., Evers JL. and Land JA. (2011) The long-term outcome of 946 consecutive couples visiting a fertility clinic in 2001-2003. *Fertil Steril*,96:160-164.
- Dhooge W., Van Larebeke N., Comhaire F. and Kaufman JM. (2007) **Regional Variations in Semen Quality of Community-Dwelling Young Men From Flanders Are Not Paralleled by Hormonal Indices of Testicular Function.** *J Androl*, 28(3): 435-443.
- Dogan S. (2015)_Sperm Protamine-Status Correlates to the Fertility of Breeding Bulls. *Biol Reprod*, 92 (4): 123-126.
- Du Plessis SS, Agarwal A and Sabanegh ES.(2014) Male Infertility: A Complete Guide to Lifestyle and Environmental Factors. USA: Springer.

E

- Estomba H., Muñoa-Hoyos I., Gianzo M., and al. (2016) Expression and Localization of Opioid Receptors in Male Germ Cells and the Implication for Mouse Spermatogenesis. *PLoS One*,11(3):0152162.
- Encha-Razavi F. et Escudier E. (2012) Anatomie et histologie de l'appareil reproducteur et du sein. Elsevier Masson, Paris, 140-146.

- Eustache F., Auger J., Cabrol D. and Jouannet P. (2004) **Are volunteers delivering semen samples in fertility studies a biased population?** *Hum Reprod*,12: 2831-2837.
- ESHRE Capri workshop Group (2005) Fertility and ageing. *Hum Reprod Update* 11: 261-276.

F

- Faye O., Moreau JC., Agonhessou SM., Faye EO., Badiane M. and Afoutou JM. (2000) Value of post coital and cytological sperm tests in conjugal sterility in Senegal. *Dakar Med*, 45(2):138-140.
- Fauque P., Lehert P., Lamotte M., Bettahar-lebugle K. et al. (2014) Clinical success of intrauterine insemination cycles is affected by the sperm preparation time. *Fertil Steril*, 101(6):1618-1623.
- Fenichel P., Donzeau M., Farahifar D et al. (2000) Dynamics of human sperm scroosome reaction: Relation with in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 55 (5): 994-999.
- Ferrara I., Balet R and Grudzinskas J.G. (2002) Intrauterine insemination with frozen donor sperm. Pregnancy outcome in relation to age and ovarian stimulation regime. *Hum. Reprod* ,17 : 2320-2324.
- Ferraretti A. P, Goossens V. and Kupka M, assisted reproductive technology in europe, 2009 : results generated from european registers by eshre. *Hum reprod* 29 (9) (2013) 2318-2331.
- Feki NC, Abid N, Rebai A, Sellami A, Ayed BB et al. (2009) Semen quality decline among men in subfertile relationships: experience over 12 years in the South of Tunisia. *Journal of Andrology* 30: 541-547.
- Folligan K., Laleye A., James YE. et al. (2011) Fiche technique du spermogramme et du spermocytogramme. *Journal de la Recherche Scientifique de l'Universite de Lome AJOL*, 13 (1) :19-24.
- Friedman AJ., Juneau-Norcross M., Sedensky B. et al. (1991) Life table analysis of intrauterine insemination pregnancy rates for couples with cervical factor, male factor, and idiopathic infertility. *Fertil Steril*,55(5):1005-1007.
- Fizazi A., Bendahmane M., and El-haina FZ. (2015) Etiology and toxic factors involved in male infertility in Western Algeria. *South Asian J Exp Biol*, 5 (5): 174-178.

- Fish H, Goluboff ET, Olson JH, Feldshuh J, Broder SJ and Barad DH.(1995) Semen analysis in 1,283 men from the United States over a 25-year period, no decline in quality. *Fertility and Sterility* 65:1009-1014.
- Fernández LC., Gosálvez J., Rodríguez-Predreira M. et al. (2006) Characterisation of a subpopulation of sperm with massive nuclear damage, as recognised with the sperm chromatin dispersion test. *Andrologia*, 46 (6):602-609.
- Freour T., Dessolle L., Jean M. and Barriere P. (2011) Smoking among French infertility specialists: habits, opinions and patients' management. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.*,155:44-48.
- FIVNAT., Mouzon J., Levy R., Mourouvin Z., Belaisch-Allart J., Bachelot A., et al. (2000) Caractéristiques du sperme et qualité du conceptus en fécondation *in vitro* fertilization. *Gynécologie Obstétrique et Fertilité*,35 (3):216-223.
- FIVNAT. (2002) Comparaison agonistes / antagonistes dans les stimulations pour FIV : les données de FIVNAT 2001–2002. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*,32 (9) :737-740.
- FIVNAT, J. DE Mouzon, R. Levy and J. Belaisch-allart. (2007) Semen characteristics and quality of the conceptus in fertilization *in vitro*. *Gynécologie, obstétrique & fertilité* 35 (3):216-223.
- Folligan K., Laleye A., James YE., YAO GV. et al. (2011) Fiche technique du spermogramme et du spermocytogramme. *Journal de la Recherche Scientifique de l'Université de Lomé AJOL* 13 (1) 19-24.

G

- Glazener CM., Kelly NJ., Weir MJ. et al. (1987) The diagnosis of male infertility-prospective time-specific study of conception rates related to seminal analysis and postcoital sperm-mucus penetration and survival in otherwise unexplained infertility. *Hum Reprod*, 2(8):665-671.
- Garolla A., Engl B., Pizzol D., and Foresta C. (2016) Spontaneous fertility and *in vitro* fertilization outcome: new evidence of human papillomavirus sperm infection. *Fertil Steril*,105(1):65-72.
- Gallardo JM. (2007) Evaluation of antioxidant system in normal semen. *Rev Invest Clin* 59 (1) 42-47.
- Giacomini E., URA B., Giolo E., Luppi S., Martinelli M. et al. (2015) Comparative analysis of the seminal plasma proteomes of oligoasthenozoospermic and normozoospermic men. *Reprod Biomed Online* 30(5):522-31.

- Griffith CS. and Grimes DA. (1990) The validity of the postcoital test. *Am J Obstet Gynecol*, 162(3): 615-620.
- Ganong W., Barman S., Barrett K., Boitano S. et Brooks H. (2005) Physiologie médicale. *Gynécologie obstétrique*, 147-156.
- Geoffroy-siraudin C., Loundou AD., Romain F. and Achard V. (2012) Decline of semen quality among 10 932 males consulting for couple infertility over a 20-year period in Marseille, France. *Asian journal of andrology*, 14 (4): 584-590.
- Goverde AJ., Donnell MC. and Vermeiden JP. (2000) Insémination intra-utérine. *Gynecol Obst et Fertil.*, 12:22-25.
- Guerin P., Matillon C. et bleau G. (2005) Impact de la fragmentation de l'ADN spermatique sur les résultats d'AMP. *Gynecol Obstet. Fertil*, 33:665-668.
- Gunby J., Bissonnette F., Librach C. and Cowan L. (2008) Assisted reproductive technologies (ART) in Canada : 2004 results from the Canadian ART Register. *Fertil Steril*, 89(5) 1123-1132.
- Gudeman SR., Townsend B., Fischer K., and Crain D. (2015) Etiology of azoospermia in a military population. *J Urol*, 193(4):1318-1321.
- Guzick D., Sullivan M., Adamson G. and *al.* (1998) Efficacy of treatment for unexplained infertility. *Fertility sterility*, 70: 207-213.
- Glissant A., Miyara L., Aubriot FX. (1989) Multiparameter analysis of human oocytes at metaphase II stage after IVF failure. *Human Reprod*, 18 (7): 1494-1503.
- Grynberg M, Even M, Hesters L, Treves R, Fanchin R, and Frydman N. (2012) Similar *in vitro* maturation (IVM) and fertilization rates of oocytes retrieved either at the follicular or the luteal phase of the cycle offers flexible options for urgent fertility preservation (FP). *Fertil Steril*, 3:97-98.
- Ghesquiere SL., Castelain EG., Speissens C., Meuleman CL., and D'Hooghe TM. (2007) Relationship between follicle number and (multiple) live birth rate after controlled ovarian hyperstimulation and intrauterine insemination. *Am J obstet Gynecol*, 197(6): 589-599.

H

- Hammamah S., Saliba E., Benhamed M., et Gold F. (1999) Médecine et biologie de la reproduction. Masson, 25-56.
- Hamamah S., Anahory T., Saliba E., Benahmed M., et Gold F. (2004) Médecine et biologie de la reproduction des gamètes à la conception. Paris, Masson, 23-169.
- Hamadi S. (2008) Stérilité du couple : un drame familial-Enquête: Stérilité, Journal Liberté, 29/12/2008.
- Heffner LJ. (2003) Reproduction humaine. Paris, Masson, 25-45.
- Helmerhorst FM., Van Vliet HA., Gornas T., Finken MJ. and Grimes DA. (2006) Intrauterine insemination versus timed intercourse for cervical hostility in subfertile couples. *Obstet Gynecol Surv*, 61(6):402-414.
- Helenon O. (2007) Imagerie des testicules et du contenu scrotal. Paris, Masson, p 122-132.
- Hervé S. (1996) Spermiologie et environnement. *Hum Reprod*, 23 : 12-25.
- Herbemont C. and Sifer C.(2015) How to select the spermatozoon for intracytoplasmic sperm injection in 2015? *Minerva Ginecol* 67(2) 185-193.
- Holzer H., Schar E., Chian RC et al. (2007) *In vitro* maturation of oocytes collected from unstimulated ovaries for oocyte donation. *Fertil Steril*, 88:62-67.
- Hottois L et Missa K. (2001) Comparison of short 7day and prolonged treatment with gonadotropin releasing hormone agonist desensitization for controlled ovarian hyperstimulation. *Fertil. Steril*, 12: 122-125.
- Hould R. (1982) Histologie descriptive et éléments d'histopathologie. Edition Maloine, p 203-210.
- Homburg J., Armar N.A., Eshel A., Adams J., and Jacobs H.S.(1988) Influence of serum luteinising hormone concentrations on ovulation, conception, and early pregnancy loss in polycystic ovary syndrome. *Br. Med. J*, 297:1024-26.
- Hughes E., Brown J., Collins J et al. (2000) Clomiphene citrate for unexplained subfertility in women. Cochrane Database of Systematic Reviews CD000057.
- Hughes EG. (1997) The insemination in the treatment of persistent infertility: a meta-analysis. *Hum Reprod*. 12(9):1865-1872.

I

- Ioannou D., Miller D., Griffin DK. and Tempest HG. (2016) Impact of sperm DNA chromatin in the clinic. *J Assist Reprod Genet*, 33(2):157-166.

- Ianard L., Bernhard R., Joanna K., David C. et al. (2004) Determination of AMP-activated protein kinase phosphorylation sites in recombinant protein expressed using the pET28a vector: A cautionary tale. *Protein Expr Purif*, 66(2): 181–184.
- Ikechebelu J.I and Okeke C.A.F. (2007) Intrauterine insemination with controlled ovarian stimulation for treatment of infertility: An audit of a new IUI programme in a low resource setting. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 27: 61-64.
- Irvine S., Cawood E., Richardson D., MacDonald E. and Aitken J. (1996) Evidence of deteriorating semen quality in the United Kingdom: Birth cohort study in 577 men in Scotland over 11 years. *BMJ* 312:467-470.

J

- Jafarzadeh-Kenarsari F., Ghahiri A., and Habibi M. (2015) Exploration of infertile couples support requirements: a qualitative study. *Int J Fertil Steril*, 9 (1):81-92.
- Jord Lavery. (2010) Infection control in IV therapy: a review of the chain of infection. *British Journal of Medicine, Intravenous Supplement*,19: S6-S14.
- Jorgensen N, Carlsen E, Neramoen I, Punab M, Suominen et al. (2002) East-West gradient in semen quality in the Nordic-Baltic area: a study of men from the general population in Denmark, Norway Estonia and Finland. *Human Reproduction* 17:2199-2208.
- Jouannet P, Czyglik F, David G et al. (1981) Study of a group of 484 men. Distribution of semen characteristics. *International Journal Andrology* 4:440-449
- Junca AM., Cohen-Bacrie P., and Hazout A. (2005) ICSI: can one select the spermatozoids?. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* , 34(2):31-34.

K

- Kutluyer F, Ogretmen F and Inanan BE (2015) effects of semen extender supplemented with l-methionine and packaging methods (straws and pellets) on post-thaw goldfish (*carassius auratus*) sperm quality and DNA damage. *Cryo Letters*,36 (5):336-343.
- Kirby CA., Flaherty SP., Godfrey BM., Warnes GM and Matthews CD. (1991) A prospective trial of intrauterine insemination of motile spermatozoa versus timed intercourse. *Fertil Steril*. 56(1):102-107.
- Kugler P. (2014) Anatomie, physiologie, pathologie du corps humain. Paris, eds Maloine, p301-314.

- Klipstein S, Regan M, Ryley DA *et al.* (2005) One last chance for pregnancy: a review of 2,705 in-vitro fertilization cycles initiated in women age 40 years and above. *Fertility and Sterility*, 84: 435-445.
- Klonoff-cohen HS. and Natarajan L. (2004) The effect of advancing paternal age on pregnancy and live birth rates in couples undergoing in vitro fertilization or gamete intrafallopian transfer. *Am J Obstet Gynecol* 191:517-524.
- Klipstein S., Regan M., Ryley D. A., Goldman M. B. And Alper M. M. (2005) one last chance for pregnancy: a review of 2705 in vitro fertilizar rh. One last chance for pregnancy: a review of 2705 in vitro fertilization cycles initiated in women age 40 years and above. *Fertil steril* 84:435-445.
- Kumar SB., Surabhi G., Madhuri T. *et al.* (2015) Improvement in Sperm DNA Quality Following Simple Life Style Intervention: A Study in Fathers of Children with Non-Familial Sporadic Heritable Retinoblastoma. *J Clin Case Rep*, 5:3-5.

L

- Lauwerys R., Haufroid V., Huet P., and Lison D. (2007) Spermogramme : Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. eds Masson, p78-99.
- Laville M., Martin X., et Gagneux Y. (2007) Néphrologie et urologie : les causes post teticulaires. Elsevier Masson :111-145.
- Lamarchea C., Lévyb R., Fellonia B., DE Mouzonc J. and Denis-Belicarda E. (2007) Reproductive techniques in women aged 38 years or more. *Gynecol Obstet & Fertil* 35 : 420-429.
- Larsen WJ. et Dhem A. (2007) Embryologie humaine. Masson,4^e edition, p 322-356.
- Lansac J., Lecomte P. et Marret H. (2007) Anatomie de l'appareil génitale. *Gynécologie* : 322- 356.
- Lansac J., et Guérif F. (2005) Les techniques d'assistance Médicale à la Procréation en pratique. Edition Masson, p132-145.
- Lelannou D. (1994) L'insémination intra-utérine, indications et résultats. *Contracept Fertil Sex*, 22 (6): 361-369.
- Lelannou D. (2002) Is the limitation to six cycles of insemination with donor sperm justified? *Gynecol Obstet Fertil* 30 129-132.
- Leto S and Frensilli FJ (1981) Changing parameters of donor se-men. *Fertility and Sterility* 36:766-770.

- Lomage J. (2002) Infertilité masculine. *Gynécologie obstétrique pratique*. 4: 10-11.
- Lewis EM. (2007) **Is sperm evaluation useful in predicting human fertility?** *Medecine therapeutique*134(1):31-40.

M

- Matorras R., Ramón O., Expósito A., Corcóstegui B. and Ocerin I. (2006) Antagonists in intrauterine insemination: the weekend-free protocol. *J Assist Reprod Genet* ,23:51-54.
- Martinez A., Bernadus R., Voorhorst F., Vermeiden J. and Schoemaker J. (1990) Intra uterine insemination does and clomifene citrate does not improve fecundity in couple with infertility due to male or idiopathic factors: a prospective randomized, controlled study. *Fertil Steril*,53:847-853.
- Macleod R., Biyani CS., Cartledge J. and Eardley I. (2015) varicocele. *Bmj clin evid.*,13(6):12-14.
- Macleod J and Wang Y (1979) Male fertility potential in terms of semen quality: A review of the past, a study of the present. *Fertility and Sterility* 31:103-116.
- Mellal S, Westhersbee P.S., Werlin L.B., and Stone S.C. (2010) Pentoneal recovery of sperm after intrauterine insemination. *Fertil Steril*, 42:3226.
- Mahon E., and Cotter N. (2014) Assisted reproductive technology IVF treatment in Ireland : a study of couples with successful outcomes. *Hum Fertil (Camb)*, 17(3):165-169.
- Menche N. (2014) Biologie, anatomie, physiologie. Edition Maloine, p 400-408.
- Mélone-Galice C. (2000) Gynécologie Obstétrique Pratique. Edition Masson, p123-143.
- Menezo Y. (2006) Paternal and maternal factors in preimplantation embryogenesis: interaction with the biochemical environment. *Reprod Biomed Online*, 12 : 616-621.
- Mieusset R. (1983) Résultats préliminaires d'un essai de contraception masculine par la chaleur. Thèse de médecine n°202, Toulouse.
- Mieusset R. (1998) L'inflammation de l'appareil génital masculin et reproduction : traitements in vivo. *Andrologie*,8 (3) : 259-268.
- Micheli L., Cerretani D., Collodel G., and Menchiari A. (2016) Evaluation of enzymatic and non-enzymatic antioxidants in seminal plasma of men with genitourinary infections, varicocele and idiopathic infertility. *Andrology*.doi: 10.1111/andr.12181.

- MacLeod J.(1970) The significance of deviations in human sperm morphology in the human testis. *Adv Exp Med Biol*, 10: 481-92.
- Mahon E., and Cotter N. (2014) Assisted reproductive technology IVF treatment in Ireland : a study of couples with successful outcomes. *Hum Fertil* 17(3) 165-169.
- Moretti E, Sutera G and Collodel G (2016) The importance of transmission electron microscopy analysis of spermatozoa: Diagnostic applications and basic research. *Systems Biology in Reproductive Medicine* 62(3):171-183.

N

- Najafi T. F., Roudsari R.L., Namvar F., et al. (2015) Air Pollution and Quality of Sperm : A Meta-analysis. *Iran Red Crescent Med J*, 17(4) :e26930.
- Netter H.F. (2010) Atlas d'anatomie humaine. Elsevier Masson (5^e editions), 510-525.
- Nevoux P., Mitchell V., and Chevallier. (2011) Varicocele repair: does it still have a role in infertility treatment? *Curr Opin Obstet Gynecol*, 23(3):151-7.
- Niederberger C. (2015) Clinical outcome of microsurgical varicocelectomy in infertile men with severe oligozoospermia. *J urol* 193(1): 255-258.
- Niang L., Labou I., and Gueye SM. (2007) Primary Varicocele and Fertility: Postoperative Evaluation of Spermogram and Pregnancy Parameters. *African Journal of Urology*, 13(1): 54-61.
- Nikolaev AA., and Loginov PV. (2015) Parameters of spermatogenesis in men exposed to difficult environments. *Urologia*, (5):60-4.

O

- Odeblad E. (1977) functions and physical properties of mucus in the female genital tract. *Human Reproduction*, 2:33-54.
- Okonofua F. (2003) Les Nouvelles Technologies Reproductives et le Traitement de la Stérilité en Afrique. *La Revue Africaine de la Santé Reproductive*, 7 (1) (2003) 7-11.
- Oliva M et Mathieu S. (2006) Assistance Médicale à la procréation : Ethique, Religion et filiation. Les éditions de l'atelier,112-113.

- Olsen GW., Bodner KM., Ramlow JM., Ross CE., et Lipshultz LI. (1995) Have sperm counts been reduced 50 percent in 50 years? A statistical model revisited. *Fertil Steril*, 65: 450-453.
- Olivennes F., Hazout A., et Frydman R. (2006) infertilité masculine et assistance médicale à la procréation. Edition Masson, 40-55.
- O.M.S. Manuel de laboratoire. (2000) Analyse du sperme humain et de l'interaction des spermatozoïdes avec le mucus cervical. Paris, OMS, 45-46.
- O.M.S. Manuel de laboratoire. (2010) Analyse du sperme humain et de l'interaction des spermatozoïdes avec le mucus cervical. Paris, OMS, 22-31.
- Ombelet W., Basmans E., Janssen M., et al. (1997) Semen parameters in a fertile versus subfertile population: a need for change in the interpretation of semen testing. *Hum Reprod*, 12: 987-993.
- Ozkan S, Murk W, Arici A. (2008) Endometriosis and infertility: epidemiology and evidence-based treatments. *Ann N Y Acad Sci*, 1127:92-100.

P

- Palermo R.J., Nisker J.A., Daniel S., et al. (1992) An aggressive philosophy in controlled ovarian stimulation cycles increases pregnancy rates. *Human Reprod* 8:52831.
- Paycheng J.C., Walsh S., Dumez S., Metzger D. (2006) A randomized and longitudinal study of human menopausal gonadotropin with intrauterine insemination in the treatment of infertility. *Obstet. Gynecol*, 82:7806.
- Perlemuter L., and Bilweis C. (2006) L'Appareil génital masculin. Edition Masson, 140-156.
- Perkins S., and Meyers-Thompson J. (2007) Huhner test. *APMIS*, 95-121.
- Poirot L., Nulsen J., Luciano A., and Metzger D. (2002) A comparative analysis of the cycle fecundity rates associated with combined human menopausal gonadotropin (hMG) and intra-uterine insemination (IIU) versus either hMG or IIU alone. *Fertil. Steril.*,2:23-25.
- **Pouly JL., et Ferrand C. (2003) Bilan d'infertilité. *Gynécol Obst*, 3:45-48.**
- **Poncelet et al., 2011**
- Paulsen CA, Berman NG and Wang C (1995) Data from men in greater Seattle area reveals no downward trend in semen quality: Further evidence that deterioration in semen quality is not geo-graphically uniform. *Fertility and Sterility* 65:1015-1020.
- Paulson Rj., Milligan RC. and Sokol RZ. (2001) the lack of influence of age on male fertility. *am j obstet. gynecol*,184: 818-822.

- Paffoni A., Ferrari S., Viganò P. et al. (2014) Vitamin D Deficiency and Infertility: Insights From in vitro Fertilization Cycles. *J Clin Endocrinol Metab*, November 2014, 99(11):E2372-E2376.
- Picard-hagen N., Berthelo X., Champion JL. et al. Contagious epididymitis due to *Brucella ovis*: relationship between sexual function, serology and bacterial shedding in semen. *BMC Vet Res* 30(11) (2015) 125-130

R

- Ramé A., et Théron S. (2007) Anatomie et physiologie de l'appareil génital male. Edition Masson, 30-35.
- Rocca MS., Speltra E., Menegazzo M., Garolla A., Foresta C., and Ferlin A. (2016) Sperm telomere length as a parameter of sperm quality in normozoospermic men. *Hum Reprod*,31(6):1158-1163.
- Rossin B. (2006) Investigation of the infertile couple. *Rev Prat* 56(5):479-490.
- Rossin B., Pouly JL., Belaisch-Allart J., De Mouzon J. (2009) La stimulation de l'ovulation pour fécondation *in vitro*, en France : choix et résultats en fonction des protocoles et des gonadotrophines. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 37(11-12):864- 872.
- Rochebrochard E. (2001) Des homes médicalement assistés pour procréer. *Poulation*, 58(4): 549-586.
- Ron-el R., Raziel A., Trassburger D. and Schachter M. (2000) Infertility. *Fertil steril.*, 74 (3) 471-475.
- Ronel R., Raziel A., Strassburger D., Schachter M. and Friedler S. (2002) Outcome of assisted reproductive technology in women aged 40-42 years. *Fertil steril* 74 (2002) 471-475.
- Richard M.D., Dickey P., Steven N., Taylor M. D. and Peter Y.Lu. (2002) Effect of diagnosis, age, sperm Quality, and number of preovulatory follicles on the outcome of multiple cycles of clomiphene Citrate-intrauterine insemination. *Fertility and sterility* 78 (5):1088-1095.
- Rirby C.A., Flaherty S.P., Godfrey B.M., Warnes G.M, and Matthews C.D. (1991) A prospective trial of intrauterine insemination of motile spermatozoa versus timed intercourse. *Fertil Steril*, 56: 1026.

- Rolland M, Le Moal J, Wagner V, D. Royère and J. De Mouzon. (2015) Decline in semen concentration and morphology in a sample of 26 609 men close to general population between 1989 and 2005 in France. *Hum Reprod.*,28(2):462-70.
- Royere D., Barthelemy C and Hamamah S. (2004) Cryoconservation of spermatozoa. *Human Reproduction*, 2:553-559.
- **Ron-el R., Raziel A., Trassburger D. and Schachter M.(2000) *Fertil steril.* 74 (3) (2000) 471-475.**

S

- Salman T. M. and Adesokan A. A. (2008) Sperm quality of male rats treated with aqueous extract of *Enantia chlorantha* stem bark. *African Journal of Biotechnology* 7 (7) 865-867.
- Salat-Baroux J., Mendelbaum J., Merciel P., et Antoine JM. (1998) Le traitement moderne des stérilités masculines. Paris, Masson, 65-75.
- Sanocka D and Kurpisz M. (1996) Reactive oxygen species and sperm cells. *Reproductive Biology and Endocrinology*,2-12. Tang WH., Zhuang XJ., Ma LL., and Qiao J. (2015) Correlation between body mass index and semen quality in male infertility patients. *Turk J Med Sci*,45(6):1300-1305.
- Sami N., Ali TS., Wasim S., and Saleem S. (2012) Risk factors for secondary infertility among women in Karachi, Pakistan. *PLoS One*,7(4): 12-14.
- Sekhsokh Y., Bajjou T., Lmimouni B., and Baaj A.J. (2001) Biologie infectiologie TOME VII- N° 3,P112-104.
- Serfaty D. (2007) Contraception. Edition Masson, 45-52.
- Serhal P., Katz M., Little V., and Woronowski H. (1988). The value of Pergonal superovulation combined with intra-uterine insemination". *Fertil Steril*, 49:602-606.
- Serghini M., Fekih M., Karoui S., Ben Mustapha N., Kallel L., and al.(2010) Fertility and inflammatory bowel diseases. *Tunis Med*, 88(9):623-628.
- Soria M., Pradillo G., García J., et al. Ramón P, Castillo A, Jordana C, Paricio P. (2012) Pregnancy predictors after intrauterine insemination: analysis of 3012 cycles in 1201 couples. *J Reprod Infertil.*,13(3):158-66.
- Schick M., Rösner S., Toth B., Strowitzki T., and Wischmann T. (2016) Exploring involuntary childlessness in men : a qualitative study assessing quality of life, role

aspects and control beliefs in men's perception of the fertility treatment process. *Hum Fertil*, 31: 525-530.

- Scholten I., Moolenaar LM., Gianotten J. and al. (2012) Long term outcome in subfertile couples with isolated cervical factor. *J Reprod Infertil*, 13(3):158-166.
- Siffroi JP., et Christin-Maitre S. (2006) Aspects moléculaires des anomalies génétiques rencontrées dans l'infertilité humaine : des chromosomes aux gènes. *Médecine de la reproduction*, 8(5):311-319.
- Slama R., Eustache F., and al. (2002) Time to pregnancy and semen parameters: a cross-sectional study among fertile couples from four European cities. *Human Reproduction*, 17(2):503-515.
- Smith KE. and Buyalos RP. (1996) The profound impact of patient age on pregnancy outcome after early detection of fetal cardiac activity. *Fertil steril* 65:35-40.
- Soufir J.C., Szerman-Joly E., Vieillefond A., et Weber P. (1988). Azoospermies à FSH plasmatique normale et carnitine séminale non abaissée : une double signification. Implications diagnostiques et thérapeutiques. *Reprod Nutr Dévelop*, 28(5): 1363-1374.
- Souter I., Dimitriadis I., Baltagi LM, Meeker JD. and Petrozza JC. (2014) Elevated day 3 follicle stimulating hormone in younger women: is gonadotropin stimulation/intrauterine insemination a good option?. *Am J Obstet Gynecol*, pii: S0002-9378(14)00060-X.
- Salehpour S., Zamaniyan M., Saharkhiz N., and al. (2016) Does intrauterine saline infusion by intrauterine insemination (IUI) catheter as endometrial injury during IVF cycles improve pregnancy outcomes among patients with recurrent implantation failure?: An RCT. *Int J Reprod Biomed*, 14(9):583-588.
- Schwartz D, Mayaux MJ, Spira A, Moscato ML, Jouannet P and Czyglik E (1983) Semen characteristics as a function of age in 833 fertile men. *Fertility and Sterility* 39: 530-535.
- Sripada S, Fonseca S, Lee A, Harrild K, Giannaris D, Mathers E and Bhattacharya S (2007) Trends in semen parameters in the North-east of Scotland. *Journal of Andrology* 28 (2):313-319.
- Suominen J and Vierula M. (1993) Semen quality of Finnish men. *BMJ* 306:1579.
- Swan SH and Elkin EP (1999) Declining semen quality: can the past inform the present? *Bioessays* 21: 614-621.

T

- Tassi C., Angelini A., Beccari T. and Capodicasa E. (2006) Fluorimetric determination of activity and isoenzyme composition of N-acetyl-beta-D-hexosaminidase in seminal plasma of fertile men and infertile patients with secretory azoospermia. *Clin Chem Lab Med*, 44(7) :843-847.
- Testart J., Godin C. (2001) Au bazar du vivant. Biologie, médecine, bioéthique sous la coupe libérale. Ed. du Seuil, 160 pp.
- Trounson AO.(1994) Production of embryos from *in vitro* matured primary human oocytes. *Fertility Sterility*,65:1151-1156.
- Tummon IS and Mortimer D (1992) Decreasing quality of semen. *BMJ* 305: 1228-1229.

V

- Vendrely E, Dadoune JP. (2002) Quantitative ultrastructural analysis of the principal cells in the human epididymis. *Reprod Nutr Dev*, 28: 1225-1235.
- Veltman- Verhulst SM., Cohlen BJ. and al. (2012) Intrauterine insemination for unexplained subfertility Cochrane Database. *Syst Rev*,12(9): CD001838.

W

- Warmelink JC, Adema W, Pranger A and de Cock TP (2016) Client perspectives of midwifery care in the transition from subfertility to parenthood: a qualitative study in the Netherlands. *Journal of Psychosomatic Obstetrics & Gynecology* 37(1):12-20.
- Wolff D., Langan-Fahey S., Johnson D., Ricchio M., Thompson M. et al. (2008) Leucocytospermia, oxidative stress and male fertility: facts and hypotheses. *Gynécologie obstétrique et fertilité*, 95(1): 17-25.
- World Health Organization (2000) WHO Manual for the Standard ized investigation, Diagnosis and Management of the infertile Male. Cambridge University Press.

- World Health Organization Laboratory : WHO. (2010) Manual for the Examination of Human Semen and Sperm–Cervical Mucus Interaction. Cambridge University Press (5th eds), 60-123.

Y

- Yavuz A, Demirci O, and Sözen H. (2013) Predictive factors influencing pregnancy rates after intrauterine insemination. *J Reprod Med*,11(3):227-234.
- Yacoubi M. Ledent C., Parmentier M. (2001) Adenosine A_{2A} receptor antagonists are potential antidepressants: evidence based on pharmacology and A_{2A} receptor knockout mice. *British Journal of Pharmacology*,134, 68–77
- Yousefi B, Azargon A. (2011) Predictive factors of intrauterine insemination success of women with infertility over 10 years. *J Pak Med Assoc*, 61(2):165-168.
- Zorn JR., Savale M., Canon-Yannotti M. (2005) Stérilité du couple. Edition Masson, 300-312.
- Zorn J.R. (2009) Place actuelle du test de Huhner dans l’exploration de la stérilité conjugale. *Gynecol Obstet Fertil*, 34 : 142-146.
- Zhou DD., Hao JL., and Guo KM. (2016) Sperm quality and DNA damage in men from Jilin Province, China, who are occupationally exposed to ionizing radiation. *Genet Mol Res*, 22(1):15.
- Zhang WX., Wang R.JC. Wang I. and Zhang J.(2013) Radiation-induced oxidative stress and claudin-11 mRNA expression in the testis. *Zhonghua Nan Ke Xue*,19(4):306-310.
- Zeyneloglu et al. (1998)
- Zeginiadou T., Papadimas J. and Mantalenakis S. (2000) Human Sperm Acrosome Reaction. *Andrologia*, 6: 335–343.

Annexes

Questionnaire (Bilan Masculin)

Monsieur

1. Indiquer votre :

Nom :

Prénom :

N° de code :

Age :

Date de mariage :

Profession :

Répondre par oui ou non (cocher sur la case correspondante)

2. Avez vous déjà utilisé une contraception au sein de votre couple (pillule, stérilet, préservatifs)..... Oui
 Non
 Jamais
- Si oui, depuis quand
- Si non, depuis quand vous l'avez arrêté
3. Depuis quand désirez-vous concevoir ?.....
4. Y a t'il eu au sein du couple :
- Une naissance Oui
 Non
- Si oui, l'âge de l'enfant
- Un début de grossesse..... Oui
- Si oui, le nombre de fausse-couche () ou d'interruption volontaire () Non
5. Avez -vous eu un ou plusieurs enfants ou un début de grossesse avec une autre partenaire Oui
 Non
- Age de ou des enfants
- Nombre de fausses couches () .
6. Fumez-vous du tabac ?..... Oui
 Non
 Jamais
- Si oui, depuis quand ?
- Préciser la quantité/ jours
- Si vous arrêtez..... Oui
 Non
7. Dans l'enfance, les testicules étaient-ils bien descendus dans les bourses Oui
 Non
- Si non, préciser le coté atteint
8. Avez-vous eu un traitement chirurgical ou médical dans l'enfance ?..... Oui
 Non
- Si oui, veuillez préciser
9. Avez-vous eu des infections uro-génitales (épididymite, blennorragie, chaude pisse) ?..... Oui
 Non
- Si oui, indiquer : - le nombre d'épisodes ().....
- la date du dernier épisode
- Indiquer le germe en cause : - Chlamydiae
- Mycoplasmes
- autres.....
- Avez-vous été traité ?..... Oui
 Non
10. Avez-vous eu les oreillons après la puberté ?..... Oui
 Non
- Si oui, avez-vous eu une atteinte testiculaire associée ? Oui
 Non
11. Avez-vous eu un traumatisme testiculaire important ?
12. Avez-vous été opéré d'une hernie inguinale? Oui
 Non
- Si oui, de quel coté

13. Avez-vous : - Une hydrocèle ?..... Oui
 Non
- Opérée ?..... Oui
Quand..... Non
- Une varicocèle ?..... Oui
 Non
- Opérée ?..... Oui
Quand..... Non
- Tuberculose ? Oui - Diabète ? Oui -HTA ? Oui
 Non Non Non Non -MST ? Oui
 Non Non
14. Fréquence des rapports sexuels par semaine ?.....
15. Quel est l'aspect de l'éjaculation (normale ou rétrograde) ?.....
16. Etes-vous au contact des radiations dans votre travail?..... Oui
 Non
17. Avez-vous eu une maladie grave ? Oui
- Si oui, précisez laquelle Non
18. Actuellement, prenez-vous un traitement pour la stérilité ?..... Oui
- Si oui, précisez lequel Non
19. Avez-vous déjà un terrain d'infertilité familiale ?..... Oui
- Si oui , précisez Non
20. Avez-vous déjà fait un spermogramme ?..... Oui
 Non
21. Avez-vous déjà fait un bilan hormonal ?..... Oui
 Non
- Testostérone Oui LH Oui FSH Oui Prolactine Oui
 Non Non Non Non
22. Avez-vous eu de la fièvre dans les jours qui précèdent le spermogramme fait aujourd'hui ?..... Oui
- Si oui, quand ?..... Non
23. Suivez vous un traitement spécifique pour un programme d'AMP ? Oui
 Non
24. Avez vous déjà eu des antécédents de consanguinité familiale ? Oui
 Non

ANNEXES 2

« Coloration vitale a L'Eosine »

Réactifs

Eosine Y (jaunâtre). Préparer une solution à 0.5% (5g/l) d'éosine Y (C.I.45380) dans une solution à 0.9% (9g/l) de chlorure de sodium.

ANNEXES 3

Disposition de réactif pour la coloration May-Grunwald-Giemsa (Coloration des spermatozoïdes et des noyaux cellulaires par le Giemsa)

Réactifs

➤ Tampon phosphate 0.066 M pH 6.9

KH ₂ PO ₄ (9.1 g/l).....	320 ml
Na ₂ HPO ₄ (11.9g/l).....	400 ml
NaOH.....	pH 6.9
H ₂ O	1l

➤ Solution de colorant Giemsa (à préparer extemporanément)

Romanovski-Giemsa.....	7 ml
Tampon phosphate 0.066 M.....	160 ml

ANNEXES 4

Description des anomalies suivant la classification de David et al., 1975

Les anomalies	Classification de David
Tête	
Macrocéphale	Augmentation globale de la taille de la tête. Ne pas confondre avec des spermatozoïdes en lyse.
Microcéphale	Tête ronde sans acrosome ou petite tête irrégulière avec réduction de l'acrosome.
Amincie	>2 µm longueur normal
Allongée	>6 µm la largeur reste normale (simple ou associé à base amincie ou battant de cloche).
Base anormale	Extrémité pointue
Forme irrégulière	Souvent associée à une anomalie de l'acrosome.
Tête isolée	Flagelle absent
Pièce intermédiaire	
	Reste cytoplasmique
	Grêle
	Angulée
Flagelle	
Angulation	
Court	> à la moitié de la longueur normal
Multiple	> 1 Flagelle
Cassé	A classer dans le calibre irrégulier

ANNEXES 5

Composition des milieux de culture

Gélose au sang

- Mélange spécial de peptones23g
- Amidon1g
- Chlorure de sodium5g
- Agar.....10g
- Sang.....50g
- PH=7.3

Milieu Chapman

- Peptones10g
- Extrait de viande de bœuf.....1g
- Chlorure de sodium75g
- Mannitol10g
- Rouge de phénol.....0.25g
- Agar.....15g
- PH=7.4

ANNEXES 7

Tableau 1 : Durée d'infertilité chez les couples algériens et hollandais

Durée d'infertilité	Algérie		Pays-Bas		<i>P</i>
	n	%	n	%	
< 2 ans	44	44	56	45.90	0.0522
> 2 et < 5 ans	33	33	40	32.80	
> 5 ans	23	23	26	21.30	
Total	100	100	122	100	

Publications

Effet des facteurs médicaux et environnementaux sur la morphologie des spermatozoïdes chez les hommes infertiles à l'Ouest Algérien

**Fatima Zohra EL-HAINA^{1,2*}, Malika BENDAHMANE^{1,2}, Anissa Fizazi¹, Rachid Zerrouki^{3,4}
et Abdelkrim Badreddine KANDOUCI²**

¹ *Département de Biologie, Faculté SNV, Université UDL de Sidi-Bel-Abbès, Algérie*

² *Laboratoire de Recherche en Environnement et Santé (LRES), Service de Médecine du Travail CHU de Sidi Bel Abbés, Algérie*

³ *Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Faculté FSB, Université USTHB, Alger, Algérie*

⁴ *Département de Pathologie Cellulaire, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Montréal, Canada*

Résumé

L'infertilité masculine est un réel problème de santé publique, elle touche 65 % de la population algérienne. Notre travail de recherche concerne une étude prospective réalisée entre 2007 et 2012 sur 149 patients âgés de 25 à 55 ans venant du service d'urologie pour explorer leur problème d'infertilité au laboratoire d'analyses privé dans la wilaya de Sidi-Bel-Abbès (Algérie). Les paramètres d'exploration et les causes de l'infertilité masculine ont été recherchés par une série d'examens: le spermogramme, le spermocytogramme, la spermoculture et le dosage hormonal. L'étude cytologique a permis de révéler une prédominance de l'oligoasthénospermie (26.17%), le dosage hormonal de FSH nous précise l'origine de l'azoospermie : 3.35% sécrétoire et 1.34% excrétoire. Une relation linéaire a été établie entre la présence des anomalies des spermatozoïdes et les facteurs de risques à savoir : le tabagisme (62.4%), le stress (10.7%) et la chaleur en Algérie (3.35%). Certains antécédents médicaux tels que les oreillons (24.83%), la varicocèle (19.46%) et l'hernie inguinale (10.73%) ont été également incriminés. 31.54% des patients présentaient une leucospermie dont les principaux germes identifiés sont les suivants : Entérobactéries (32%) et Klebsiella (21%). Ces facteurs ont été incriminés dans le dérèglement du processus de fabrication de spermatozoïdes qui pourrait vraisemblablement avoir un impact négatif sur la concentration et/ou la mobilité spermatique.

Mots-clés : *infertilité masculine, étude cytologique, anomalies spermatiques, facteurs professionnels et environnementaux.*



REGULAR ARTICLE

Decline in semen quality among infertile men during the past 15 years in Western Algeria (SIDI-BEL-ABBES)

El-haina Fatima Zohra^{a,b*} and Bendahmane Malika^{a,b}

^aDepartment of Biology, Faculty of Natural Sciences and Life, Djillali Liabes University, Sidi Bel Abbes, Algeria

^bLaboratory of Research on Environment and Health (LRES), Faculty of Medicine, Hospital University of Sidi Bel Abbes, Algeria

El-haina Fatima Zohra^{a,b*} and Bendahmane Malika^{a,b}

^aDepartment of Biology, Faculty of Natural Sciences and Life, Djillali Liabes University, Sidi Bel Abbes, Algeria

^bLaboratory of Research on Environment and Health (LRES), Faculty of Medicine, Hospital University of Sidi Bel Abbes, Algeria

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 27 Aug 2016

Revised: 30 Sep 2016

Accepted: 3 Oct 2016

**Corresponding Author:*

Email: elhainafz@gmail.com

Telephone: Netherlands-0031 6

49717141, Algeria-00213

776709882

Keywords: semen concentration; semen morphology; sperm volume

ABSTRACT

The current study aimed at measuring changes in semen quality and quantity in young healthy sperm of the partner in western Algeria over 15 years. A retrospective analysis of semen parameters over 15 years was carried out using linear regression analysis, at the fertility laboratory in West Algeria. Study population consisted of 188 young partners, aged 25 to 35 years, who donated sperm samples for artificial insemination between 2000 and 2015. Their wives with infertility problems were surveyed using questionnaire about their lifestyles and infertility factors. There were no statistically significant changes in semen concentration and motility during the study period. The mean semen volume increased by 0.1 mL per year ($P < 0.0001$), with a concomitant mean rise of 5.8×10^6 per year in total motile sperm count. The percentage of sperm normal morphology decreased by a mean of 1% per year during the entire period ($P < 0.0001$). During these 15 past years, there has been an increase in total motile sperm count, and semen volume whereas, a decline in normal sperm morphology has been noticed that is independent of the age and the duration of abstinence of infertile men.



REGULAR ARTICLE

Etiology and Toxic Factors Involved in Male Infertility in Western Algeria

Fizazi Anissa^{a*}, Bendahmane Malika^{a,b} and Elhaina Fatima Zohra^b

^aDepartment of Biology, Faculty of Natural Sciences and Life, Djillali Liabes University, Sidi Bel Abbes, Algeria

^bLaboratory of Research on Environment and Health (LRES), Faculty of Medicine, Hospital University of Sidi Bel Abbes, Algeria

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 18 Dec 2015

Revised: 7 Jan 2016

Accepted: 8 Jan 2016

**Corresponding Author:*

Email: anissa.fizazi@gmail.com;

Phone: +213 668 006 804

Keywords: etiology of male infertility, factors decreasing male fertility, male infertility in Algeria

ABSTRACT

The aims of this study were to determine the main etiology of male infertility and to assess the toxic factors responsible for this condition. We conducted a cross section study in a period of one year, starting from January 1st, 2014 to December 31st, 2014, on 320 patients consulting for fertility disorder at the Medical Assisted Procreation Unit (MAP) of Oran, in Western Algeria. The patients were interviewed using questionnaire inquiring about their demographics, general health issues, lifestyles and infertility factors. The results that the average age of patients was 40.39± 7.59 years; more than 73% of them were 35 years of age or older. The infertility was of primary type in 82% of patients; the average duration of infertility was 5.20± 3.79 years. Regarding the different etiology of male infertility, 29% of the patients had an idiopathic cause; 24% were due to varicocele and 22% were linked to genital tract infection. The study showed that toxic factors and life style that may impair male fertility concerned mainly advanced age group of men over 35 years (73.42%), tobacco smokers (70%), overweight men (62%) or occupational exposure to high heat (35.5%). Our conclusion is to educate infertile men so as to raise their awareness to the high risk factors such as toxic factors and lifestyle to enhance the natural fertility. We believe that this will allow better assessment and management of male infertility. We conclude that because of high idiopathic infertility rate, a further study using more patients is necessary.