

# EXPLORATION DE LA FONCTION DE REPRODUCTION (2)

## ASSISTANCE MÉDICALE À LA PROCRÉATION

---

1. Principales causes d'infertilité .....	2
1.1. Définition de l'infertilité .....	2
1.2. Causes féminines.....	2
1.2.1. Facteur ovarien .....	2
1.2.2. Facteur tubaire.....	2
1.2.3. Facteur cervical.....	3
1.2.4. Facteur utérin.....	3
1.3. Causes masculines .....	4
1.3.1. Déficit en spermatozoïdes .....	5
1.3.2. Altération de la mobilité et de la forme des spermatozoïdes .....	5
1.3.3. Éjaculation rétrograde.....	5
1.3.4. Présence d'auto-anticorps anti-spermatozoïdes (ACAS) .....	5
1.3.5. Anomalies du génome .....	6
2. Différentes réponses à l'infertilité .....	7
2.1. Procréation Médicalement Assistée (PMA) ou Assistance Médicale à la Procréation (AMP) ...	7
2.2. Aides du côté féminin.....	8
2.2.1. Stimulation ovarienne et déclenchement de l'ovulation .....	8
2.2.2. Ponction ovocytaire.....	8
2.3. Aides du côté masculin .....	9
2.3.1. Recueil et préparation du sperme.....	9
2.3.1. Technique MACS : tri des spermatozoïdes .....	9
2.4. Aides à la rencontre des gamètes.....	9
2.4.1. Insémination artificielle.....	9
2.4.2. FIV(ETE) .....	10
2.4.3. ICSI/IMSI.....	11
3. Analyses du laboratoire de biologie médicale .....	11
3.1. Dosages hormonaux .....	11
3.2. Dosages biochimiques de métabolites dans le sperme .....	13
3.3. Spermogramme et spermatocytogramme.....	13
3.3.1. Spermogramme .....	13
3.3.2. Spermocytogramme.....	15
3.4. Test Mixed Agglutination Reaction (test MAR) .....	16
3.5. Test post-coïtal (TPC) de Hühner .....	16
ÉTUDE DE CAS : analyse d'un spermogramme.....	18

# 1. Principales causes d'infertilité

## 1.1. Définition de l'infertilité

La probabilité de survenue d'une grossesse au cours d'un mois ou d'un cycle menstruel, chez un couple n'utilisant pas de contraception, est de l'ordre de 20 à 25%.

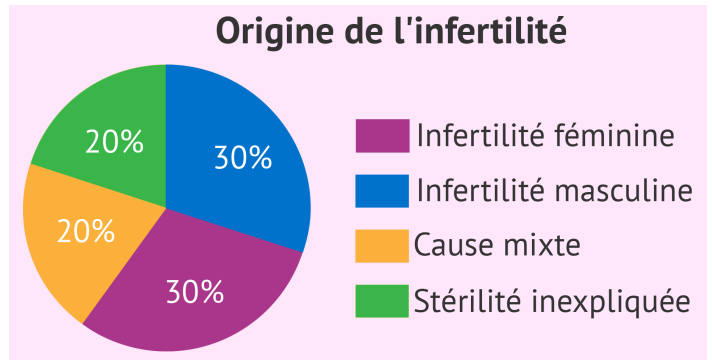
L'**infertilité** se définit comme l'incapacité, pour l'un des conjoints (ou les deux), d'obtenir naturellement un enfant, après **deux ans de rapports sexuels non protégés**.

Il s'agit donc en théorie d'un état « supposé » pré-existant qui cesse de l'être dès que l'on obtient cet enfant.

Si les délais à concevoir sont longs, on parle alors d'**hypofertilité**.

La **stérilité**, elle, définit un état stable d'infertilité puisque, dans ce cas, une grossesse n'est pas possible même sur le long terme, naturellement.

Un certain nombre d'exams, chez l'homme comme chez la femme peuvent conforter la notion de stérilité.



Source : <https://www.invitro.fr/causes-dinfertilite/origine-de-linfertilite-du-couple/>

## 1.2. Causes féminines

### 1.2.1. Facteur ovarien

- **Anovulation** : absence totale d'ovulation
- **Dysovulation** : alternance de cycle avec et sans ovulation

Le diagnostic passe par les courbes de température et les dosages hormonaux...

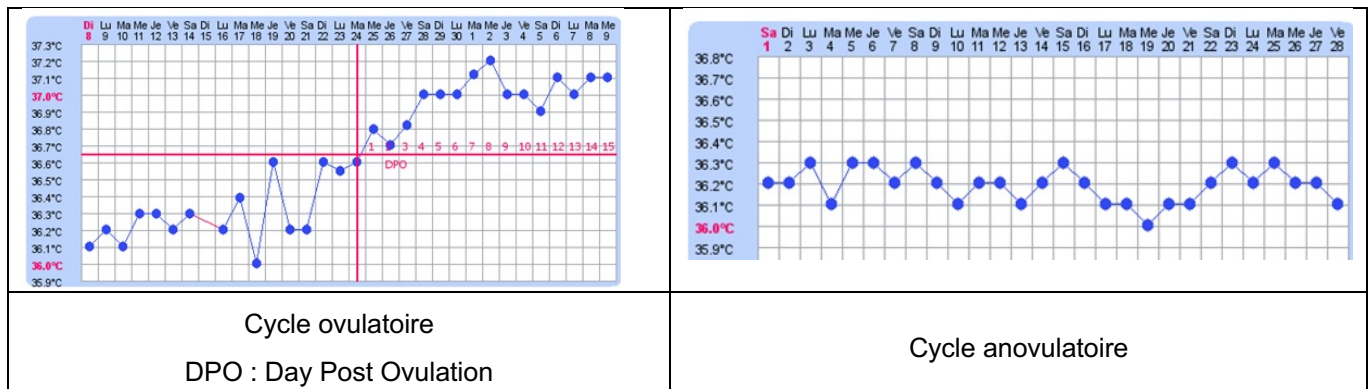


Figure 1 : courbes de température de cycles ovulatoire et anovulatoire

Le système endocrinien est celui en charge de contrôler le cycle ovarien, c'est pourquoi un trouble causé par du **stress**, **obésité**, un **sous-poids**, des problèmes de **thyroïde**, un traitement,... peuvent altérer le fonctionnement normal de l'ovaire.

### 1.2.2. Facteur tubaire

Rôles des trompes de Fallope :

- Permettre la rencontre de l'ovule et du spermatozoïde afin que la fécondation se produise.
- Aider l'embryon à arriver à l'utérus.

Anomalies des **trompes** : altérées ou obturées pour différentes raisons (salpingite, endométriose, grossesses extra-utérines...)

## Quelles sont les bactéries à l'origine d'une salpingite ?

Lorsqu'une salpingite survient après une infection sexuellement transmissible, les bactéries le plus souvent en cause sont :

- Chlamydiae trachomatis (60 % des cas environ) ;
- *Neisseria gonorrhoeae* (ou gonocoque), chez 5 à 10 % des patientes ;
- des mycoplasmes (bactéries très petites comme *Mycoplasma hominis* et *Ureaplasma urealyticum*), dans 5 à 20 % des cas.

Dans les autres cas, la salpingite est due à :

- des entérobactéries vivant dans le tube digestif (dont *Escherichia coli* ou *E. coli*), des entérocoques, ainsi que des streptocoques, des staphylocoques ;
- le bacille de la tuberculose ;
- la bilharzie ou schistosome dans les régions tropicales et intertropicales. Ce ver d'eau douce vivant dans ces zones provoque aussi une infection (bilharziose ou schistosomose) parfois responsable d'une salpingite.

Figure 2 : Causes bactériennes d'une salpingite

<https://www.ameli.fr/assure/sante/themes/salpingite/definition-causes-facteurs-risque>

### 1.2.3. Facteur cervical

Troubles au niveau du col de l'utérus qui rendent impossible le passage des spermatozoïdes jusqu'à l'utérus.

**Anomalies de la qualité de la glaire** dues à des causes hormonales, infectieuses, interventionnelles (conisation).

### 1.2.4. Facteur utérin

- Malformations utérines

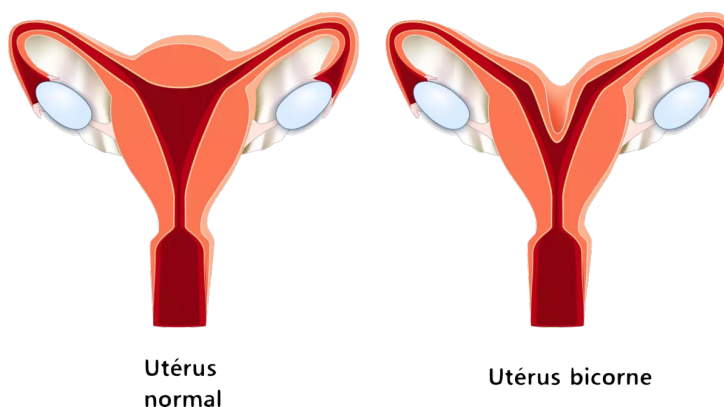


Figure 3 : exemple d'anomalies utérines

- **Endométriose, fibrome (ou myome), polypes :**

**Endométriose** : prolifération de l'endomètre dans des endroits anormaux (ovaires, péritoine, muqueuse intestinal) qui peut provoquer des stérilités mécaniques (obstacle) ou gamétotoxique et embryotoxique par élaboration de substances délétères.

**Fibrome** : tumeur bénigne développées à partir du muscle de l'utérus. Cette affection fréquente chez la femme jeune est liée à des facteurs favorisants comme l'hérédité ou l'importance des sécrétions hormonales (œstrogènes).

**Polype** : excroissance qui se développe sur une **muqueuse** (endomètre)

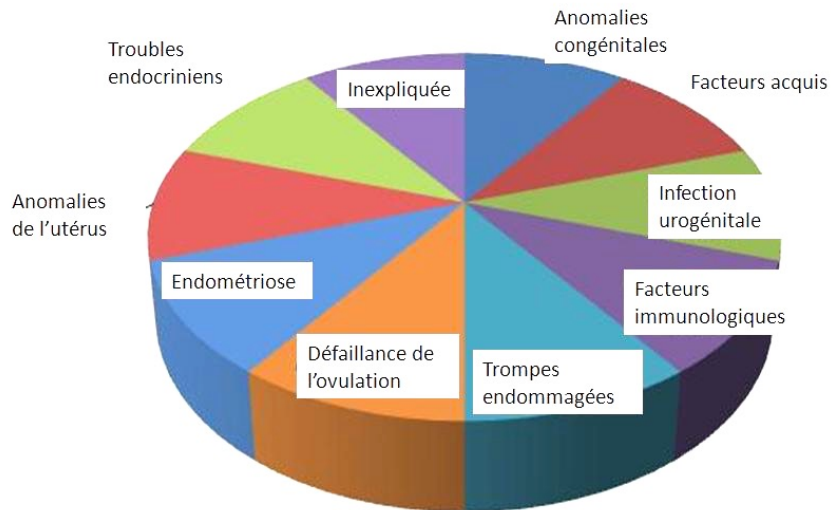


Figure 4 : causes de l'infertilité féminine

<https://www.women-info.com/fr/wp-content/uploads/2015/01/Infertility-11-Female-FR.jpg>

### 1.3. Causes masculines

- **Facteur pré-testiculaire** ou **endocrinien** : troubles hormonaux qui affectent le fonctionnement testiculaire (développement des testicules, des conduits séminifères, la spermatogenèse)
- **Facteur testiculaire** : problème ou défaut des testicules, congénital ou acquis. Les troubles testiculaires **congénitaux** sont souvent une **anomalie génétique**, tandis que les troubles **acquis** peuvent être dus à des médicaments, drogues, infections ou traumatismes
- **Facteur post-testiculaire** : altération des voies séminales (épididyme, canal déférent, urètre)
- **Facteur spermatique** : troubles de la qualité spermatique (mobilité, forme, vitalité, quantité)

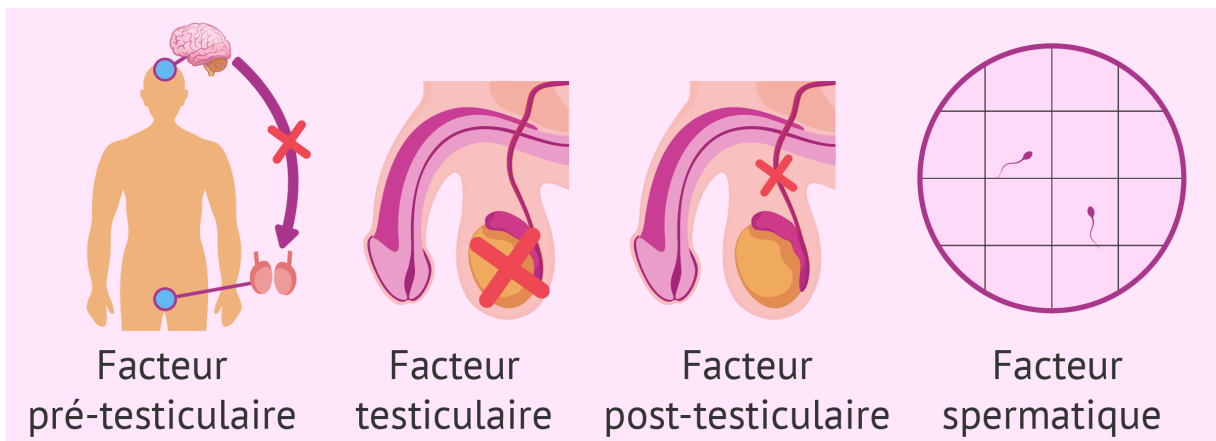


Figure 5 : facteurs de la stérilité masculine

<https://www.invitro.fr/causes-dinfertilitite/les-facteurs-de-la-sterilite-masculine/>

### 1.3.1. Déficit en spermatozoïdes

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) considère que l'éjaculat doit contenir 15 millions de spermatozoïdes par mL pour pouvoir envisager une grossesse de manière naturelle.

Si le nombre de spermatozoïdes est inférieur, on parle d'**oligozoospermie**.

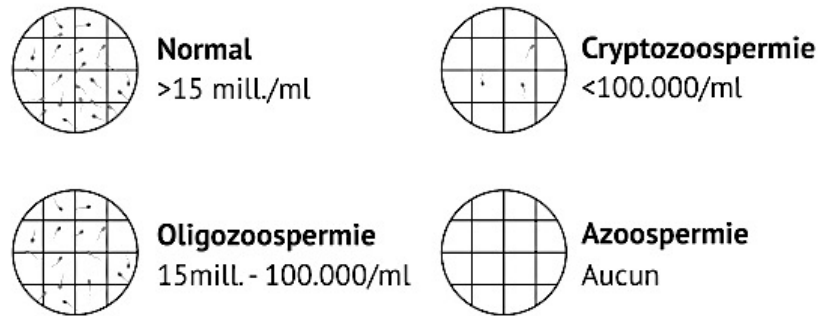


Figure 6 : troubles de la concentration séminale  
<https://pmafertilite.com/anomalies-des-spermatozoïdes/>

#### a. Azoospermie

Elle correspond à une absence de spermatozoïdes dans l'éjaculat.

Les examens biologiques permettront de distinguer :

- **l'azoospermie sécrétoire** (ou **non obstructive**) : absence de fabrication des spermatozoïdes, qui orientera d'emblée vers un sperme de donneur ou une adoption
- **l'azoospermie excrétoire** (ou **obstructive**) : absence d'émission des spermatozoïdes retenus dans les testicules, qui orientera vers une ponction des spermatozoïdes dans les testicules

#### b. Cryptozoospermie

À ne pas confondre avec l'azoospermie.

Dans ce cas, le sperme éjaculé contient moins de 100 000 spermatozoïdes par mL.

### 1.3.2. Altération de la mobilité et de la forme des spermatozoïdes

Le spermogramme peut révéler des oligo-asthéo-térato-spermies modérées. Dans ces cas, le nombre, la mobilité et la proportion de formes normales permettra d'envisager l'une des techniques d'AMP : Insémination Artificielle intraConjugale (IAC), Fécondation *In Vitro* (FIV), *Intra Cytoplasmic Sperm Injection* (ICSI), *Intracytoplasmic Morphologically Selected sperm Injection* (IMSI)

### 1.3.3. Éjaculation rétrograde

L'éjaculation rétrograde correspond à une anomalie qui entraîne un adressage de la grande majorité des spermatozoïdes dans la vessie. Dans un certain nombre de cas, les spermatozoïdes récupérés dans les urines pourront être utilisés pour une tentative d'ICSI, voire de FIV si la récupération est importante et de bonne qualité. Quelquefois, on peut aussi retrouver une petite partie des spermatozoïdes dans l'éjaculat.

### 1.3.4. Présence d'auto-anticorps anti-spermatozoïdes (ACAS)

Les AntiCorps Anti-Spermatozoïdes (ACAS) sont des molécules protéiques qui se fixent sur une certaine zone du spermatozoïde. La reconnaissance des spermatozoïdes par les auto-anticorps entraîne une agglutination qui interfère avec l'activité des spermatozoïdes.

Cette agglutination peut entraîner :

- Une immobilisation des spermatozoïdes (asthénospermie)
- Une diminution de leur capacité à traverser la glaire cervicale
- Une altération de leur capacité à pénétrer l'ovocyte

### **a. Chez l'homme**

Les spermatozoïdes ne sont jamais en contact avec le système immunitaire du sujet. Ainsi, il ne les tolère pas et si cette barrière est rompue, le système immunitaire entre en contact avec les spermatozoïdes, les considère comme « étrangers », et fabrique contre eux des auto-anticorps. Ces anticorps vont se fixer sur les spermatozoïdes, et diminuer leur mobilité et leur pouvoir fécondant en provoquant leur agglutination, qui peut être mise en évidence par le **MAR test**. Si la fécondation peut avoir quand même lieu, naturellement ou par Assistance Médicale à la Procréation, les embryons obtenus ont généralement du mal à se développer et à s'implanter dans l'utérus.

La barrière peut être rompue suite à un traumatisme testiculaire, souvent la cause de l'apparition des anticorps anti-spermatozoïdes n'est pas retrouvée. La principale solution thérapeutique est la FIV avec micro-injection (IMSI).

### **b. Chez la femme**

Les spermatozoïdes sont des corps étrangers. Mais un système complexe de barrières est mis en place par l'organisme féminin pour que les spermatozoïdes ne rentrent jamais en contact avec le système immunitaire de la femme. Si ce système est rompu, il y aura production d'anticorps anti-spermatozoïdes, avec des effets identiques à ceux décrits chez l'homme : diminution de la mobilité, du pouvoir fécondant, et du développement de l'embryon. Le plus souvent, c'est au niveau de la glaire cervicale que les spermatozoïdes doivent traverser que ces anticorps sont présents.

Les Inséminations Intra-Utérines (IIU) doivent être tentées en première intention, quand le sperme du conjoint est normal : la technique permet de franchir la glaire cervicale. En cas d'échec, ou si le sperme du conjoint est altéré, il faut recourir à la Fécondation In Vitro avec ou sans micro-injection (FIV ou ICSI).

## **1.3.5. Anomalies du génome**

Une anomalie du génome (chromosomique ou génique) est parfois en cause, ces anomalies sont transmises, dans certains cas, par les parents. Parmi les causes génétiques actuellement bien connues, on peut citer les anomalies chromosomiques de nombre dont :

- le syndrome de Klinefelter (47 chromosomes, XXY) est la plus courante et de prévalence élevée chez les patients infertiles azoospermiques.
- les micro-délétions du chromosome Y (délétion de nombreux gènes nécessaires à la spermatogenèse).
- les mutations du gène CFTR (*Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator*) qui engendre l'ABCD (Agénésie Bilatérale des Canaux Déférents) et qui est présent dans un quart des azoospermies de type obstructif.
- la mutation du gène codant la Kinase C Aurora (AURKC) aboutit à une production exclusive de spermatozoïdes macrocéphales
- la délétion du gène DPY19L2 induit la globozoospermie (tête ronde sans ou avec résidu d'acrosome)

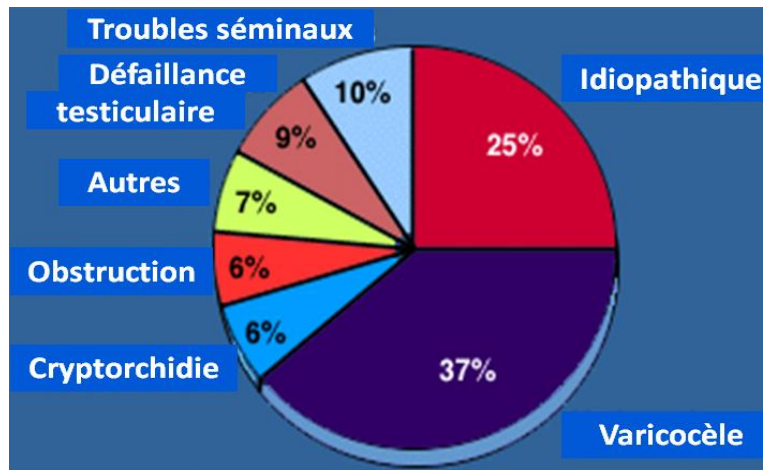


Figure 7 : causes de l'infertilité masculine

<https://www.women-info.com/fr/wp-content/uploads/2015/01/infertility-xx-male.jpg>

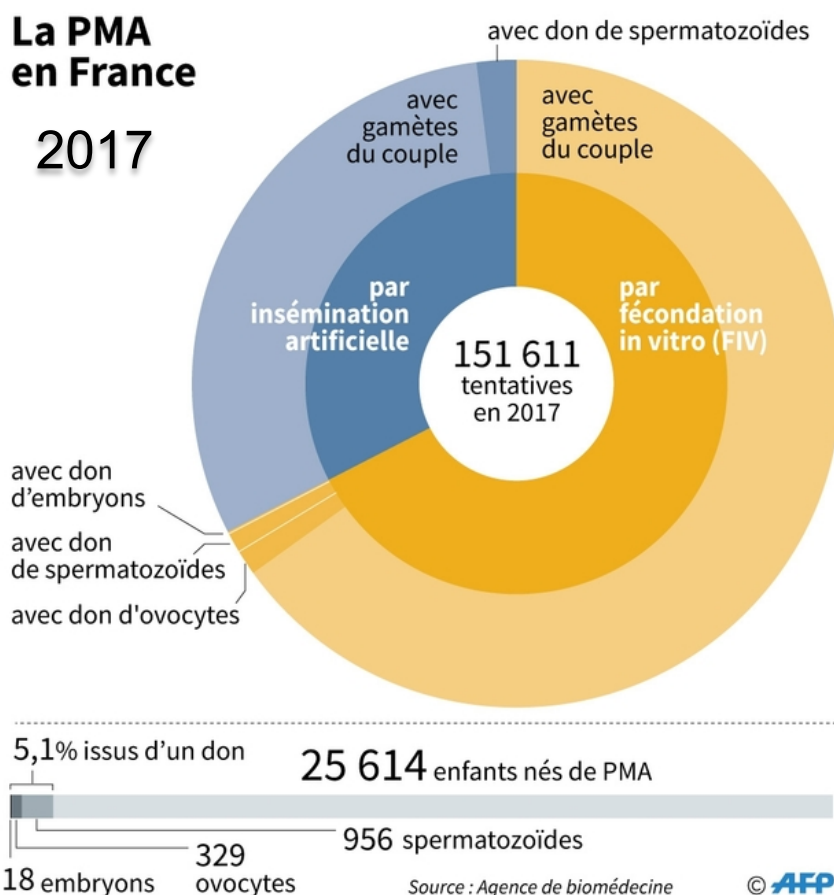
## 2. Différentes réponses à l'infertilité

### 2.1. Procréation Médicalement Assistée (PMA) ou Assistance Médicale à la Procréation (AMP)

La Procréation médicalement assistée (PMA) ou Assistance Médicale à la Procréation (AMP), est un ensemble de techniques médicales encadrées par la Loi n°2004-800 du 6 août 2004 relative à la bioéthique dont les dispositions ont été incluses dans le Code de la Santé Publique. Elle comprend des pratiques cliniques et biologiques permettant la Fécondation *In Vitro* (FIV), le transfert d'embryons et l'insémination artificielle, ainsi que toute technique d'effet équivalent permettant la procréation en dehors du processus naturel (Injection IntraCytoplasmique du Spermatozoïde : ICSI, Injection Magnifiée du Spermatozoïde : IMSI)

La loi du 3 août 2021 élargit la PMA aux couples de femmes et aux femmes seules.

<https://www.vie-publique.fr/loi/268659-loi-2-aout-2021-bioethique-pma>



## 2.2. Aides du côté féminin

### 2.2.1. Stimulation ovarienne et déclenchement de l'ovulation

La stimulation ovarienne consiste à faire mûrir un ou deux follicules jusqu'à son ovulation.

Les indications de la stimulation ovarienne sont :

- dysovulation
- ovaires micropolykystiques (OMPK)
- stade précoce de l'insuffisance ovarienne
- anovulation centrale dans le cadre d'anorexie mentale ou de stress

Afin de stimuler la maturation de plusieurs follicules dans chaque ovaire (contre un seulement pour un cycle normal), un traitement à base d'hormones est prescrit à la femme. Des dosages hormonaux et des échographies sont régulièrement programmés afin de suivre le développement des follicules.

La stimulation ovarienne hormonale consiste à l'injection de FSH (hormone hypophysaire) afin qu'elle agisse directement sur l'ovaire et permette le recrutement, la sélection et la croissance d'un ou deux follicules, jusqu'à leur maturation finale.

Une injection de hCG permet le déclenchement de l'ovulation. Les rapports sexuels sont programmés dans les 24 à 40 h qui suivent le déclenchement. Le taux de grossesse avec stimulation ovarienne varie entre 10 et 15 % par cycle.

La stimulation ovarienne hormonale s'accompagne d'un risque de grossesse multiple et plus rarement d'hyperstimulation ovarienne. Ainsi il n'est pas conseillé de déclencher l'ovulation au-delà de deux follicules mûres et de bien surveiller le cycle par échographie et prise de sang.

### 2.2.2. Ponction ovocytaire

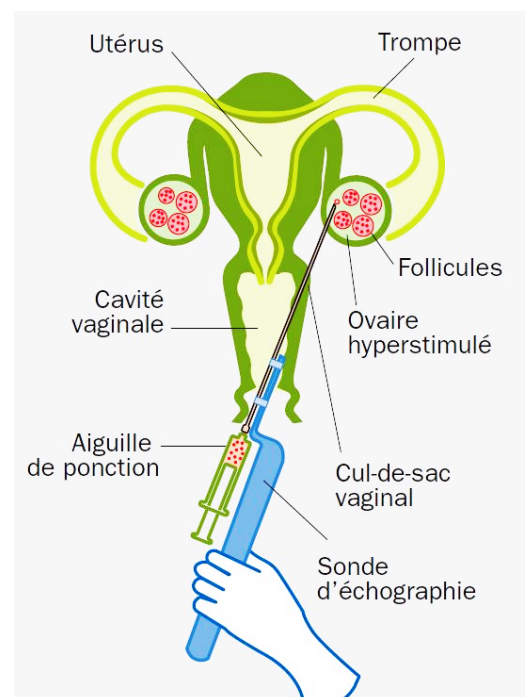
Le prélèvement des ovocytes est organisé au bloc opératoire le surlendemain de l'injection d'hCG (déclenchement de l'ovulation).

Cette ponction des follicules demande une courte hospitalisation parfois une anesthésie locale ou générale.

Le médecin visualise, par échographie, les follicules mûrs qui sont très visibles à la surface de l'ovaire. Il guide la pointe d'une aiguille adaptée sur une sonde endovaginale à travers la paroi du vagin vers les ovaires. Le contenu des follicules est aspiré dans une seringue.

Figure 8 : ponction ovocytaire

<https://www.laboratoire-parly2.com/wp-content/uploads/2020/08/FIV-abm.jpg>





## 2.3. Aides du côté masculin

### 2.3.1. Recueil et préparation du sperme

Le sperme du compagnon est recueilli par masturbation puis préparé le jour-même de l'insémination. La préparation du sperme est nécessaire afin de reproduire les modifications subies lors d'un rapport sexuel, quand les spermatozoïdes traversent la glaire cervicale. La biologiste va séparer le plasma séminal des spermatozoïdes, éliminer les débris cellulaires et autres cellules et ne garder que les spermatozoïdes mobiles et normaux.

### 2.3.1. Technique MACS : tri des spermatozoïdes

La technique MACS (*Magnetic Activated Cell Sorting*) est une technique qui permet la sélection immuno-magnétique des spermatozoïdes sains dans le sperme frais ou congelé. Elle permet l'élimination des spermatozoïdes présentant des marqueurs apoptotiques, destinés à mourir.

Au cours de l'apoptose, la phosphatidylsérine passe du feuillet interne de la membrane plasmique au feuillet externe. Ce phospholipide est capable de fixer l'annexine V.

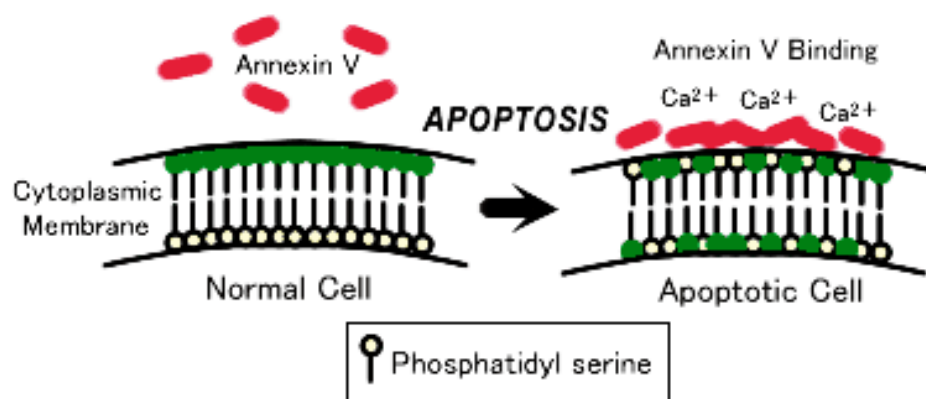


Figure 9 : modification de la répartition membranaire de la PS au cours de l'apoptose

<https://www.biocat.com/cell-biology/apoptosis/apoptosis-detection-phosphatidylserin-annexin-based>

La technique repose sur l'utilisation de microbilles colloïdales magnétiques recouvertes d'annexine V se liant spécifiquement à la phosphatidylsérine. Ainsi, les spermatozoïdes altérés présentant cette translocation dans la membrane s'uniront à ces microsphères. À travers l'utilisation d'un intense champ magnétique, les microbilles recouvertes de spermatozoïdes en apoptose seront retenues dans la colonne. L'éluat contient alors des spermatozoïdes viables.

<https://www.youtube.com/watch?v=OIY0-1Y3WRc>

## 2.4. Aides à la rencontre des gamètes

### 2.4.1. Insémination artificielle

L'insémination artificielle est une technique de PMA qui ne peut être pratiquée que si l'appareil génital de la femme (cavité utérine, trompes de Fallope, ovaires) ne présente pas d'anomalie. La principale condition est la perméabilité des trompes. L'insémination s'effectue habituellement avec le sperme du conjoint. Cette technique de procréation est pratiquée dans de nombreux pays industrialisés et est autorisée aux couples hétérosexuels, homosexuels de femme et aux femmes seules en France depuis août 2021. De nombreux couples de femmes homosexuelles avaient recours à l'« insémination artisanale » avant la promulgation de cette loi.

Le médecin gynécologue dépose à l'aide d'un fin cathéter les spermatozoïdes dans la cavité utérine (IIU : **Insémination Intra-Utérine**), plus rarement au niveau du col de l'utérus (IIC : **Insémination Intra-Cervicale**). Aux spermatozoïdes ensuite de faire leur travail : remonter l'utérus puis les trompes, pour y rencontrer l'ovocyte expulsé.

## 2.4.2. FIV(ETE)

La Fécondation *In Vitro* (Et Transfert d'Embryon) est une technique de PMA.

Cette technique a pour objectif de recréer en laboratoire les différentes étapes de la fécondation naturelle tout en maximisant les chances (recueil de plusieurs ovocytes) et en les optimisant (sélection des spermatozoïdes et des embryons).

Pour l'essentiel, la FIV consiste à mettre en contact dans une boîte de Petri (*in vitro*) au laboratoire, un ovocyte et des spermatozoïdes susceptibles de le féconder. Le recueil du sperme est réalisé par masturbation au laboratoire comme pour une insémination artificielle. Le recueil des ovocytes est plus complexe, car il nécessite une ponction des ovocytes au niveau des ovaires. Les gamètes : ovocytes et spermatozoïdes sont ensuite mis en contact *in vitro*.

## Déjà 30 bébés éprouvettes

Nous sommes plus ou moins familiarisés avec la notion de bébé éprouvette depuis la naissance, en juillet 1978, de Louise Brown en Grande-Bretagne. Cette naissance était le résultat des travaux de l'équipe maintenant célèbre formée par le docteur Robert Edwards, biologiste, et du gynécologue Patrick Steptoe.

A l'époque, le succès avait été accueilli avec une admiration parfois mitigée de scepticisme, voire d'hostilité.

Ce premier résultat avait, à tout le moins, le mérite de montrer que la fécondation *In vitro* était possible dans l'espèce humaine. Et comme, depuis, quelque trente bébés sont nés après avoir été conçus de la même façon, on sait maintenant que la méthode est reproductible. La plupart des bébés éprouvettes sont nés en Grande-Bretagne et en Australie. Un autre est né aux États-Unis... et maintenant un en France. De nombreuses équipes dans le monde travaillent sur ce projet. En Autriche, aux États-Unis, en Suède, en Allemagne et au Danemark, et trois en France...

La naissance du premier bébé éprouvette français, à Clamart, couronne les travaux de l'équipe du professeur Émile Papiernik (Professeur René Frydman et Jacques Testard) de l'hôpital Antoine-Béclère. Une autre naissance prochaine est attendue en France, à l'hôpital de Sèvres, par l'équipe du docteur Jean Cohen (service du professeur Lotredo).

Figure 10 : encadré paru dans *le Figaro* le 25 février 1982

Une fois que s'est produite la fécondation, on laisse la cellule-œuf se diviser *in vitro* pendant 2 à 5 jours avant de le transférer dans l'utérus de la femme où il devra s'implanter. Pour disposer de plusieurs embryons à la fois, il faut forcer la nature puisque, naturellement, un seul follicule arrive à maturation à chaque cycle si bien qu'il n'y a qu'un seul ovocyte fécondable. Pour obtenir plusieurs ovocytes au cours d'un même cycle on recourt à la stimulation ovarienne

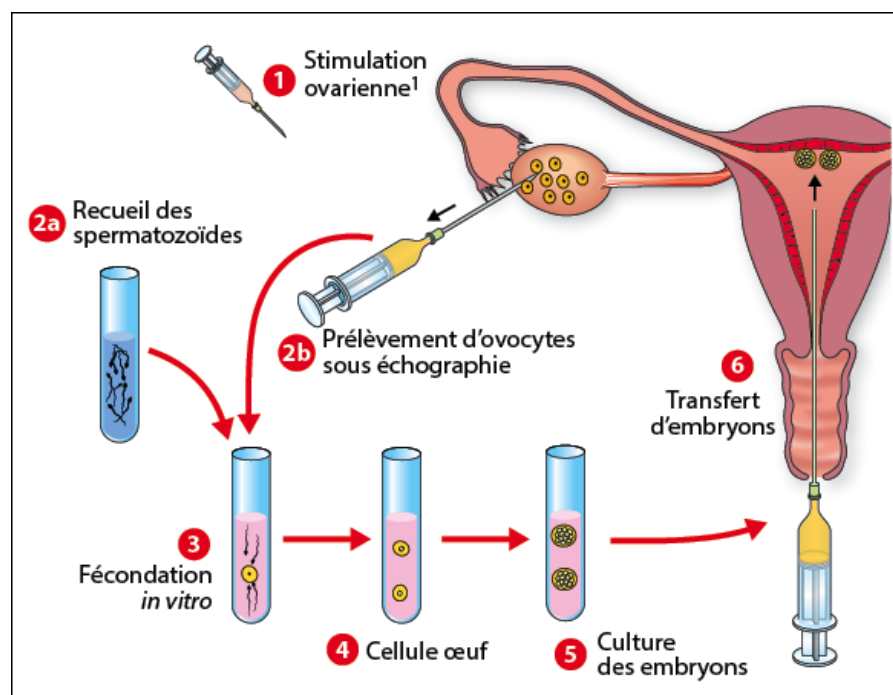


Figure 11 : Principe de la FIVETE

<https://www.annabac.com/annales-bac/sterilite-feminine-et-fivete>

### 2.4.3. ICSI/IMSI

L'Injection IntraCytoplasmique de Spermatozoïde (ICSI) est une technique de PMA comprise dans le traitement de Fécondation *In Vitro* (FIV) qui a permis d'obtenir des grossesses chez des couples diagnostiqués avec un facteur masculin sévère. L'homme fournit un échantillon de sperme ou une biopsie du testicule peut être réalisée pour extraire et sélectionner les meilleurs spermatozoïdes qui seront utilisés pour féconder les ovocytes.

L'IMSI consiste à sélectionner les spermatozoïdes à l'aide d'un fort grossissement (8000 grossissements au lieu de 400 pour l'ICSI classique) et nous permet de visualiser des structures qui jusqu'ici passaient complètement inaperçues. De récentes études montrent que la sélection morphologique des spermatozoïdes a un impact sur les taux de réussite des techniques de micro-injection spermatique. Sélectionner un spermatozoïde avec une **tête sans vacuoles** et morphologiquement correct permet d'augmenter les taux de fécondation, le nombre d'embryons de bonne qualité et, par conséquent, d'obtenir de meilleurs taux d'implantation.

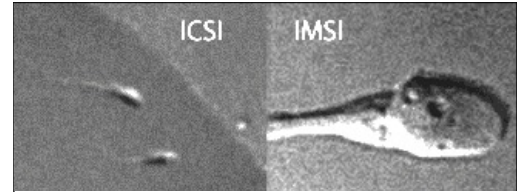
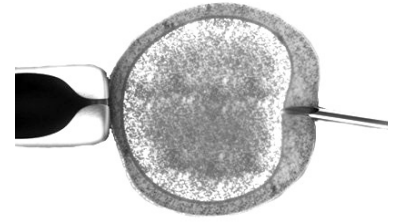


Figure 12 : spermatozoïde visualisé en ICSI et en IMSI (grossissement 400 et 8000)

<https://reprod.ru/eng/ivf-program/imsi-for-icsi/>

<https://www.youtube.com/watch?v=byoKZiPRaOU>

## 3. Analyses du laboratoire de biologie médicale

### 3.1. Dosages hormonaux

Les différentes hormones qui peuvent être dosées sont : GnRH, FSH, LH, testostérone, œstradiol, progestérone, hormone anti-müllérienne, inhibine B,...

L'hormone antimüllérienne (AMH) est un marqueur quantitatif fiable de la réserve ovarienne. Son dosage renseigne de façon précoce sur un éventuel problème de fertilité. Ainsi, le dosage de l'AMH donne une indication essentielle sur la quantité du stock d'ovocytes, et par la même sur le potentiel de fertilité. Un dosage de l'AMH est donc systématiquement réalisé dans le cadre d'un bilan d'infertilité afin d'évaluer la réserve ovarienne, parallèlement au dosage de trois autres hormones (FSH, estradiol et inhibine B) et au comptage des follicules antraux (CFA) par échographie endo-vaginale.

L'inhibine B (INHB) est une hormone du groupe des TGF  $\beta$ . Chez la femme, l'inhibine B est produite sous le contrôle de la FSH par les cellules de la granulosa des petits follicules antraux de moins de 8 mm et par les follicules pré-antraux. Ces follicules appartiennent à la cohorte où sera recruté le follicule dominant. Le dosage de l'inhibine B a récemment été introduit pour évaluer la réserve ovarienne. Mais son dosage ne repose pas sur un consensus international.

Les dosages sont réalisés par méthode ELISA de type sandwich ou par couplage HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) / spectrométrie de masse.

Ovaires	Normal	Classe 1	Classe 2	Classe 3
F. Antraux				
Estradiol	Normal	Bas	Normal	Elevé
FSH	Normale	Basse	Normale	Elevée
LH	Normale	Basse	Normale à Elevée (SOPK)	Elevée
AMH	Normale	Normale à Elevée +	Normale à Elevée ++	Basse à +++

Figure 13 : relation entre le comptage des follicules centraux (CFA) et les dosages hormonaux

[http://www.fivfrance.com/page\\_ana04.html](http://www.fivfrance.com/page_ana04.html)

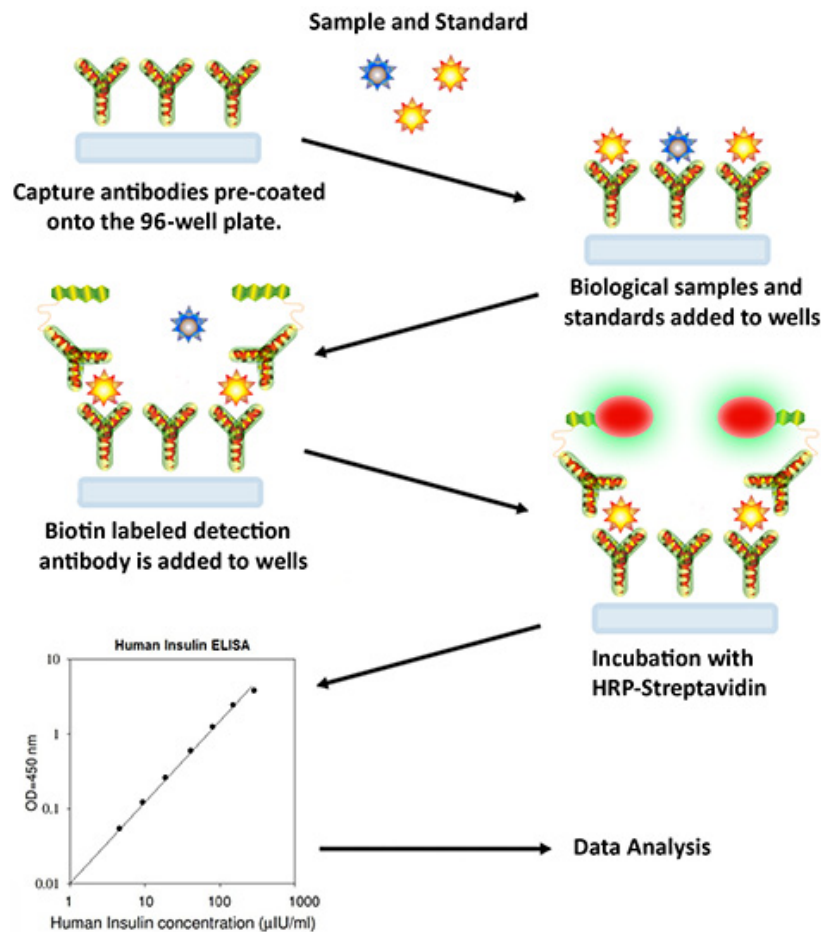


Figure 14 : principe du dosage de la FSH par ELISA sandwich

<https://www.sigmaldrich.com/technical-documents/protocols/biology/elisa-protocols.html>

Phases	Folliculaire	Ovulatoire	Lutéale	Ménopause
FSH (U·L <sup>-1</sup> )	2,5 à 12,5	5 à 21	1,5 à 7	20 à 130
Œstradiol (en pg·mL <sup>-1</sup> )	20 à 160	90 à 500	50 à 210	0 à 50
LH (U·L <sup>-1</sup> )	2,5 à 12,5	15 à 95	1 à 11	1,5 à 8,5
Prolactine (µg·L <sup>-1</sup> )	< 20			
Progestérone	0,2 à 1,5	0,8 à 3	2 à 30	

Figure 15 : valeurs de référence des dosages hormonaux en fonction de la période du cycle

[http://www.fivfrance.com/page\\_1ValeursMadame.html](http://www.fivfrance.com/page_1ValeursMadame.html)

### 3.2. Dosages biochimiques de métabolites dans le sperme

Le dosage des marqueurs des différentes sécrétions masculines peut être réalisé.

Origine de la sécrétion	Marqueurs	Valeurs de référence (OMS, 2010)
Épididyme	(L-carnitine) Alpha-glucosidase	≥ 20 mU/éjaculat
Prostate Sécrétion acide pH 6,4	Acide citrique Zinc (Phosphatases alcalines)	≥ 52 μmol/éjaculat ≥ 2,4 μmol/éjaculat
Vésicule séminale Sécrétion alcaline pH 8,2	Fructose	≥ 13 μmol/éjaculat

Figure 16 : marqueurs et valeurs de référence des sécrétions masculines

### 3.3. Spermogramme et spermatocytogramme

Ces deux examens sont pratiqués afin de réaliser un bilan d'infertilité masculine.

#### 3.3.1. Spermogramme

Lors de l'analyse du sperme, on utilise deux formes d'examen : l'**examen macroscopique** et l'**examen microscopique**.

En général, il existe des paramètres de référence, bien qu'ils varient souvent en fonction du laboratoire et de la clinique.

L'analyse macroscopique est la première à être réalisée, sur l'échantillon frais, juste après le recueil du sperme. Elle sert à évaluer les caractéristiques les plus basiques du sperme :

#### a. Examen macroscopique

\* **Volume de l'éjaculat**

= volume de sperme expulsé lors de l'éjaculation en mL.

\* **Liquéfaction**

Après le repos de l'échantillon pendant environ 20 minutes, le sperme devient moins compact et l'examen microscopique peut commencer. Le liquide séminal coagule rapidement après l'éjaculation puis il se liquéfie secondairement grâce aux enzymes prostatiques.

\* **Viscosité**

Quand l'échantillon est fortement visqueux, cela peut être dû à un dysfonctionnement prostatique, à une éjaculation fréquente, et/ou à un état psychologique particulier du patient. Cette augmentation de viscosité ne suppose pas une cause directe de l'infertilité, mais peut affecter les évaluations du sperme, tel que sa concentration et sa mobilité.

\* **Couleur**

Le sperme est de couleur blanc-grisoyant et parfois un peu jaune. S'il est légèrement transparent, cela peut être dû à la présence de leucocytes dans l'éjaculat, bien qu'à posteriori il sera examiné au microscope.

\* **pH**

Le pH est légèrement basique (entre 7,2 et 8,0). La variation du pH peut indiquer la présence d'une infection.

## b. Examen microscopique

Au niveau microscopique, les aspects observés les plus importants sont :

### \* **Concentration de spermatozoïdes**

La concentration de spermatozoïdes dans l'éjaculat, qui selon l'OMS est normale à partir de 39 millions de spermatozoïdes/éjaculat.

### \* **Mobilité spermatique**

Elle correspond à l'analyse de la capacité de mouvement des spermatozoïdes. En général, elle se mesure par deux valeurs :

- le mouvement total (tous les spermatozoïdes qui sont en mouvement) > 40 %
- la mobilité progressive (les spermatozoïdes bougent et avancent) > 32 %.

### \* **Vitalité > 58 %**

Elle est évaluée par une coloration à l'éosine dans le cas de spermatozoïdes immobiles nombreux afin de vérifier s'ils sont morts ou juste immobiles.

Les spermatozoïdes morts ont des perforations et des trous dans leurs membranes, ils sont donc perméables au colorant et se teintent. Les spermatozoïdes vivants ne seront pas colorés puisqu'ils ont la membrane intacte ce qui empêche la coloration.

### \* **Morphologie**

Le spermatozoïde doit être de forme typique. La tête ovale, le cou et la queue du spermatozoïde sont analysés. Selon l'OMS, un échantillon de morphologie normal réunit au moins 4 % des spermatozoïdes de forme normale, sans anomalies sur aucune partie.

### \* **Présence de leucocytes**

Il est normal de trouver d'autres types de cellules, comme des leucocytes ou des cellules épithéliales. Dans des échantillons où la présence de leucocytes est élevée, on suspecte la présence d'infection.

Remarques :

La présence d'agglomérats de spermatozoïdes à la surface des leucocytes, témoin d'une possible infection du sperme.

La présence d'agglutinats de spermatozoïdes les uns sur les autres, le plus souvent due à la présence d'auto-anticorps anti-spermatozoïdes (présence anormale).

L'OMS a publié en 2010 des valeurs spermatiques de référence, en-dessous desquelles le spermogramme est considéré comme anormal.

<b>NORMES OMS 2010</b>	<b>VALEURS DE RÉFÉRENCE</b>	<b>DÉFINITION DE L'ANOMALIE</b>	
Volume d'éjaculat	≥ 1,5 mL (2 à 6 jours d'abstinence)	< 1,5 mL :	hypospermie
		> 6 mL :	hyperspermie
Numération	≥ 15.10 <sup>6</sup> spz /mL ≥ 39.10 <sup>6</sup> spz/éjaculat	< 15.10 <sup>6</sup> /mL	oligospermie
		> 200.10 <sup>6</sup> /mL	polyspermie
		0 spz /mL	azoospermie
Mobilité spermatique Totale Progressive	> 40 % > 32 %	< 20 à 30 %	asthénospermie
Vitalité	≥ 58 %		
Leucocytes	< 10 <sup>6</sup> /mL	> 10 <sup>6</sup> /mL	leucospermie
Formes typiques	> 4 %	< 4 %	tératospermie
pH	7,2 à 8,0		

Figure 6 : valeurs de référence d'un spermogramme et anomalies associées (OMS, 2010)

### c. Capacitation et récupération des spermatozoïdes mobiles (REM)

La récupération des spermatozoïdes mobiles est un examen complémentaire au spermogramme. Il consiste à séparer les spermatozoïdes en fonction de leur mobilité après la capacitation spermatique.

La capacitation spermatique est un processus naturel se déroulant tout le long du tractus reproducteur féminin conférant au spermatozoïde la capacité à féconder l'ovocyte.

Pour réaliser la capacitation spermatique, on procède au lavage de l'échantillon de sperme par **gradient de densité** ou par **swim-up**.

Les spermatozoïdes se séparent du liquide séminal. Ils se retrouvent en surface par la technique de *swim-up* et au fond du tube par la technique des gradients de densité. Ces techniques permettent d'obtenir une suspension concentrée en spermatozoïdes mobiles.

On considère qu'un échantillon est normal quand il a un nombre de spermatozoïdes à mobilité progressive (rapide a et lente b) supérieur à 3 à 5 millions.

#### 3.3.2. Spermocytogramme

Le spermocytogramme évalue la morphologie des spermatozoïdes.

Depuis 2010, l'OMS a retenu la méthode dite des « critères stricts » proposée par KRUGER. L'analyse s'effectue généralement sur l'observation de 100 ou 200 spermatozoïdes, fixés et colorés sur lame, au grossissement  $\times 1000$ .

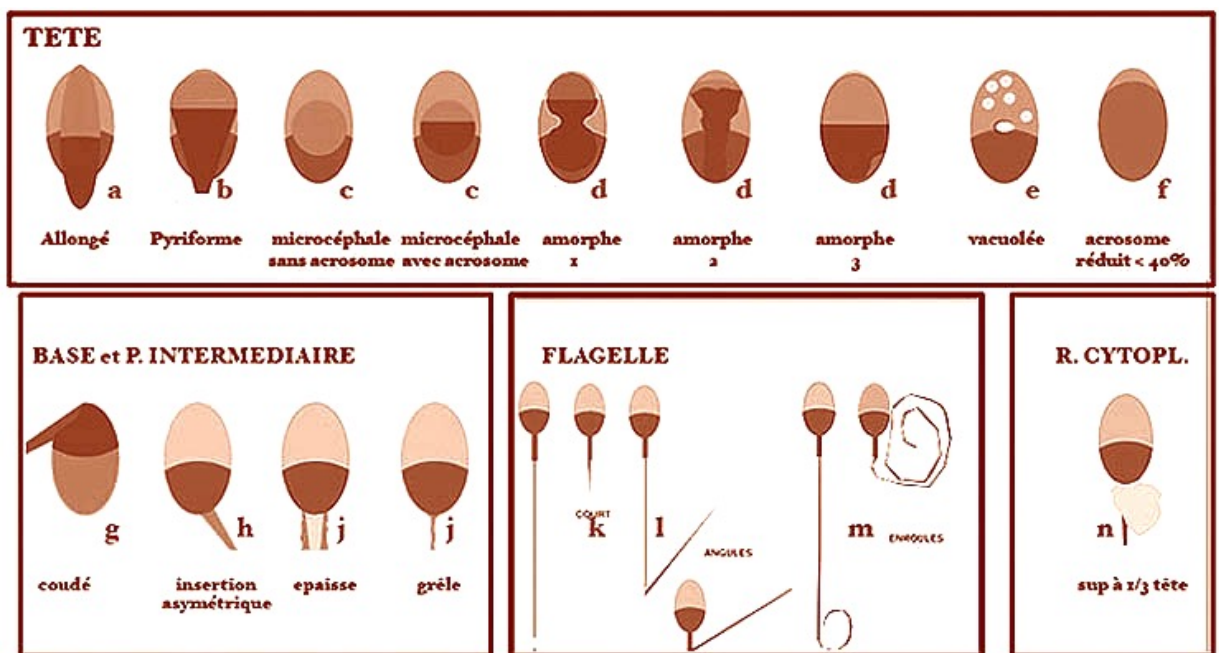


Figure 6 : critères de description des différentes formes de spermatozoïdes

[http://fivfrance.com/page\\_spermocytogramme.html](http://fivfrance.com/page_spermocytogramme.html)

Les formes typiques doivent représenter 4 % des spermatozoïdes totaux (OMS, 2010).

<https://www.myferti.com/article-fertilite-amp-pma-fiv/14308/Spermogramme-et-spermocytogramme-comment-interpr%C3%A9ter-la-qualit%C3%A9-du-sperme-%3F>

### 3.4. Test Mixed Agglutination Reaction (test MAR)

Il permet la détection des anticorps anti-spermatozoïdes (ACAS) qui sont des immunoglobulines de classes A et G. Les IgA semblent être responsables de l'infertilité immunologique (environ 8 % des cas d'infertilité masculine). Mais la présence d'IgA en absence d'IgG est très rare, ce qui permet une détection de routine basée sur les IgG anti-spermatozoïdes. En cas de présence d'anticorps IgG, il est recommandé de procéder à une détection des anticorps IgA.

Des globules rouges de mouton ou des particules de latex recouvertes d'anticorps monoclonaux anti-Ig G ou Ig A humaines sont mélangés avec le sperme à analyser. S'il y a agglutination entre les particules et les spermatozoïdes mobiles, le sperme contient alors des anticorps anti-spermatozoïdes.

Si 10 à 50 % des spermatozoïdes mobiles adhèrent aux particules, on peut suspecter une infertilité immunologique.

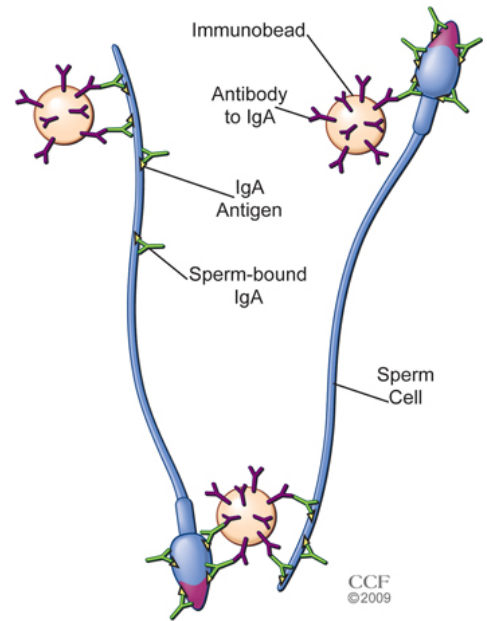


Figure 17 : test MAR

[http://www.brazjurol.com.br/september\\_october\\_2012/Hamada\\_576\\_594.htm](http://www.brazjurol.com.br/september_october_2012/Hamada_576_594.htm)

### 3.5. Test post-coïtal (TPC) de Hühner

Un test post-coïtal de Hühner peut être réalisé pour analyser :

- la présence de spermatozoïdes dans la glaire cervicale de la femme après un rapport sexuel et d'en apprécier la mobilité et la survie.
- la quantité et la qualité de la glaire, ainsi que la présence d'anticorps anti-spermatozoïdes d'origine féminine ou masculine.

Ce test se fait à un moment bien précis du cycle, généralement en période pré-ovulatoire (48 h avant l'ovulation, moment où la glaire est la plus perméable aux spermatozoïdes).

Pour obtenir un résultat optimal, ce test doit être réalisé après 2 ou 3 jours d'abstinence.

La glaire devra être prélevée à l'endroit où elle sera analysée (soit au laboratoire d'analyse, soit chez le gynécologue s'il dispose du matériel nécessaire à l'examen), 6 à 12 heures après un rapport.

Ce prélèvement n'est pas douloureux et se déroule comme un examen gynécologique banal avec mise en place d'un spéculum.

Deux types d'analyses sont réalisées sur le prélèvement :

- **Analyse de la qualité et de la quantité de la glaire cervicale.** Un score de Insler est établi. Si celui-ci est insuffisant, une supplémentation en œstrogènes ou l'administration d'un inducteur de l'ovulation peuvent améliorer la qualité de cette glaire.
- **Analyse de la quantité et de la mobilité des spermatozoïdes.** Normalement, on doit observer 5 à 10 spermatozoïdes mobiles par champs. Un mauvais résultat doit imposer la réalisation d'un spermogramme et la recherche d'anticorps anti-spermatozoïdes (qui peuvent tuer ces derniers, alors que les spermatozoïdes et la glaire sont normaux).

En cas de mauvais résultat du test, on propose un nouveau test après administration d'un inducteur de l'ovulation à la femme.



	0	1	2	3
Ouverture du col	Fermé	Entrouvert	Ouverte	Béant
Abondance de la glaire	Nulle	Minime (+)	Moyenne (++)	Fontaine (+++)
Filance	Nulle	1 à 4 cm	5 à 8 cm	> 8 cm
Cristallisation	Nulle	Linéaire	Partielle	Complète

Figure 18 : score de Insler (0 à 12)

Un score d'Insler est : nul : entre 0 et 3 ; insuffisant : entre 4 et 7 ; bon : entre 8 et 10 ; excellent : entre 11 et 12

[http://www.aly-abbara.com/livre\\_gyn\\_obs/termes/glaire\\_cervicale\\_inslere\\_huner\\_croise.html](http://www.aly-abbara.com/livre_gyn_obs/termes/glaire_cervicale_inslere_huner_croise.html)

Test effectué environ 8 heures après un rapport

Jour du cycle ..... : 15<sup>ème</sup>  
 Nombre de jours d'abstinence (conjoint)..... : 15 jour(s)  
 Etat du col ..... : Ouvert  
 Durée du cycle précédent ..... : 28 jour(s)  
 Type de cycle ..... : Régulier  
 Cycle sans traitement.

**CARACTERES DE LA GLAIRE**

Abondance ..... : Normale  
 Transparence ..... : Normale  
 Filance ..... : Normale  
 Cristallisation ..... : En feuille de fougère  
 Viscosité ..... : Glaire de viscosité intermédiaire  
 Cellularité..... : 0 Cellules par champ  
 pH ..... : 7,1


**EVALUATION GLOBALE DE LA GLAIRE: SCORE D'INSLER 11 sur 15**  
 SCORE D'INSLER (modifié MOGHISSI, normes OMS) favorable si >10

**NUMERATION DES SPERMATOZOÏDES PAR CHAMP**

	<i>Spermatozoïdes</i>	<i>Cul de sac</i>	<i>Exocol</i>	<i>Endocol</i>
Total	7	4	5	
Immobiles	7	4	1	
Mobiles sur place (C)	0	0	3	
Progressifs rapides + lents (A+B)	0	0	1	

**Détermination du score d'Insler**

Ouverture du col : ouvert 2  
 Abondance de la glaire : normale 2  
 Filance : normale 2  
 Cristallisation : 3  
 pH entre 6,5 et 8,5 : 2  
 11/15



## ÉTUDE DE CAS : ANALYSE D'UN SPERMOGRAMME

Monsieur X effectue un spermogramme (examen permettant l'analyse du sperme) afin de pouvoir être donneur de sperme pour d'éventuelles fécondations *in vitro*. Quelques résultats de cet examen sont rassemblés ci-dessous :

Examen effectué le 18/05/.. vers 10 h 30 après 7 jours d'abstinence sexuelle. Recueil effectué au laboratoire.		
<b>Éjaculat</b>	Volume (mL)	8,5
	pH	7,7
	Viscosité	Normale
	Numération des spermatozoïdes (10 <sup>6</sup> /mL)	87,0
<b>Mobilité (%)</b>	<b>Après 30 minutes</b>	<b>Après 3 heures</b>
Progressive et rapide	75	75
Progressive et lente	0	0
Non progressive	5	5
Immobile	20	20
<b>Vitesse (mm/min) : 3</b>		
<b>Vitalité : 93 % de formes vivantes</b>		
<b>Agglutinats spontanés : absence</b>		
Sur 100 spermatozoïdes observés, on a relevé 68 formes typiques et 32 formes atypiques.		
<b>Détail des atypies (en pourcentage)</b>		
<b>Tête</b>	<b>Pièce intermédiaire</b>	<b>Flagelle</b>
Allongée	0	Reste cytoplasmique
Amincie	0	Angulation
Microcéphale	2	Grêle
Macrocéphale	2	Absent
Dupliquée	0	<b>Autres anomalies</b>
Acrosome anormal	18	Flagelles isolés
Base irrégulière	0	Cellules en lyse
		Cellules germinales
		Leucocytes
		Autres cellules
<b>Index d'anomalies multiples : 1,31</b>		
<b>Conclusion : normalité des paramètres spermatiques étudiés</b>		

Q1. **Calculer** le nombre de spermatozoïdes contenus dans cet éjaculat.

Q2. **Calculer** le nombre et le pourcentage de spermatozoïdes potentiellement féconds.

Q3. Sachant que le trajet que doivent effectuer les spermatozoïdes depuis le vagin jusqu'à l'ovocyte est d'environ 15 cm, **calculer** le temps minimal mis par les spermatozoïdes pour effectuer ce trajet.

Sur tous les spermatozoïdes émis au cours de l'éjaculation, environ 80 % ne parviennent pas à franchir le col de l'utérus, 50 % de ceux restants se dirigent vers la trompe utérine où il n'y a pas d'ovocyte, et environ 70 % de ceux engagés dans la « bonne » trompe utérine ne disposent d'une mobilité suffisante pour atteindre l'ovocyte.

Q4. **Calculer** le nombre et le pourcentage (par rapport au nombre total) de spermatozoïdes qui parviennent à proximité de l'ovocyte.