RÉPUBLIQUE DU BÉNIN

--*--

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

----**

UNIVERSITÉ D'ABOMEY- CALAVI

----**

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA SANTÉ

--*--**

UNITÉ DE FORMATION ET DE RECHERCHE EN MEDECINE

Année : **2023** N°**2632**

QUALITÉ NUCLÉAIRE DES GAMÈTES CHEZ LES HOMMES INFERTILES DANS TROIS LABORATOIRES DE COTONOU EN 2023

THESE

Présentée et soutenue publiquement pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MEDECINE

DIPLOME D'ETAT

Par :

Houéfa Marina Syntyche DEGBELO

Née le 19 juillet 1997 à Cotonou (Bénin)

Directeur de thèse
MCA A. Simon AZONBAKIN
Histologie- embryologie et cytogénétique

Co-Directeurs de thèse
Dr Jean-Paul DOSSOU
Chercheur au CERRHUD

Dr Marius ADJAGBA
Chercheur à l'ISBA

Président du jury
Pr Anatole LALEYE

Membre du jury
MCA Falilatou SEIDOU

MCA Inès Magloire Dodji YEVI

MCA A. Simon AZONBAKIN

Année académique : 2022-2023

REPUBLIQUE DU BENIN
*****
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE D'ABOMEY-CALAVI

FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE
****

N°2187 /2023/UAC/FSS/VD-Ecoles/VD-UFR Pharma/VD UFR Méd/SGE/CSRH/SA

UNIVERSITE D'ABOMEY-CALAVI FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE

NOVEMBRE 2023

Université d'Abomey - Calavi
LE DOYEN
FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT ET ASSOCIES

DOYEN : Professeur AVAKOUDJO Josué Dejinnin Georges

VICE-DOYEN U.F.R Médecine : Maître de Conférences Agrégé VODOUHE Ulrich Bidossèssi

VICE-DOYEN U.F.R Pharmacie : Maître de Conférences Agrégé GANFON Medessou Yowel Habib

VICE-DOYENNE /ECOLES : Professeur AZON KOUANOU Angèle

Année : 2023-2024 (version novembre 2023)

PROFESSEURS TITULAIRES

1.	Dr ADJIBABI Wassi	ORL-Chirurgie Cervico Faciale
2.	Dr MEHINTO Delphin Kuassi	Chirurgie Viscérale
3.	Dr LALEYE Anatole O. A	Histologie-Embryologie-Cytogénétique
4.	Dr AMOUSSOU-GUENOU Marcellin Kuassi	Biophysique, Médecine Nucléaire
5.	Dr FIOGBE Michel Armand	Chirurgie Pédiatrique
6.	Dr HANS-MOEVI Aristote	Orthopédie -Traumatologie
7.	Dr KPADONOU Toussaint Godonou	Médecine Physique et de Réadaptation
8.	Dr ODOULAMI-YEHOUESSI Lisette	Ophtalmologie
9.	Dr ZOUMENOU Eugène	Anesthésie-Réanimation
10.	Dr DENAKPO Justin Lewis	Gynécologie Obstétrique
11.	Dr DOSSOU Francis Moïse	Chirurgie Générale
12.	Dr ADEGBIDI Hugues Daniel Gbadébo	Dermatologie Vénérologie
13.	Dr AFFOLABI Dissou	Bactériologie-Virologie
14.	Dr ALAO Modjere Ola Maroufou Jules	Pédiatrie et Génétique Médicale
15.	Dr ATADOKPEDE Agbomènou Félix	Dermatologie- Vénérologie
16.	Dr AWEDE Bonaventure Lucien Sévérin	Physiologie
17.	Dr FIOSSI KPADONOU Emilie	Pédopsychiatrie
18.	Dr TONATO BAGNAN Josiane Angéline A	Gynécologie-Obstétrique
19.	Dr ADJIEN Kodjo Constant	Neurologie
20.	Dr OGOUYEMI HOUNTO Aurore Bertille	Parasitologie
21.	Dr SEHONOU Jean	Hépato-Gastro-Entérologie
22.	Dr AGODOKPESSI Gildas	Pneumo-Phtisiologie
23.	Dr ALAMOU Soulé	Ophtalmologie
24.	Dr ALLABI Aurel Constant Eustache	Pharmacologie Clinique
25.	Dr AVAKOUDJO Josué D. Georges	Urologie-Andrologie
26.	Dr AYELO Ahounmènou Paul	Médecine du Travail
27.	Dr GNONLONFOUN Dieu donné	Neurologie
28.	Dr HOUNKPATIN Benjamin I. Bodounrin	Gynécologie Obstétrique
29.	Dr TSHABU AGUEMON Christiane	Gynécologie Obstétrique
30.	Dr ZOMALHETO Zavier Cossi	Rhumatologie
31.	Dr YEKPE AHOUANSOU Hermione Patricia Frida	Imagerie Médicale
32.	Dr AGUEMON Badirou Din	Santé Publique
33.	Dr ALAGNIDE Hountondji Etienne	Médecine Physique et de Réadaptation
34.	Dr AZON KOUANOU Angèle	Médecine Interne

Université d'Abomey - Calavi
LE DOYEN
FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE

NOVEMBRE 2023

35. Dr GBESSI Dansou Gaspard ..... Chirurgie Générale
36. Dr HINSON Vikkey Antoine ..... Médecine du Travail
37. Dr HOUNKPE Pierre Claver ..... Anesthésie-Réanimation
38. Dr LALYA Francis Honorat..... Pédiatrie et Génétique Médicale
39. Dr VIGAN Jacques ..... Néphrologie
40. Dr CODJO Houétondji Léopold..... Cardiologie
41. Dr YEMOA Loconon Y. Achille. ..... Chimie Analytique-Bromatologie

MAÎTRES DE CONFERENCES AGREGES

1. Dr AVAKOUDJO François ..... ORL-Chirurgie Cervico Faciale
2. Dr LAWSON AFOUDA Sonia..... ORL-Chirurgie Cervico Faciale
3. Dr SISSINTO SAVI DE TOVE Yolande..... Parasitologie-Mycologie
4. Dr AGBODANDE Kouessi Anthelme ..... Médecine Interne
5. Dr ALIHONOU Thierry ..... Neurochirurgie
6. Dr BAGNAN TOSSA Léhila..... Pédiatrie et Génétique Médicale
7. Dr GANFON M. Yowel Habib ..... Pharmacognosie
8. Dr KEREKOU Annelie Célestine. ..... Endocrinologie
9. Dr VODOUHE Ulrich B. ..... ORL-Chirurgie Cervico Faciale
10. Dr WANVOEGBE Armand..... Médecine Interne
11. Dr ABOUBACAR Moufalilou ..... Gynécologie-Obstétrique
12. Dr ABOUKI Chakiratou Olaïdé Adoukê..... Ophtalmologie
13. Dr ADJADOHOUN Sonia B.M. Gwladys..... Radiologie, Radiodiagnostic et Imagerie médicale
14. Dr AKODJENOU Joseph ..... Anesthésie Réanimation
15. Dr AKPADJAN Gbèmawonmédè Fabrice..... Dermatologie-Vénérologie
16. Dr ALIHONOU Florence Nathalie Yacoba..... Pédiatrie et Génétique Médicale
17. Dr ANAGONOU LARY Lucrèce..... Pédopsychiatrie
18. Dr ATTOLOU Sètondji Roger Gilles..... Chirurgie Générale
19. Dr AZONBAKIN Azandégbé Simon ..... Histologie-Embryologie-Cytogénétique
20. Dr BIGOT Cédric Egnonwa Parfait ..... Médecine Légale
21. Dr BOGNON Gilles Modeste Alain..... Pédiatrie et Génétique Médicale
22. Dr CHIGBLO Sègla Pascal Eric..... Chirurgie Orthopédique et Traumatologie
23. Dr DEGBOE Kaï Bérénice Esthelle ..... Dermatologie-Vénérologie
24. Dr GNANGNON Freddy Houehanou Rodrigue..... Cancérologie Chirurgicale
25. Dr HODONOU Dètondji Fred Jean-Martin..... Urologie-Andrologie
26. Dr IMOROU SOUAÏBOU Yacoubou..... Chirurgie Général
27. Dr KLIKPO Tchédié Etdéchié Elvire ..... Psychiatrie Adulte

Université d'Abomey - Calavi
LE DOYEN
FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE

NOVEMBRE 2023

28.	Dr KPOSSOU Aboudou Raïmi	Gastroentérologie et Hépathologie
29.	Dr LAWANI Ismaïl	Chirurgie Viscérale
30.	Dr MIKPONHOUE OLOU Rose Christelle	Médecine du Travail
31.	Dr OGOUDJOBI Ogourindé Mathieu	Gynécologie-Obstétrique
32.	Dr PADONOU Abiodun Adébola Djossè	Traumatologie-Orthopédie
33.	Dr PADONOU Caroline Sourou Clémence	Pédiatrie et Génétique Médicale
34.	Dr PADONOU Sètondji Géraud Roméo	Santé Publique
35.	Dr SEIDOU Falilatou	Anatomie et Cytologie Pathologique
36.	Dr SONOU Djidjoho Joël Arnaud	Cardiologie
37.	Dr TOGNIFODE Medesse Véronique	Gynécologie-Obstétrique
38.	Dr WACHINOU Ablo Prudence	Pneumo-Phtisiologie
39.	Dr YEVI Dodji Magloire Inès	Urologie Andrologie
40.	Dr ZOHOUN GUIDIGBI Lutécia Myria A	Pédiatrie et Génétique Médicale

MAITRES ASSISTANTS

1.	Dr GANDAHO Hugues Jean-Thierry	Neurochirurgie
2.	Dr AGBOTON Bruno Léopold	Néphrologie
3.	Dr ADJAGBA Mahouna Philippe Dotou	Cardiologie
4.	Dr AMOSSOU Labissi François	Traumatologie-Orthopédie
5.	Dr BADOU Agnès Oladun Sylvie	Sociologie et Anthropologie sociale
6.	Dr GNINKOUN Comlan Jules	Endocrinologie Métabolisme et Nutrition
7.	Dr LOKOSSOU Mègnissè S. Houévi Symphorose	Gynécologie-Obstétrique
8.	Dr TOKOUDAGBA Kossi Jean-Marie Dénis	Chimie Organique et Chimie des Substances Naturelles
9.	Dr ADJOBIMEY Mênonli	Santé au Travail
10.	Dr BANCOLE POGNON Sylvie Arlette A	Chirurgie Buccale
11.	Dr ZOHOUN Comlan Gildas Alban	Hématologie
12.	Dr AHOUNOU Ernest Stéphane	Anesthésie-Réanimation
13.	Dr AÏGBE Nestor	Ophtalmologie
14.	Dr DANGBEMEY Djima Patrice	Gynécologie-Odstrétique
15.	Dr DO SANTOS ZOUNON Alexis	OTO-Rhino Laryngologie et Chirurgie Cervico-Faciale
16.	Dr HOUNKPONOU AMOUSSOU-GUENOU Eliane Kayivi Murielle	Cardiologie
17.	Dr LALEYE Christel Marie Fortunat Olatumbossum B.I.	Anatomie
18.	Dr MIZEHOUN Gbèdécon Carmelle	Nutrition
19.	Dr AGBOKPONTO Janvier Engelbert	Chimie Analytique

Université d'Abomey - Calavi
LE DOYEN
FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE

NOVEMBRE 2023

20.	Dr ASSANHOU Assogba Gabin.....	Pharmacie Galénique
21.	Dr AZA-GNANDJI Guy-Gérard.....	Psychiatrie
22.	Dr BAGLO Dédé Priscillia Tatiana.....	Hématologie Biologie
23.	Dr GOUKODADJA Oswald.....	Traumatologie Orthopédie
24.	Dr SOSSA Jean	Urologie
25.	Dr HOUNDETOUNGAN David Gilles.....	Biophysique
26.	Dr VIGNON Koffi Rodolphe	Hépato-Gastroentérologie

ASSISTANTS

1.	Dr LANKPEKO AFFOLABI Clémence M.	Pédiatrie et Génétique Médicale
2.	Dr YAKOUBOU YOBO Annatou	Pédiatrie et Génétique Médicale
3.	Dr AMONLES Yves D.	Psychiatrie
4.	Dr HOUESSOU ENIANLOKO TCHIAKPE Nicole Zinhoué ...	Pédiatrie
5.	Dr DADJO Kinski Aumar.....	Traumatologie Orthopédie

Université d'Abomey - Calavi
LE DOYEN
FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE

ASSISTANTS EN POSITION PROBATOIRE

1.	Dr HOUEZE Richard Ghislain Constantin.....	Neurologie
2.	Dr CHABI Yossounon.....	Pharmacie hospitalière
3.	Dr DANSOU Eugénie.....	Médecine interne
4.	Dr DJOSSOU Hontongnon Julien.....	Rhumatologie
5.	Dr AYI MEGNANGLO Codjo Austher.....	Radiologie et Imagerie médicale
6.	Dr DAHOUE Togbédji Richard.....	Orthopédie Dento-Faciale
7.	Dr HOUNSOU Nounagnon René.....	Chirurgie générale
8.	Dr KOGUI DOURO Akim.....	Urologie-Andrologie

ASSISTANTS DE RECHERCHE DE RANG DOCTORAL

1.	Dr TOHON Gbèdolo Honesty.....	Toxicologie et Analyse du risque

NOVEMBRE 2023

EMERITES

1- Dr BASSABI Souleymane.....

2- Dr AHYI Réné A. Galbert.....

3- Dr PADONOU Nazaire.....

4- Dr HOUNKPE Célestin.....

5- Dr Do ANGO-PADONOU Florencia.....

6- Dr GNINAFON Martin.....

7- Dr ALIHONOU Eusèbe Magloire.....

COLLABORATEURS

A- COLLABORATEURS EXTERIEURS

1- MCA COULIBALY Songuigama	Professeur de Chimie Thérapeutique/UFR Pharmacie Université de Nantes
2-Dr ZIME DIAWARA H. Hermine	Maître-Assistant de Pharmacie Galénique à l'Université Joseph KI-ZERBO ; Burkina-Faso
3-Dr SANGARE Béatrice.....	Maître de Conférences Agrégé de Toxicologie à l'Université Félix HOUPHOUËT BOIGNY
4-EFOE Etienne.....	Pharmacie

B- COLLABORATEURS NATIONAUX

1- Dr LOKO Frédéric Simplice	Professeur Titulaire de Biochimie à l'Ecole Polytechnique de l'UAC
2–Dr AHISSOU Hyacinthe.....	Professeur Titulaire de Biochimie à la Faculté des Sciences et Techniques de l'UAC
3–Dr GBENOU Joachim	Professeur Titulaire de Chimie Organique à la Faculté des Sciences et Techniques de l'UAC
4- Dr OUENDO Edgard-Marius.....	Professeur Titulaire en Santé Publique, Epidémiologie (IRSP)
5- Dr KPATCHAVI Adolphe.....	Professeur Titulaire en Sociologie Anthropologie

Université d'Abomey - Calavi
LE DOYEN
FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE

NOVEMBRE 2023

6- Dr AGUEH Damienne Victoire.....	Professeur Titulaire en Santé Publique, Epidémiologie (IRSP) ; Maître ès Sciences en Nutrition
7–Dr JOSSE Roger Gérard	Professeur Titulaire de Chimie Analytique à la Faculté des Sciences et Techniques de l'UAC
8–Dr GBAGUIDI Fernand	Professeur Titulaire de Chimie Organique à la Faculté des Sciences et Techniques de l'UAC
9–Dr WOTTO Valentin	Professeur Titulaire de Chimie Physique à la Faculté des Sciences et Techniques de l'UAC
10- Mr ATOHOUN Guy	Professeur Titulaire de Chimie Minérale
11- Dr EZIN Eugène.....	Professeur Titulaire en Informatique à l'Institut de Mathématiques et de Sciences Physiques de l'UAC
12– Dr OGOUYANDJOU Simplice.....	Maître de Conférences en Mathématiques
13- Dr KPOVIESSI Salomé	Professeur Titulaire en Chimie Organique à la Faculté des Sciences et Techniques de l'UAC
14- Dr DJEGO Gaudens	Professeur Titulaire en Ecologie/Botanique
15- Mr AGBANI Benoît	Maître Assistant de Physique à la Faculté des Sciences et Techniques de l'UAC
16- Dr MEDEGAN FAGLA Sèdami Romarique.....	Maître-Assistant en Chimie Organique.

C- AUTRES ENSEIGNANTS ASSOCIES

1 - Mr AHOGA Sourou	Soins infirmiers
2 -Mr AHOUANSOU Frédéric.....	Secourisme
3 - Dr AHLONSOU Prosper	Législation Pharmaceutique
4 - Mr ANANI Yves.....	Techniques de kinésithérapie passive
5 - Mr ASSOGBA Franck.....	Techniques de kinésithérapie active
6 - Mr GNIMASSOU Karol.....	Techniques de kinésithérapie respiratoire
7 - Mme DJIVOH Yolande.....	Périnéologie
8 - Dr HOUNGBEDJI Germain	Analyse du mouvement, Biomatériaux et Thérapie Manuelle Orthopédique
9 - Mr SOGBOSSI Emmanuel.....	Anatomie palpatoire
10 - Mr OLOUKA Jean.....	Techniques de kinésithérapie en neurologie adulte

Université d'Abomey - Calavi
LE DOYEN
FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE

NON ENREGISTRE

11 - Mme BABI Josiane.....	Techniques de kinésithérapie en neurologie-pédiatrie
12 - Mr ACAKPO Alfred.....	Nutrition
13- Mr KADI Christophe.....	Anglais
14 - Mr DJOSSOU A. K. Alfred.....	Anglais
15 - Mr SOUMANOU Mohamed.....	Technologie alimentaire
16 - Mr ABOU Adam.....	Technologie alimentaire
17 -Professeur CAPO-CHICHI Callinice.....	Biologie moléculaire
18 - Mr SANNI Ambaliou.....	Biologie moléculaire
19 - Dr ALASSANI Adébayo.....	Médecine interne/Nutrition
20 - Mme LOKOSSOU Céline.....	Nutrition
21 - Mme HOUNGBO Hermance.....	Nutrition
22 - Mr ADOMAHOU David.....	Nutrition
23- Mme DOSSOU-SINTONDJI Reine.....	Nutrition
24- Dr SOSSA Charles.....	Nutrition
25 - Mr HESSOU Joseph.....	Nutrition
26 - Mme MELOME Marie Constance.....	Communication
27 - Mme COSSI Reine.....	Méthodologie
28 - Dr MOROU Karim	Nutrition
29- Dr AZANDJEME Colette	Nutrition
30-Mme Napporn Clarisse.....	Psychologie Sociale, (Maître-assistant à la FLASH)
31 - Mr AÏHOU Mamère.....	Finances Publiques
32 -Mr ASSOGBA Elvis	Psychologie générale, Psychologie du couple
33- Dr BODEA Gilbert	Méthodologie de la recherche, Sociologie de la famille
34 – Mr GBOSSOU Alphonse	Economie
35 - Mr AVOCE Viagannou.....	Economie
36- Mr EKPINSE Emile.....	Rédaction administrative
37 - Mme SAGBOHAN Mireille.....	Economie Familiale, Economie Sociale

NOVEMBRE 2023

Université d'Abomey - Calavi
LE DOYEN
FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE

38- Mr HOUEDJISSIN Benoit.....	Déviance et délinquance juvénile
39 - Mme IDOSSOU Valérie.....	Introduction à la politique sociale, politique de protection des personnes âgées, cadre théorique, service social de groupe
40 - Mr TONI Mathias.....	Politique de la jeunesse, Politique de protection sociale des personnes handicapées
41- Dr AKOGBETO Judith.....	Anglais
42- Mr COMAHOUE Franck	Politique de protection sociale de l'enfant, TD devoir médico-social (Méthodologie d'intervention)
43- Mme SESSOU Fidélia	TD Devoir social (Méthodologie d'intervention)
44- Dr de SOUZA Pélagie Léchidia.....	Socio-Anthropologie Générale
45 - Mr SOSSOU Janvier	Technique d'animation
46 - Mr HOUNTONDJI Albert	Droit du travail
47- Mr HOUNTONDJI Jules	Service social communautaire
48- Mr ALADATIN Prévert	Droit Pénal Général, Procédure Pénal
49- Dr IBIKUNLE Charles	Introduction au Droit, Droit civil
50 - Mme TCHIBOZO Pauline	Intervention d'aide à la personne
51- Mr ATODJINOU Candide	Statistique
52- Dr AKOCHAYE Nicolas	Démographie
53- Dr VISSOH Séraphin.....	Méthodologie de la Recherche
54- Mr GBEHINTO Bruno	Gestion de projet
55- Mr NANSI Célestin	Sécurité Sociale
56- Mr AGBOGBE Nestor	RBC et Pédiatrie Sociale
57- Mr GNIGLA Médelian Daniel Prudencio.....	Comptabilité et Finance Publique

Le Doyen,

Université d'Abomey - Calavi
LE DOYEN
FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE

Professeur Josué Dejinnin Georges AVAKOUDJO

NOVEMBRE 2023

ACTION DE GRÂCE

Luc 10 : 21

Père, Seigneur du ciel et de la terre, je te dis merci. En effet, ce que tu as caché aux sages et aux savants, tu l'as fait connaitre aux petits. Oui, Père, tu l'as bien voulu.

2 Corinthiens 3 : 5

Nous ne pensons pas que nous sommes capables de faire quelque chose tout seuls, mais c'est Dieu qui nous a rendus capables de faire ce que nous faisons.

DEDICACES

Je dédie cette œuvre :

- **A mon Père Isidore DEGBELO**

  Papa, tu as fait de moi ce que je suis et je te dois tout. Ce travail est l'occasion pour t'exprimer mon profond amour. Que Dieu nous garde et te donne une longue vie.

  Reçois ma profonde gratitude.

- **A ma Mère Augustine CAPO-CHICHI épouse DEGBELO**

  Maman, aucun mot ne saurait exprimer ma profonde gratitude et ma sincère reconnaissance envers la personne que tu es. Merci pour tes plats réconfortants et les petites attentions quotidiennes. Que Dieu nous garde et te donne une longue vie.

  Reçois ma profonde gratitude.

- **A mes frères Elvis, Brunel, Manoëly**

  En aîné protecteur, vous avez su me soutenir, m'aider et m'encourager. Je ne vous remercierai jamais assez. Merci pour votre amour à mon égard. Que Dieu nous garde toujours unis et qu'Il nous protège.

  Recevez ma gratitude, Tendre affection.

- **A ma belle-sœur Marie-Esther ROUFFET épouse DEGBELO**

  Merci pour ton amour et ton soutien.

  Profonde gratitude.

- **A mes neveux Paul-Evan et Pierre-Antoine**

  Merci pour tout l'amour et la vivacité que vous me donnez. Que votre vie soit remplie de bonheur. Que Dieu vous protège.

  Recevez ma gratitude et soyez bénis.

- **A ma tante Emilie DEGBELO**

  Merci d'être comme une seconde mère pour moi. Merci pour ton soutien indéfectible.

  Profonde gratitude.

REMERCIEMENTS

- **Aux Docteurs Gabin ASSANHOU, Mitibkièta Paul KOURAOGO, Laila YADJI GUERO, Anaïs OUEDRAOGO, Modeste TOSSENOU, Arnaud AGBANLINSOU** : sincères remerciements pour l'accompagnement durant tout mon travail de recherche.

- **Aux Messieurs Yanique GOUSSANOU, Godwin SOGLO** et **Gérard DOSSOU-GOUIN :** sincères remerciements pour l'accompagnement durant tout mon travail de recherche.

- **A mes camarades** : **Venance AHOUANSOU, Farouk AKIFEWA, Fabrice GBENOU, Baké IMOROU, Auriane ADJIEN, Milène HOLONOU, Viviane OKE, Moise ASSOHOUI, Jennifer EMEKA**
  Ce fut une très belle expérience à vos côtés. Le temps passé avec vous est toujours un pur plaisir. Merci pour l'affection. Belle et fructueuse carrière à vous.

- **A tous mes autres camarades de la 45e promotion de médecine de la Faculté des Sciences de la Santé de Cotonou** : Merci pour tous ces moments partagés.

- **A tous ceux qui de près ou de loin**, ont aidé à la réalisation de ce travail et dont les noms ne sont pas mentionnés : Merci

HOMMAGES

- **A tous les enseignants de la Faculté des Sciences de la Santé de Cotonou**

  Chers Maîtres, tout au long de notre parcours académique, vous n'avez ménagé aucun effort pour nous donner une formation de qualité. Merci pour votre disponibilité. Veuillez trouver ici, l'expression de ma profonde reconnaissance.

- **Au Professeur Anatole LALEYE**

  Nous avons toujours été fasciné par l'immensité de votre savoir et votre sympathie. Durant notre formation, nous avons été captivé par votre extrême courtoisie, votre humilité et votre disponibilité à transmettre le savoir. Pour nous, vous êtes l'exemple à suivre dans l'exercice de la profession médicale. C'est pour nous une grâce de vous avoir connu. Trouvez en ce travail toute notre reconnaissance.

  Hommages respectueux.

- **A notre Maître et Directeur de thèse, le Maître de Conférences Agrégé Azandégbé Simon AZONBAKIN**

  Votre humilité et votre amour pour le travail bien fait nous ont toujours impressionné. Vous avez su vous rendre disponible pour répondre à nos préoccupations. En acceptant de diriger ce travail, vous nous avez fait un grand honneur. Nous vous remercions pour l'ambiance joviale dans laquelle, nous avons travaillé. Trouvez ici, cher Maître, l'expression de toute notre reconnaissance et de notre profond respect.

  Hommages respectueux.

- **A nos Maîtres et co-Directeur de thèse, le Docteur Jean-Paul DOSSOU et le Docteur Marius ADJAGBA**

  Merci d'avoir accepté codiriger ce travail, vous nous avez fait un grand honneur. Trouvez ici, chers Maîtres, l'expression de toute notre reconnaissance et de notre profond respect.

Hommages respectueux.

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

%	:	Pourcentage
+	:	Plus
<	:	Inférieur
>	:	Supérieur
°C	:	Degré Celsius
ABCD	:	Agénésie Bilatérale des Canaux Déférents
ADN	:	Acide Désoxyrubonucléique
ARN	:	Acide Ribonucléique
AZF	:	Azoospermia Factor
BT	:	Bleu de Toluidine
CERRHUD	:	Centre de Recherche en Reproduction Humaine et en Démographie
CFTR	:	Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator
CHU-MEL	:	Centre Hospitalier et Universitaire de la Mère et de l'Enfant Lagune
cm	:	Centimètre
CNHU-HKM	:	Centre National Hospitalier et Universitaire Hubert Koutoukou Maga
CUGO	:	Clinique Universitaire de Gynécologie et d'Obstétrique
FIV	:	Fécondation In Vitro
FSH	:	Follicule Stimulating Hormone

FSS	:	Faculté des Sciences de la Santé
g	:	Gramme
GnRH	:	Gonadotropin Releasing Hormone
H_2O_2	:	Peroxyde d'hydrogène
IAM	:	Index d'Anomalies Multiples
ICSI	:	Injection Intra-Cytoplasmique de Spermatozoïdes
IDF	:	Index de Fragmentation
IMC	:	Indice de Masse Corporelle
IST	:	Infection Sexuellement Transmissible
LH	:	Luteinizing Hormone
m	:	Mètre
mg	:	Milligramme
ml	:	Millilitre
mm	:	Millimètre
N	:	Effectif total
nm	:	Nanomètre
O_2	:	Oxygène
OA	:	Orange Acridine
OMS	:	Organisation Mondiale de La Santé
PBS	:	Phosphate-Buffered Saline

pH	:	Potentiel Hydrogène
s	:	Seconde
SCSA	:	Sperm Chromatin Structure Assay
SRO	:	Substances Réactives de l'Oxygène
t/min	:	Tours par minutes
TUNEL	:	Terminal Transferase d'Utp Nick End Labeling
UAC	:	Université d'Abomey-Calavi
µm	:	Micromètre

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I	:	Spermogramme et anomalies selon l'OMS.	24
Tableau I	:	Répartition des patients en fonction du traitement en cours	50
Tableau III	:	Répartition des patients en fonction des antécédents personnels médicaux	52
Tableau IV	:	Relation entre variables et décondensation de l'ADN spermatique	66
Tableau V	:	Relation entre variables et fragmentation de l'ADN spermatique	67

LISTE DES ICONOGRAPHIES

Iconographie 1 : Quelques iconographies illustrant les différents aspects de la décondensation de l'ADN spermatique 62

Iconographie 2 : Quelques iconographies illustrant les différents aspects de la fragmentation de l'ADN spermatique 66

LISTE DES FIGURES

Figure 1	:	coupe sagittale du bassin masculin normal	7
Figure 2	:	coupe sagittale du testicule humain	8
Figure 3	:	organisation d'un tube séminifère	9
Figure 4	:	étapes de la spermatogenèse	15
Figure 5	:	étapes de la spermiogenèse	16
Figure 6	:	spermatozoïde normal	17
Figure 7	:	régulation physiologique de l'axe gonadotrope masculin	18
Figure 8	:	diagramme de flux	44
Figure 9	:	répartition des patients selon l'âge (en année)	45
Figure 10	:	répartition des patients en fonction de la profession	46
Figure 11	:	répartition des patients en fonction du type d'infertilité	46
Figure 12	:	répartition des patients selon l'âge du dernier enfant (en année)	47
Figure 13	:	répartition des patients en fonction de l'âge de la conjointe	48
Figure 14	:	répartition des patients selon le nombre d'années de vie commune	49
Figure 15	:	répartition des patients en fonction de la durée d'abstinence (en jours)	50
Figure 16	:	Figure 16: répartition des patients en fonction de l'indice de masse corporelle	51
Figure 17	:	répartition des patients en fonction du volume de l'éjaculat	53
Figure 18	:	répartition des patients en fonction du pH du sperme	54
Figure 19	:	répartition des patients en fonction de la vitalité des spermatozoïdes	55

Figure 20 : répartition des patients en fonction de la mobilité à la première heure 56

Figure 21 : répartition des patients en fonction de la concentration des spermatozoïdes 57

Figure 22 : répartition des patients en fonction de la morphologie des spermatozoïdes 58

Figure 23 : répartition des patients en fonction de l'index d'anomalies multiples 59

Figure 24 : observation au microscope optique (X1000) de spermatozoïdes colorés au bleu de toluidine (BT) 60

Figure 25 : répartition des patients en fonction de la décondensation de l'ADN spermatique 61

Figure 26 : observation au microscope à fluorescence (X 1000) de spermatozoïdes colorés à l'orange acridine (OA) 63

Figure 27 : répartition des patients en fonction de la fragmentation de l'ADN spermatique 64

Par délibération, la Faculté des Sciences de la Santé de Cotonou a arrêté que les opinions émises dans cette thèse n'engagent que son auteur.

SOMMAIRE

INTRODUCTION 1

1. GENERALITES 5

2. CADRE ET METHODE D'ETUDE 32

3. RESULTATS 43

4. DISCUSSION 69

CONCLUSION 81

PERSPECTIVES 83

REFERENCES 85

ANNEXES ..... A

TABLE DES MATIERES ..... a

INTRODUCTION

La reproduction humaine est un phénomène complexe assurée et entretenue par la fertilité de l'homme et de la femme. Elle présente un intérêt socioculturel et religieux car dans la Bible par exemple, il est écrit « multipliez-vous et remplissez la terre » (Genèse 1 verset 28 /ancien testament) [1].

La fertilité est définie comme l'aptitude à obtenir une grossesse [2]. Elle présente un intérêt socioculturel surtout en milieu africain. En effet l'homme s'unit à une femme pour entre autres donner naissance à des enfants. Ceci constitue un objectif primordial en Afrique où, la forte nuptialité est connue depuis la nuit des temps, comme un facteur d'aisance sociale [3].

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), l'infertilité est l'absence de grossesse dans un couple après au moins douze mois de rapports sexuels fréquents, complets et réguliers sans contraception [4]. Elle touche 186 millions de personnes dans le monde [5]. On estime que 8% à 15% des couples sont infertiles et que les causes sont d'origine masculine dans 30% des cas, féminine dans 30% des cas, mixtes dans 30% et idiopathiques dans 10% des cas dans le monde [6]. La responsabilité masculine devant une infertilité du couple est de mieux en mieux connue de nos jours. En effet, des perturbations du spermogramme définies par un déficit quantitatif, de mobilité, de morphologie ou du nombre de spermatozoïdes peuvent être observées chez l'homme [7].

En Afrique, les taux d'infertilité sont les plus élevés du monde, entre 15% et 30% des couples seraient touchés [8]. En Afrique sub-saharienne, la prévalence de l'infertilité est comprise entre 12,7% et 16,9% [9].

Au Bénin, ce phénomène affecte plusieurs couples. Godjo [10] et Ahopkossi [11] à Cotonou respectivement en 1994 et en 2003 ont montré que l'infertilité constituait 13,26 % et 17,34% des motifs de consultations en milieu hospitalier au Centre National Hospitalier et Universitaire Hubert Koutoukou Maga (CNHU-HKM).

Chez l'homme, l'infertilité est le plus souvent causée par des problèmes d'excrétion du liquide séminal, l'absence ou le faible niveau de spermatozoïdes, ou encore une anomalie au niveau de la forme et de la mobilité des spermatozoïdes [12]. Elle peut être aussi causée par une obstruction de l'appareil reproducteur causant des dysfonctionnements de l'excrétion du liquide séminal, par des troubles hormonaux, par une incapacité des testicules à produire des spermatozoïdes ou par une anomalie de la fonction des spermatozoïdes et/ou de leur qualité [13].

Parmi les examens biologiques conventionnels d'exploration de l'infertilité masculine, le spermogramme/spermocytogramme est l'examen de première intention [14]. D'autres examens peuvent être réalisés. Ce sont : la spermoculture, la biochimie séminale, les tests de condensation et de fragmentation de l'acide désoxyrubonucléique (ADN) spermatique. Le spermogramme explore les différentes étapes de la production et du transport des spermatozoïdes ainsi que la production des glandes annexes. Il n'explore pas la qualité fonctionnelle des gamètes. L'intégrité de la chromatine des spermatozoïdes a été reconnue comme un facteur important de la fertilité masculine [15]. Des anomalies de la condensation de la chromatine peuvent entraîner des altérations de l'ADN du type dénaturation ou fragmentation.

La qualité de la chromatine des spermatozoïdes peut être étudiée par diverses techniques : coloration au bleu d'aniline, à la chromomycine A3, à l'acridine orange en conditions dénaturantes, mais aussi par des tests de décondensation de la chromatine ou l'analyse électrophorétique des nucléoprotéines basiques des spermatozoïdes [16]. Au Bénin, aucune étude n'a encore été réalisée sur la qualité de l'ADN spermatique chez l'homme infertile. Cela nous a motivé à étudier la qualité nucléaire du spermatozoïde chez l'homme infertile à Cotonou. Les objectifs de cette étude sont les suivants :

Objectif général :

Étudier la qualité de l'ADN spermatique chez les hommes infertiles dans trois laboratoires de Cotonou en 2023.

Objectifs spécifiques :

- Décrire les caractéristiques sociodémographiques des hommes infertiles ;
- Déterminer les anomalies du spermogramme chez les hommes infertiles ;
- Déterminer le niveau de décondensation et le taux de fragmentation de l'ADN spermatique chez les hommes infertiles ;
- Établir une relation entre les paramètres spermatiques et la qualité nucléaire des spermatozoïdes d'une part ; puis entre la décondensation et la fragmentation de l'ADN spermatique chez les hommes infertiles d'autre part.

1. GENERALITES

1.1. Définitions de concepts

L'**infertilité** est l'absence de grossesse dans un couple après au moins douze mois de rapports sexuels fréquents, complets et réguliers sans contraception (OMS) [4].

L'**infertilité masculine** est l'infertilité causée par des facteurs masculins englobant des paramètres ou une fonction spermatique anormaux ; des anomalies anatomiques et des conditions sexuelles incompatibles avec la capacité de déposer du sperme dans le vagin [17].

Elle est dite **primaire** lorsque l'homme n'a jamais fécondé une femme ; féconder signifie que la conception a eu lieu, indépendamment de l'évolution de la grossesse [18].

Elle est **secondaire** lorsqu'un homme a déjà fécondé une femme, indépendamment du fait qu'elle soit la partenaire actuelle, et indépendamment de l'évolution de la grossesse [18].

La **fertilité** est définie comme l'aptitude à obtenir une grossesse [2].

L'**hypofertilité** est la difficulté à concevoir, se traduisant par l'allongement du délai de conception [2].

La **fécondité** est la capacité de reproduction réalisée [2].

L'**infécondité** traduit l'absence d'enfant au sein d'un couple à un moment donné [2].

La **stérilité** est l'incapacité totale à se reproduire. C'est un état permanent et irréversible de l'infertilité [19].

La **chromatine** (du grec chroma, couleur) est une masse de matière qui apparaît colorée au microscope photonique ou électronique et qui correspond à l'enchevêtrement des chromosomes situés dans le noyau des cellules eucaryotes. La chromatine est composée d'ADN et de protéines, les histones. Lors de la période du cycle cellulaire où la cellule ne se divise pas (interphase), les chromosomes ne peuvent pas être distingués individuellement et se trouvent dans la chromatine [20].

1.2. Appareil génital masculin

L'appareil génital masculin comprend :

- Les testicules ;
- Les voies spermatiques ;
- Les glandes annexes que sont la prostate, les vésicules séminales et les glandes bulbo-urétérales ;
- Les organes génitaux externes que sont la verge et le scrotum

Haut

Postérieur

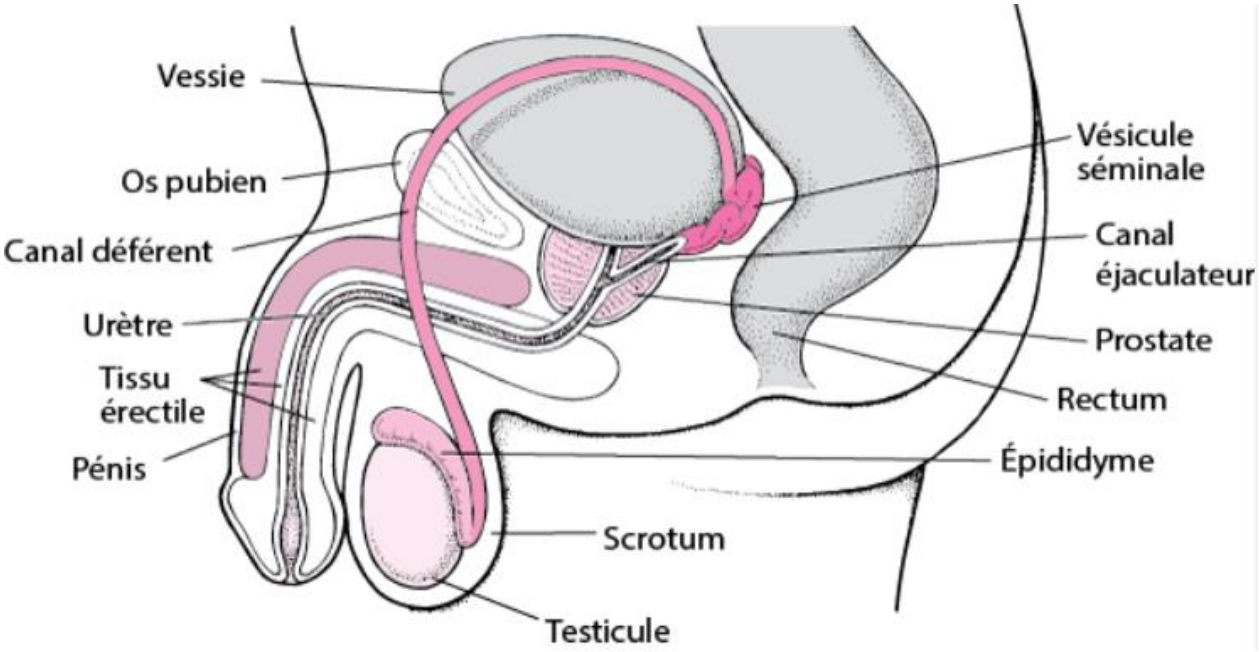


Figure 1: coupe sagittale du bassin masculin normal [20]

1.2.1. Les testicules [21]

Les testicules sont des structures de forme ovale, dont la longueur moyenne est comprise entre 4 et 7 cm et dont le volume moyen est compris entre 20 millilitres et 25 millilitres (2 à 3 petites cuillères à café). En général, le testicule gauche est situé légèrement plus bas que le droit.

Les testicules ont deux fonctions principales : produire les spermatozoïdes (qui transportent les gènes de l'homme) et sécréter la testostérone (la principale hormone sexuelle masculine).

Haut

Postérieur

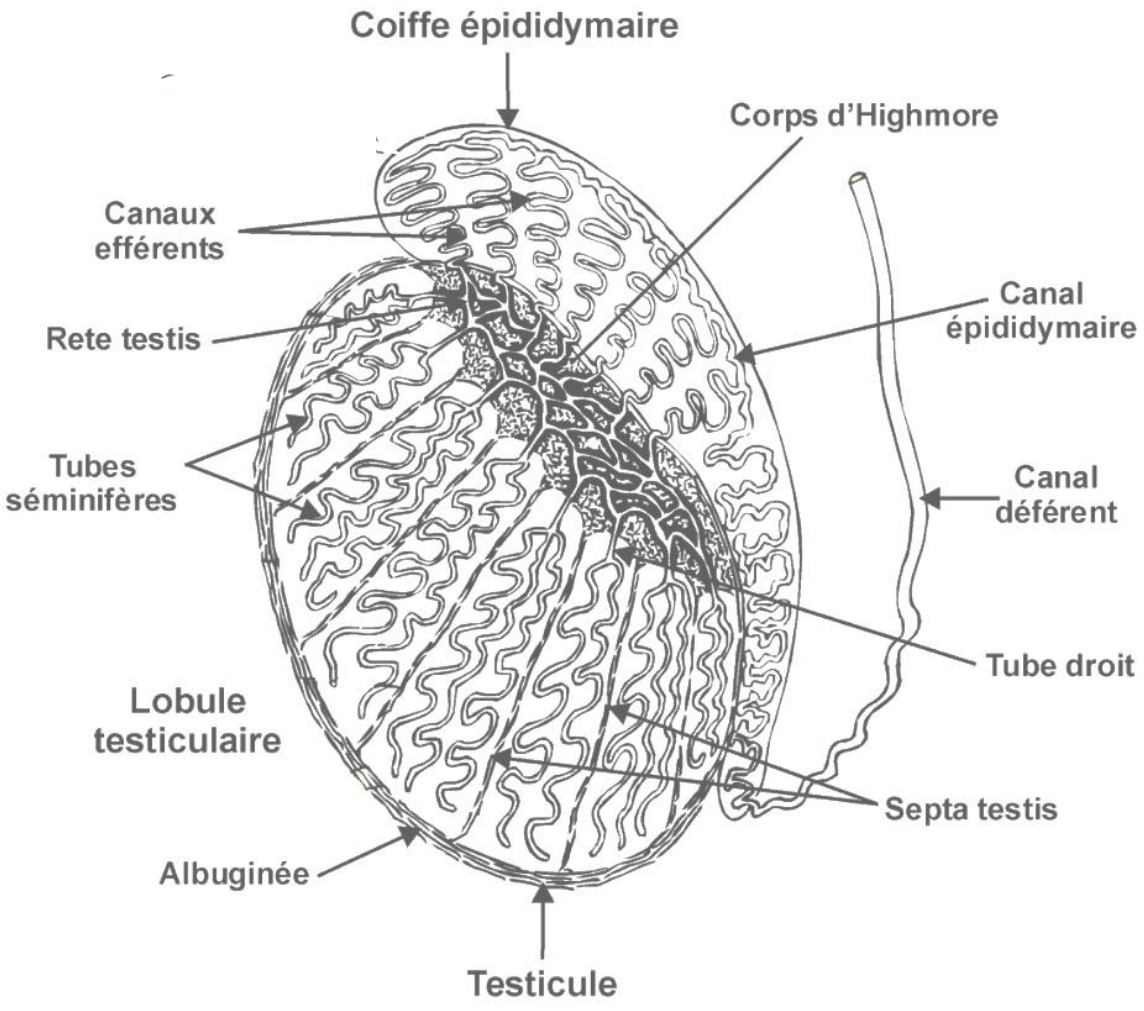


Figure 2: coupe sagittale du testicule humain [20]

Le tube séminifère constitue l'unité fonctionnelle du testicule. Il est limité par une gaine tubulaire mince formée de la lame ou membrane basale, de fibroblastes. A noter que certains contiennent des filaments contractiles et constituent les cellules myoïdes ou myofibroblastes et de fibres de collagène. La gaine tubulaire est appelée membrane propre du tube séminifère ou **membrana propria**. Entre les tubes, un tissu conjonctif lâche contient des cellules endocrines isolées ou en petits îlots situés à proximité des capillaires : ces cellules endocrines ou cellules de Leydig sécrètent essentiellement de la testostérone (et de la dihydrotestostérone) ; elles constituent la glande interstitielle du testicule. La paroi du tube séminifère est formée des cellules de Sertoli et des cellules germinales. Les cellules germinales sont successivement, de la périphérie vers la lumière du tube séminifère, les spermatogonies (**Sp**), les spermatocytes de premier ordre ou spermatocytes I (**SP I**), les spermatocytes de deuxième ordre ou spermatocytes II (**SP II**), les spermatides et les spermatozoïdes [22].

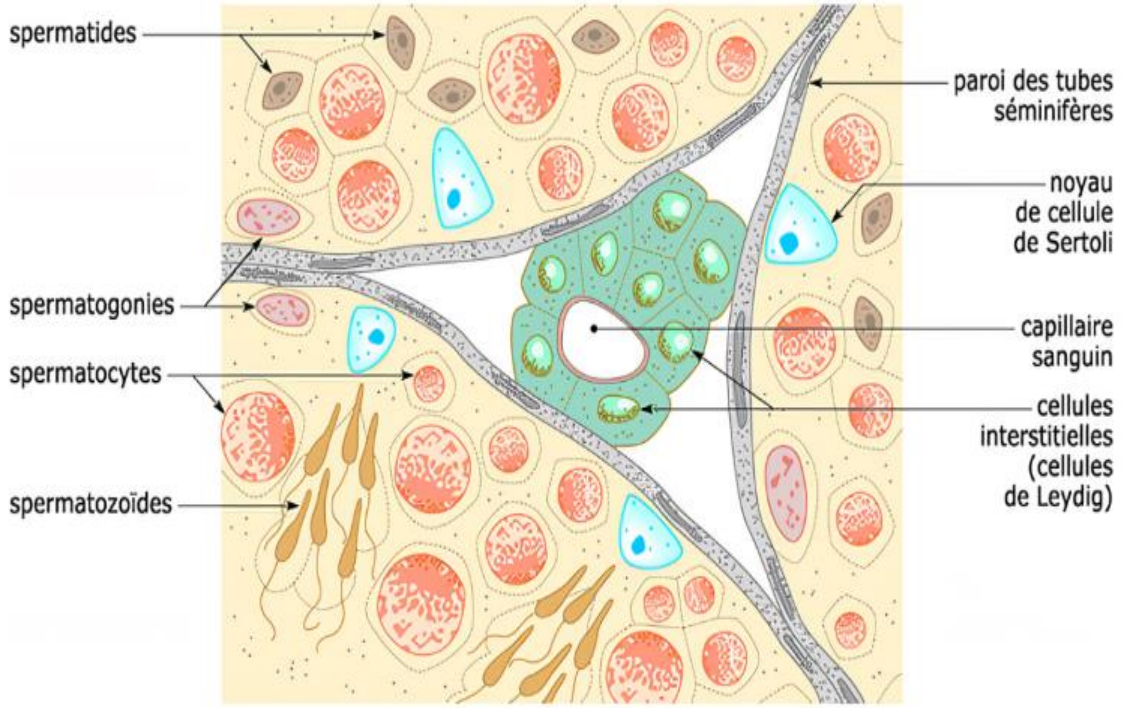


Figure 3: organisation d'un tube séminifère [22,23]

1.2.2. Les voies spermatiques

1.2.2.1. Les voies spermatiques intra testiculaires

- **Tubes droits**

Ce sont les canaux excréteurs des lobules du testicule. Les tubes d'un même lobule se réunissent en un seul conduit collecteur, court, étroit et rectiligne, situé à l'extrémité supérieure du lobule : le tube droit [23].

- **Rete testis**

C'est des canalicules formant un réseau anastomosé dans la partie inférieure du corps d'Highmore [23]**.**

1.2.2.2. Les voies spermatiques extra testiculaires

- **Canaux efférents**

Ce sont de fins canaux qui unissent le rete testis au canal de l'épididyme. Ils ont une forme conique, au nombre de 9 à 12, mesurent un diamètre d'environ 0,6 mm et une longueur de 6 à 10 cm, enroulés en spirale [23]**.**

- **Le canal épididymaire**

Il est contenu dans l'épididyme, organe encapsulé de 5 cm de long sur 1 cm de large, en forme de virgule, accolé à la face postérieure du testicule ; l'épididyme comprend une tête dans laquelle pénètrent les canaux efférents, un corps et une queue d'où émerge le canal déférent [22]. L'épididyme est un canal unique microscopique enroulé mesurant près de 6 m de long au total. Il permet aux spermatozoïdes d'acquérir la capacité à se déplacer dans le système reproducteur féminin et à fertiliser un ovule [24]. L'épididyme est un organe solidaire du bord postérieur du testicule, par son conduit, constitue le début des conduits spermatiques qui stockent et véhiculent les spermatozoïdes. Son rôle est essentiellement le stockage des spermatozoïdes nouvellement formés [23]**.** Il a une forme de grosse virgule et présente trois segments : la tête qui repose sur le pôle supérieur du testicule ; le corps qui s'étale sur le bord postérieur du testicule

et la queue qui se continue par le canal déférent. La structure de l'épididyme est faite de l'albuginé épididymaire et du conduit épididymaire [23].

- **Le canal déférent**

Il fait suite au canal épididymaire et assure le transit des spermatozoïdes jusqu'à l'urètre, via le canal éjaculateur [22]. Le canal déférent est un tube qui transporte les spermatozoïdes. Un canal déférent part de chacun des épididymes, gagne la partie postérieure de la prostate et rejoint une des deux vésicules séminales. Dans le scrotum, d'autres structures, comme les fibres musculaires, les vaisseaux sanguins et les nerfs, suivent également les deux canaux déférents et forment ensemble une architecture entrelacée, appelée cordon spermatique [24]. Le canal déférent fait suite au conduit épididymaire, au niveau de la queue de l'épididyme et se termine dans la prostate, en s'anastomosant avec le conduit de la glande séminale pour former le canal éjaculateur [23].

- **Le canal éjaculateur**

Le canal éjaculateur naît de la fusion de l'ampoule du canal déférent et du conduit de la vésicule séminale. Sa longueur est d'environ 25 mm, son calibre d'environ 25 mm à son origine décroît pour atteindre 0,5 mm à sa terminaison. Il descend obliquement, en avant et médialement à travers la prostate, il se termine dans l'urètre prostatique au niveau du colliculus séminal de chaque côté de l' utricule prostatique [23].

- **L'urètre**

L'urètre prend naissance à la partie inférieure de la vessie et s'ouvre à l'extrémité du pénis par le méat urogénital ; il mesure entre 20 et 25 cm et comprend trois segments : l'urètre prostatique, l'urètre membraneux appelé aussi urètre périnéal, et l'urètre spongieux ou urètre pénien. L'urètre assure l'évacuation de l'urine lors de la miction et véhicule le sperme lors de l'éjaculation [22].

1.2.3.Les glandes annexes [25]

- **Les vésicules séminales**

Les vésicules séminales sont des glandes paires de 5 à 7 cm de long, reposant sur la paroi postérieure de la vessie. Leurs secrétions qui comptent pour environ 70 % du volume du sperme qui est un liquide alcalin riche en fructose et en prostaglandines. Le canal de chaque vésicule séminale rejoint celui du conduit déférent du même côté pour former le conduit éjaculateur.

- **La prostate**

La prostate est une glande unique qui entoure la partie de l'urètre qui est située directement sous la vessie. Sa sécrétion acide forme jusqu'à 15 % du volume du sperme et joue un rôle dans l'activation des spermatozoïdes.

- **Les glandes bulbo-urétrales (ou glandes de Cowper)**

Les glandes bulbo-urétrales sont au nombre de deux et sont placées de chaque côté et au-dessus du bulbe spongieux. Elles produisent un épais mucus translucide libéré avant l'éjaculation et qui permet de neutraliser l'acidité des traces d'urine encore présentes dans l'urètre.

1.2.4. Les organes génitaux externes [21]

- **La verge ou le pénis**

Le pénis est l'organe de la copulation chez l'homme, mais aussi l'organe terminal de la miction. Il comprend deux parties distinctes du point de vue topographique et fonctionnel : la racine, cachée dans le périnée et fixe et le corps, visible et mobile. Il est constitué de deux corps caverneux et d'un corps spongieux.

- **Le scrotum**

Il constitue l'enveloppe cutanée des testicules et des épididymes. Appendu au périnée uro-génital, il est divisé en deux loges testiculaires par le septum scrotal. Il soutient les testicules et participe à la régulation de leur environnement thermique. De la profondeur en superficie, les enveloppes des testicules sont constituées de : la tunique vaginale, le fascia spermatique interne, le muscle

crémaster, le fascia spermatique externe, la tunique celluleuse sous-cutanée, le dartos (muscle peaucier), la peau.

1.3. Rappel physiologique

1.3.1. Spermatogenèse [26]

La spermatogenèse a lieu constamment depuis la puberté jusqu'à la mort. Les gamètes sont produits en ondes synchrones, en chaque région de l'épithélium germinatif bien que ce ne soit pas le cas dans tous les tubes séminifères. Chez beaucoup de mammifères différents le clone de spermatogonies dérivé de chaque cellule souche colonise un endroit précis du tube séminifère et subit une spermatogenèse synchrone. Environ 4 ondes simultanées de cellules en voie de différenciation peuvent être observées chez l'homme à tout moment en un endroit donné du tube séminifère. Au lieu de se séparer complètement les cellules filles-mères nées de chaque division restent unies par de fins prolongements cytoplasmiques susceptibles de laisser passer certaines molécules.

Elle se déroule en 4 phases :

- **Phase de multiplication**

Elle débute dès la vie fœtale, devient active à la puberté et se poursuit jusqu'à la sénescence. Les spermatogonies (cellules à 2n chromosomes) subissent des mitoses aboutissant à une augmentation du nombre de cellules souches et assurant ainsi le renouvellement de stock. Il existe deux types de spermatogonies :

  - les spermatogonies de type A qui sont des spermatogonies souches de réserve
  - les spermatogonies de type B qui sont destinées à subir la différenciation en spermatozoïdes.

- **Phase d'accroissement**

Elle débute à la puberté. Les spermatogonies de type B donnent naissance à des spermatocytes I (cellules à 2n chromosomes) par augmentation de volume. Les

spermatocytes restent relier par des ponts cytoplasmiques. On n'observe pas de division à cette phase.

- **Phase de maturation et de méiose**

Elle comprend :

- une division réductionnelle au cours de laquelle les spermatocytes I donnent naissance à des spermatocytes II (cellule à n chromosome) ;
- et une division équationnelle au cours de laquelle les spermatocytes II donnent naissance à des spermatides (cellules à n chromosomes) qui restent relier partiellement par des ponts cytoplasmiques.

- **Phase de différenciation ou spermiogenèse**

C'est la transformation des spermatides en spermatozoïdes. Elle comprend :

- l'élimination d'une grande partie du cytoplasme : l'excès de cytoplasme est mis de côté sous forme de corps résiduels qui sont phagocytés par les cellules de Sertoli ;
- la formation du flagelle : le flagelle se développe à partir du centriole distal. Il est constitué d'un axonème (appelé pièce intermédiaire) ;
- la formation de la pièce intermédiaire : les mitochondries forment une gaine hélicoïdale autour du segment proximal du flagelle ;
- la formation de l'acrosome : l'appareil de Golgi s'organise pour former l'acrosome correspondant à la synthèse progressive et au stockage d'enzymes hydrolytiques nécessaires à la fécondation dans le sac acrosomial ;
- la condensation du noyau : elle se fait grâce à des protéines spécialisées. Les histones (Hl, H2A, H2B et H4) sont remplacées par des protamines riches en arginine et en lysine. Ce remplacement stabilise et protège l'ADN spermatique. Le noyau devient de plus en plus petit et adopte sa forme typique aplatie.

- **Phase de maturation fonctionnelle ou capacitation**

C'est un ensemble de modifications subies par le spermatozoïde éjaculé pour acquérir la capacité de féconder. Elle se déroule lors du transport depuis les tubes séminifères jusqu'aux trompes utérines.

Chaque cycle de spermatogenèse dure environ 64 à 72 jours répartis comme suit :

- la phase de multiplication : 16 jours environ
- la première division méiotique : 8 jours environ
- la seconde division méiotique : 16 jours environ
- la spermiogenèse : 24 jours environ

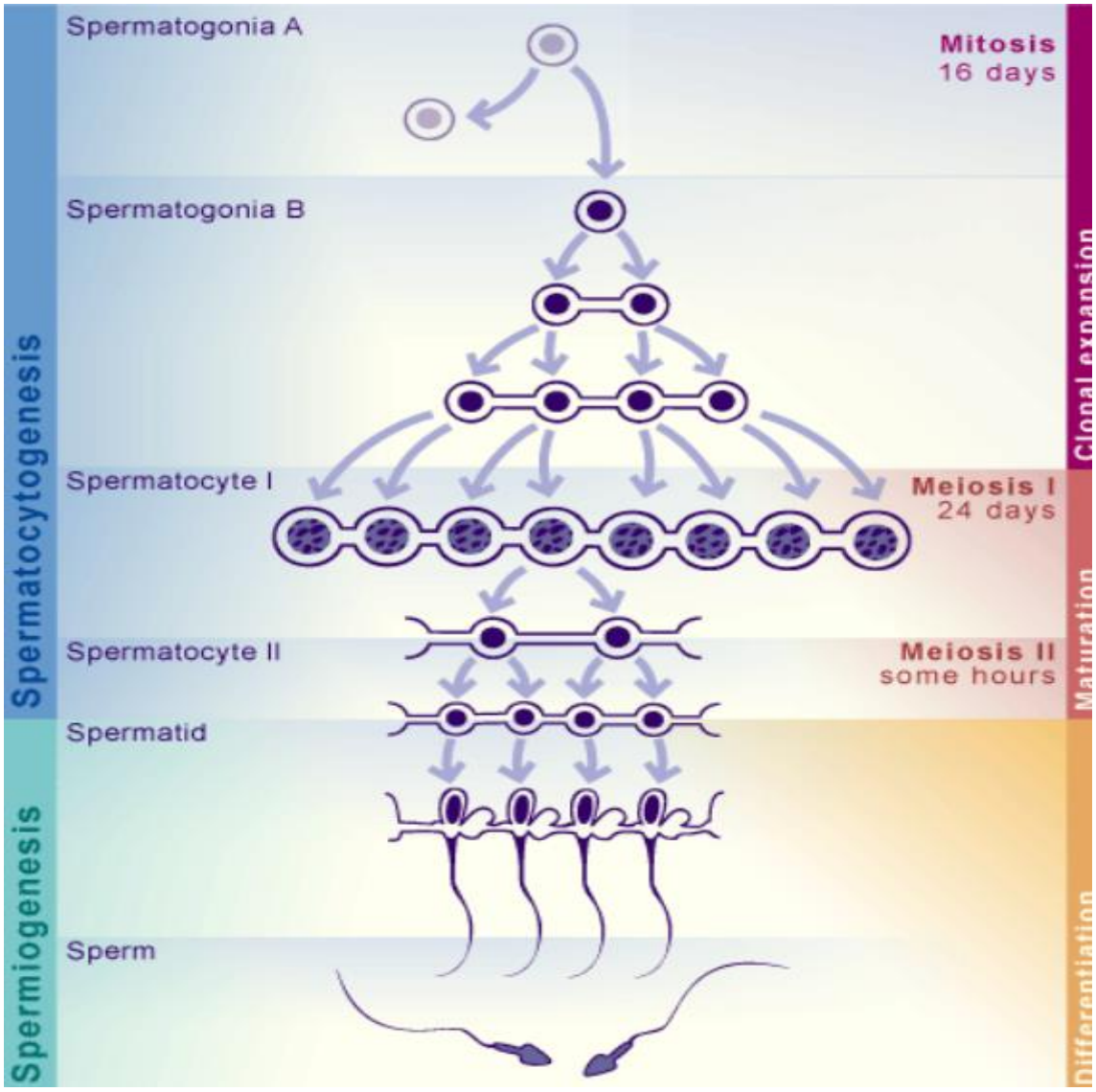


Figure 4: étapes de la spermatogenèse [62]

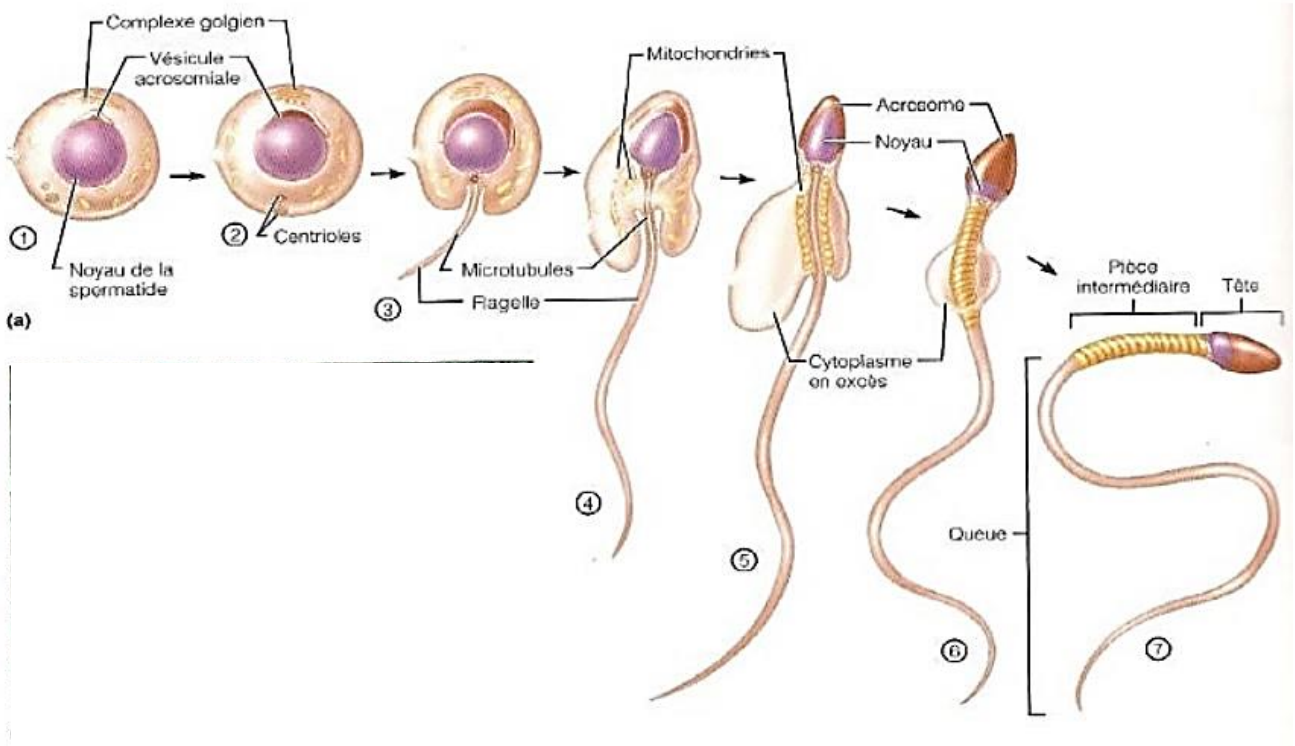


Figure 5: étapes de la spermiogenèse [28]

1.3.2. Le spermatozoïde normal [27]

Le spermatozoïde est une cellule mobile, mesurant environ 60 µm de long. En microscopie optique, on lui distingue deux parties : la tête et la queue, reliées entre elles par une pièce de connexion.

- La tête mesure 4 à 5 µm de long et 3 à 3,5 µm d'épaisseur. Elle est formée du noyau à chromatine très dense recouvert par l'acrosome. L'acrosome recouvre la moitié antérieure du noyau et contient les enzymes hydrolytiques (protéases, phosphatase acide, hyaluronidase et neuraminidase, entre autres). Les enzymes acrosomiales sont libérées lors de la fécondation pour faciliter la pénétration du spermatozoïde dans la corona radiata et la zone pellucide entourant l'ovule.
- La pièce de connexion mesure environ 1 µm de longueur et de largeur. C'est un segment étroit contenant une paire de centrioles. Le centriole distal

donne naissance à l'axonème, le constituant central de la queue du spermatozoïde.

- La queue mesure environ 40 à 50 µm et est subdivisée en trois segments: la pièce intermédiaire, la pièce principale et la pièce terminale.

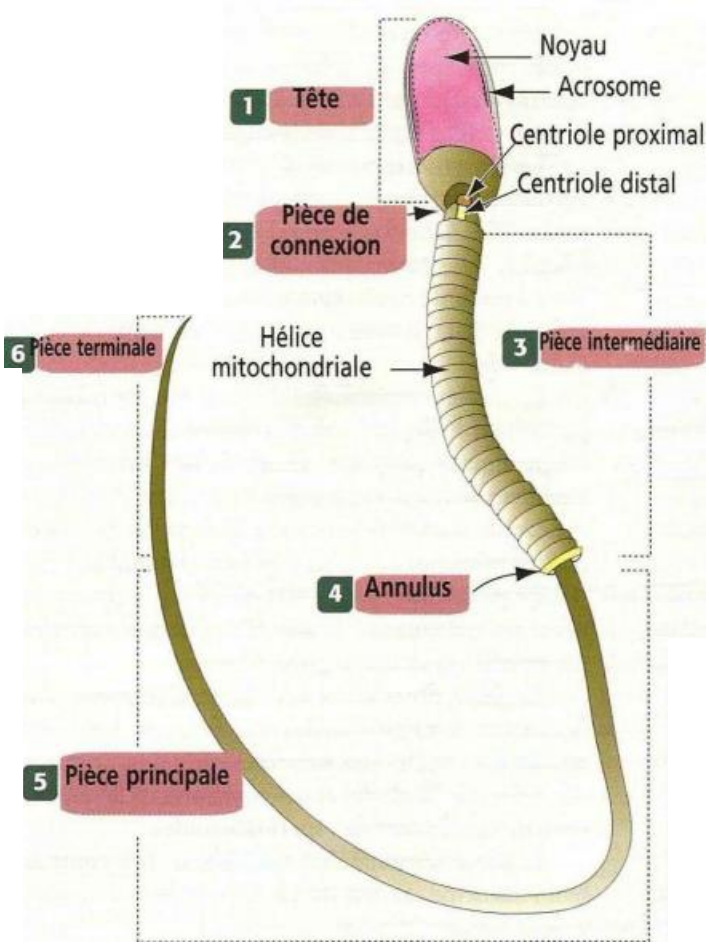


Figure 6: spermatozoïde normal [23]

1.3.3. Fonction de la reproduction chez l'homme

Le noyau arqué de l'hypothalamus sécrète de manière pulsatile toutes les 90 minutes, la Gonadotrophin Releasing Hormone (GnRH), transportée vers l'antéhypophyse qui sécrète les glycoprotéines que sont la luteinizing hormone (LH) et la follicle stimulating hormone (FSH). La LH agit sur les cellules de Leydig pour stimuler la production de la testostérone. La FSH agit conjointement avec la testostérone intra testiculaire au niveau des cellules de Sertoli et stimule

la spermatogenèse. Leur action est essentielle à la fonction de reproduction chez l'homme comme la femme [28].

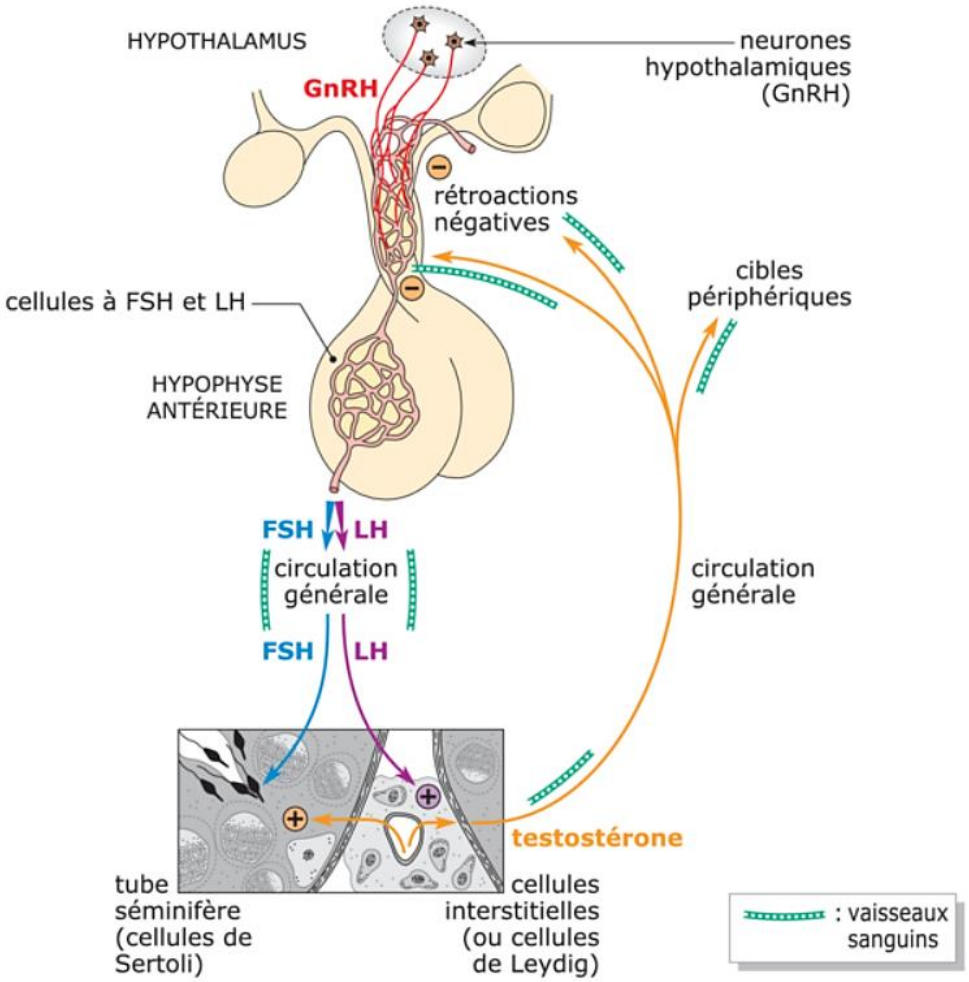


Figure 7: régulation physiologique de l'axe gonadotrope masculin [30]

1.4. Infertilité masculine

14.1. Epidémiologie

Dans le monde, on estime que l'infertilité est d'origine masculine dans 30% des cas [6]. La responsabilité masculine devant une infertilité du couple est de mieux en mieux connue de nos jours [7].

1.4.2. Causes

Les infertilités masculines peuvent être expliquées par 3 principaux mécanismes dont la fréquence est inégale :

- L'hypogonadisme hypo gonadotrope sévère qui empêche ou interrompt l'activation testiculaire nécessaire à la production des spermatozoïdes : cause **pré-testiculaire**
- Des maladies primitivement testiculaires altérant le déroulement de la spermatogenèse : cause **testiculaire**
- Des affections ou lésions empêchant l'évacuation des spermatozoïdes en dehors du testicule : cause **post-testiculaire** ou par obstacle.
- A côté de ces principaux mécanismes, il reste des infertilités masculines dites « idiopathiques » où l'étiologie est difficile à identifier avec les outils diagnostiques actuels mais qui relèvent possiblement d'un des mécanismes ci-dessus.

1.4.2.1. Etiologies pré-testiculaires [29]

Ce sont des troubles endocriniens qui touchent l'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire. Il s'agit de l'hypogonadisme primaire et/ou secondaire.

1.4.2.2. Etiologies testiculaires [29,30]

Elles sont les plus fréquentes. L'anomalie concerne le testicule et se caractérise par une diminution voire une absence totale de la production de spermatozoïdes.
L'origine testiculaire de l'infertilité peut être en rapport avec des anomalies génétiques. Ainsi des mutations ou des délections de certains gènes peuvent être responsable d'une altération de la spermatogenèse.
Certaines anomalies chromosomiques touchent les gonosomes (chromosome X ou Y) ou les autosomes. Le syndrome de Klinefelter constitue une cause majeure d'infertilité masculine puisque trouvé chez près de 15% des hommes azoospermiques. Il s'agit d'une anomalie chromosomique de nombre caractérisée

par la présence d'un chromosome X supplémentaire dans un caryotype masculin (garniture chromosomique 46, XY).

Outre les causes génétiques et chromosomiques, la spermatogenèse peut également être altérée à cause d'une cryptorchidie (absence de descente d'un ou des deux testicules dans le scrotum). Le ou les testicules en position intraabdominale sont en effet altérés par une condition thermique défavorable.

La varicocèle peut également avoir un impact négatif sur la spermatogenèse. Il s'agit d'une dilatation des veines du cordon spermatique. Cette dilatation provoque un ralentissement de la circulation sanguine de retour. Cette anomalie est retrouvée fréquemment dans la population générale (15 à 20 %) et chez environ 40 % des hommes infertiles.

La spermatogenèse peut également être altérée par des atteintes testiculaires bactériennes ou virales (orchite ourlienne), des traumatismes, une torsion testiculaire, certaines pathologies (diabète, hémochromatose), une exposition à des facteurs physiques (radiations ionisantes, chaleur) ou chimiques (métaux lourds, herbicides, pesticides etc…).

Des causes iatrogènes (chimiothérapies anticancéreuses, stéroïdes anabolisants, médicaments hyperprolactinémiants, cimétidine, anticonvulsivants, la chirurgie) et toxicologiques (alcool, tabac, cocaïne) ont été aussi rapportées.

1.4.2.3. Etiologies post-testiculaires [29]

Les étiologies post-testiculaires sont des anomalies qui s'opposent à l'évacuation normale du sperme. Elles peuvent être anatomiques (hypospadias, agénésie congénitale bilatérale des canaux déférents souvent associées à des mutations CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator)), infectieuses (infections sexuellement transmissibles comme la gonorrhée) ou iatrogène (les séquelles chirurgicales suite à une cure herniaire). Il peut s'agir également d'une anomalie de l'éjaculation (éjaculation rétrograde).

1.4.3. Exploration de la fonction de reproduction masculine

L'exploration biologique de la fertilité masculine est basée sur l'étude du sperme; elle permet d'apprécier l'ensemble des évènements qui se sont produits dans l'appareil génital masculin depuis le démarrage de la spermatogénèse jusqu'à l'éjaculation [31].

1.4.3.1. Bilan biologique

- **Le spermogramme**

Le spermogramme est un examen médical, qui explore les différentes étapes de production et de transport des spermatozoïdes ainsi que la production des glandes annexes [29]. Il s'agit de l'examen de première intention pour évaluer l'infertilité masculine.

Il est réalisé au mieux dans un laboratoire ayant l'agrément en biologie de la reproduction. Le recueil se fait par masturbation ou par coït interrompu au laboratoire, après trois à cinq jours d'abstinence sexuelle. Dans le cas où il est réalisé hors du laboratoire, le prélèvement doit être acheminé au plus tard 25 minutes après. L'examen comporte deux phases : l'examen macroscopique et l'examen microscopique.

- **Examen macroscopique :**

Avant de commencer l'analyse du sperme, une période de temps doit être accordée pour la liquéfaction. La durée normale de liquéfaction est de 30 minutes [29].

  - **Viscosité**

    La viscosité est évaluée semi-quantitativement en observant la manière dont le sperme s'écoule à l'extrémité de la pipette. Elle est normale si les gouttes sont séparées, augmentée si les gouttes sont non séparées (filament plus ou moins long) et forte si l'éjaculat ne peut être prélevé et reste en bloc [32].

- **Volume**

  Le volume de l'éjaculat est mesuré à l'aide d'une pipette ou d'un cylindre gradué [29]. Le volume renseigne sur le fonctionnement du système glandulaire. Un faible volume inférieur à 1,5 ml (hypospermie) peut traduire un hypogonadisme, une testostérone plasmatique basse ou une agénésie vésiculaire. Par contre un volume élevé supérieur à 6 ml (hyperspermie) peut traduire une infection des glandes [33].

- **pH**

  Il reflète l'équilibre entre les sécrétions acides prostatiques et celles basiques des vésicules séminales. Le pH est mesuré à l'aide de papier pH après la liquéfaction [29].

- **Analyse microscopique** :
  - **Mobilité**

Il existe quatre catégories de spermatozoïdes :

- Catégorie « a » : progressif et rapide avec une trajectoire rectiligne, mouvement dit fléchant, supérieur à 25µm/s à 37°C ou supérieur à 20µm/s à 20°C (25µm correspond à peu près à cinq longueurs de tête ou à la moitié de la longueur du flagelle) ;
- Catégorie « b » : progressif et lent avec trajectoire non rectiligne (sinueuses) mais faible vitesse ;
- Catégorie « c » : mobile et non progressif avec déplacement de moins de deux longueurs de tête en une seconde ou, aucun déplacement avec des oscillations de la tête sur place et/ou de simples mouvements flagellaires ;
- Catégorie « d » : immobile, aucun déplacement, tête et flagelle immobiles [32].

- **La vitalité** :

  Elle est évaluée grâce au test à l'éosine, c'est une coloration qui est basée sur le principe de la perméabilité membranaire des cellules mortes à

l'éosine. Elle se fait par un décompte de 100 spermatozoïdes, le pourcentage de spermatozoïdes vivants. Ceux qui ne sont pas colorés en rouge ont une membrane plasmique qui n'est pas lésée, c'est-à-dire qu'ils sont vivants, tandis que ceux qui sont colorés en rouge ont une membrane lésée permettant à l'éosine de pénétrer à l'intérieur de la cellule, c'est-à-dire qu'ils sont morts [17]. On parlera de nécrospermie si le taux de spermatozoïdes vivants est inférieur à 58 % [33].

- **Numération des spermatozoïdes**

  Cette étape permet de déterminer la concentration de spermatozoïdes dans l'éjaculat à analyser. Une dilution du sperme est réalisée dans une solution immobilisante (formol 1 %). L'appréciation de la numération se fait à l'aide d'un hémocytomètre (la cellule de Malassez). La concentration est déterminée sous microscope optique au grossissement (40 x) [29].

- **Concentration des cellules rondes** [29] :

  Les cellules rondes présentes dans le sperme correspondent soit à des spermatozoïdes immatures ou des leucocytes. Un éjaculat devrait normalement en contenir moins de 1 million par ml. Lorsque la valeur est supérieure ou égale à 1 million par ml, il est important de déterminer la part des leucocytes.

- **Appréciation de l'agglutination** [32] :

  L'agglutination des spermatozoïdes est définie par l'attachement de spermatozoïdes mobiles entre eux par la tête, par la pièce intermédiaire, ou par le flagelle ou de manière mixte. L'agglutination doit être évaluée sur au moins 10 champs pris au hasard. La présence d'agglutinats incite à faire des tests immunologiques.

  Les normes d'interprétation et les anomalies spermatiques de cet examen selon l'OMS, sont reprises dans le tableau suivant.

Tableau I: Spermogramme et anomalies selon l'OMS.

Paramètres	Valeurs normales	Valeurs anormales	Pathologies
volume de l'éjaculat	1,5 - 6 ml	0 ml	aspermie
		< 1 ,5 ml	hypospermie
		> 6 ml	hyperspermie
pH	7,2 - 8	< 7,2	Acide
		> 8	Basique
numération	≥ 15 millions/ml	< 15millions/ml	oligozoospermie
des spermatozoïdes		> 200 millions/ml	polyzoospermie
mobilité à la première heure	≥ 40 %	< 40 %	asthénozoospermie
vitalité	≥ 58 %	< 58 %	nécrozoospermie
formes typiques	≥ 4%	< 4 %	tératozoospermie
leucocytes	< 1 000 000/ml	>1 000 000/ ml	leucospermie
cellules rondes	< 1 millions/ml	-	-
agglutinats	Absence	-	-
autres	-	présence de pus	pyospermie
		présence de sang	hémospermie

- **Spermocytogramme** [32]**.**

Le spermocytogramme est une appellation usuelle pour l'analyse morphologique des spermatozoïdes humains, comprenant l'évaluation du pourcentage de spermatozoïdes morphologiquement normaux et la détermination de la fréquence des diverses anomalies morphologiques. Il représente une étape indispensable de l'analyse du sperme humain. La morphologie des spermatozoïdes est appréciée par la classification KRUGER après coloration au Papanicolaou.

La classification de KRUGER recense en dehors des spermatozoïdes morphologiquement normaux : sept anomalies de la tête (têtes allongées, amincies, microcéphales, macrocéphales, multiples, anomalies de la région acrosomique, anomalies de la base), trois anomalies de la pièce intermédiaire (reste cytoplasmique, pièce intermédiaire grêle, pièce intermédiaire angulée) et cinq anomalies de la pièce principale (absente, écourtée, de calibre irrégulier, enroulée et multiple).

- **Spermoculture avec antibiogramme**

Elle fait partie intégrante du bilan de première intention. La culture est positive si la concentration en germes est significative (supérieur à 10 000/ml) [34].

- **Explorations immunologiques**

Ce sont des analyses qui permettent la recherche d'anticorps anti-spermatozoïdes dans le sperme.

- **Biochimie séminale**

Elle est réalisée sur le liquide séminal qui constitue la fraction liquidienne du sperme. Elle sera plus indiquée en cas d'oligozoospermie ou d'azoospermie. La recherche de ces marqueurs biochimiques permet de préciser la nature sécrétoire ou excrétoire de l'azoospermie. La L-carnitine et l'alpha glucosidase sont deux marqueurs caractéristiques de l'épididyme, le fructose celui des vésicules séminales et l'acide citrique et les phosphatases acide pour la prostate [35].

- **Analyse d'urine post-éjaculaculoire**

Son principal objectif est de rechercher les spermatozoïdes dans les urines. La présence de gamètes dans les urines fait évoquer le diagnostic d'éjaculation rétrograde [35].

1.4.3.2. Bilan hormonal [36,37]**.**

- **Dosage sérique de la testostérone**

Le dosage de la testostérone circulante est un paramètre majeur de l'exploration de la fonction gonadique.

- **Dosage sérique de la Follicule Stimulating Hormone (FSH)**

Le dosage sérique de l'hormone de stimulation folliculaire (FSH) permet de faire la distinction entre hypogonadisme, hyper-, hypo- ou normogonadotrope.

1.4.3.3. Bilan d'imagerie [38]

- **L'échographie transrectale**

Elle visualise les anomalies des voies séminales profondes. Elle est indiquée chez les patients azoospermiques chez qui on suspecte une cause excrétoire.

- **L'échographie doppler du contenu scrotal**

Elle est réalisée à la recherche de la vascularisation du testicule et de la dilatation des plexus veineux intra-scrotaux. Elle mesure la taille des testicules et identifie les anomalies intra-parenchymateuses.

1.4.3.4. Bilan génétique [3]

- **Caryotype**

Il est réalisé à la recherche des anomalies de structure et/ou de nombre des chromosomes

- **Etude des gènes du chromosome Y**

Elle est réalisée à la recherche des mutations des gènes du chromosome Y, notamment le gène AZF, CFTR.

1.4.3.5. Biopsie testiculaire [39]

Elle permet la recherche d'une anomalie au niveau des tissus notamment des tubes séminifères. Elle est indiquée dans les azoospermies avec volume testiculaire normal et dosages hormonaux normaux. En présence d'une infection épididymo-testiculaire, la biopsie est contre-indiquée. Mais cette biopsie est en voie de disparition pour le diagnostic, et l'on préfère désormais les biopsies thérapeutiques à la recherche de gamètes pour une fécondation in vitro (FIV).

1.3.4. Fragmentation de l'ADN spermatique

- **Origine de la fragmentation** [29]

La chromatine des gamètes est susceptible d'être altérée, au cours de la spermatogenèse. Habituellement, le taux de fragmentation est faible dans la plupart des spermatozoïdes (25%).

Après fécondation, l'ovocyte peut contribuer à réparer ces coupures anormales, sous réserve qu'elles se trouvent dans une proportion raisonnable. Il peut arriver que les brins de l'ADN spermatique se coupent de manière excessive se traduisant par une augmentation du taux de fragmentation.

Trois théories principales sont proposées pour tenter d'expliquer ces dommages.

Une première hypothèse concerne **le défaut de compaction de l'ADN** des spermatozoïdes matures. En règle générale, plus des deux tiers de la chromatine des spermatozoïdes est très compactée grâce aux protamines. La compaction chromatinienne des spermatozoïdes requiert des endonucléases qui aident au remplacement des histones par des protamines en générant des cassures dans l'ADN.

La deuxième théorie susceptible d'expliquer la présence de dommages dans l'ADN des spermatozoïdes éjaculés concerne la production de **substances réactives de l'oxygène** (SRO). Les SRO jouent un rôle physiologique très important dans la différenciation et les fonctions des spermatozoïdes. Ils sont nécessaires pour que les spermatozoïdes acquièrent une maturation fonctionnelle.

Il est prouvé que l'O_2 (oxygène), le H_2O_2 (peroxyde d'hydrogène) et le monoxyde d'azote (NO) sont trois SRO qui ont un rôle dans l'activation des spermatozoïdes. La quantité de SRO générées est contrôlée par des antioxydants présents dans le liquide séminal des hommes fertiles. Un déséquilibre entre les SRO et les antioxydants en faveur des SRO provoquent un stress oxydatif ; qui sera responsable de la fragmentation.

La troisième hypothèse concernerait le défaut du phénomène d'**apoptose au cours de la spermatogenèse**. L'apoptose intervient dans le maintien du nombre de cellules germinales par rapport au nombre de cellules de Sertoli. L'apoptose pourrait permettre l'élimination des spermatozoïdes éjaculés anormaux et potentiellement néfastes. Parfois, les mitochondries sont également impliquées car elles libèrent des facteurs pro apoptotiques qui activent la caspase 3, conduisant à la fragmentation de l'ADN. La présence dans un éjaculat de spermatozoïdes montrant des traits apoptotiques ainsi qu'une fragmentation de l'ADN suggèrerait qu'un processus d'apoptose a été déclenché, mais que celui-ci n'a pu aller jusqu'à son but ultime.

- **Causes de la fragmentation** [29]

Les causes sont variées et peuvent être intrinsèques ou extrinsèques.

Les facteurs intrinsèques incluent :

- Une **sélection non efficace** c'est-à-dire qu'après la production, les spermatozoïdes qui souffrent d'altérations de type génétique se traduisent par des ruptures de l'ADN. Ces spermatozoïdes endommagés sont généralement sélectionnés et éliminés, mais si le mécanisme de sélection est altéré, des spermatozoïdes avec ADN fragmenté apparaissent dans l'éjaculat.
- Une **maturation incorrecte :** les spermatozoïdes passent par un processus de maturation dans l'épididyme qui est connu comme maturation épididymaire. Ce processus de maturation implique la condensation de la chromatine nucléaire et l'acquisition de la mobilité

spermatique. Si ce processus n'est pas fait correctement, des lésions de l'ADN spermatique peuvent se vérifier.

Les facteurs extrinsèques incluent les lésions induites par une radio/chimiothérapie, une varicocèle, un épisode de forte fièvre, une exposition aux températures élevées, le tabac, l'alcool.

Le rôle du **stress oxydatif post-testiculaire** n'est pas à négliger. Durant le transport des spermatozoïdes à travers le tractus génital mâle et femelle, une fragmentation de l'ADN spermatique peut survenir. Un des mécanismes est en relation avec la production de radicaux libres, soit à cause de spermatozoïdes immatures, soit à cause de cellules épithéliales de l'épididyme qui endommagent directement le matériel génétique du spermatozoïde. Les germes présents dans le tractus génital peuvent également produire des substances réactives de l'oxygène.

1.3.5. Exploration de la qualité nucléaire du spermatozoïde

La qualité nucléaire du spermatozoïde est un élément déterminant dans le processus de la fécondation et du développement embryonnaire initial [40].

Elle concerne d'une part le patrimoine génétique transmis au conceptus par le spermatozoïde, résultat du processus méiotique et d'autre part l'état chromatinien, acquis au cours de la spermiogenèse, visant à protéger cet héritage génétique lors du transit des gamètes du tube séminifère au cytoplasme ovocytaire [40].

Le degré de compaction de la chromatine intervient dans la protection physique de l'ADN du spermatozoïde lors de la traversée des structures péri-ovocytaires et notamment de la zone pellucide [16].

L'exploration de la qualité nucléaire a un intérêt dans la reproduction. On considère que l'intégrité de l'ADN des spermatozoïdes est essentielle pour une fécondation normale, un bon développement embryonnaire jusqu'à l'accouchement [41]. La fragmentation de l'ADN des spermatozoïdes a un impact sur les chances de grossesses en fertilité naturelle mais aussi en assistance médicale à la procréation (AMP). Simon et al, en 2014 [42] à Salt Lake City, aux

Etats-Unis, ont montré au cours d'une étude sur des couples infertiles ayant bénéficier d'une assistance médicale à la procréation (FIV et ICSI) qu'un défaut de fécondation était positivement associé aux dommages à l'ADN des spermatozoïdes.

La qualité nucléaire des spermatozoïdes joue un rôle dans la survenue des grossesses naturelles. Zini et al, en 2009, à Montréal [38] ont remarqué également que chez les hommes infertiles un taux de l'ADN fragmenté > 30% est corrélé avec une mauvaise qualité embryonnaire et un risque d'avortement spontané. En plus, un taux élevé de fragmentation de l'ADN a été rapporté dans les spermatozoïdes d'hommes dont les conjointes avaient une histoire de fausses couches à répétition.

Les dommages de l'ADN spermatique pourraient être réparés par l'ovocyte après la fécondation si ces dommages ne dépassent pas la capacité de réparation de l'ovocyte (< 8%). L'intégrité de l'ADN spermatique a donc des implications diagnostiques et pronostiques chez les couples ayant des fausses couches à répétition.

L'évaluation de l'intégrité de l'ADN spermatique permet de prédire la chance d'une conception naturelle ou assistée. Quand l'index de fragmentation (IDF) est supérieur à 20%, la probabilité de conception in vivo est diminuée et quand l'IDF est supérieur à 30%, l'injection intra-cytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI) devrait être proposée aux couples au lieu d'une FIV [43].

Il a été suggéré que l'évaluation des dommages causés à l'ADN des spermatozoïdes à l'aide du test de structure de la chromatine des spermatozoïdes (SCSA) à base d'acridine orange (AO), exprimé sous la forme de l'indice de fragmentation de l'ADN (IDF), donne un seuil unique pour l'infertilité in vivo. En effet, si l'IDF dépasse un seuil fixé autour de 30 %, les chances de réussite d'une grossesse, soit par conception naturelle, soit par insémination intra utérine, sont proches de zéro [44]. Plusieurs techniques permettent d'apprécier la qualité nucléaire du spermatozoïde à travers les tests de condensation et de fragmentation.

Les techniques de mesure de la fragmentation de l'ADN spermatique sont :

- Technique des comètes
- Technique d'analyse de la structure de la chromatine des spermatozoïdes (SCSA)
- Technique de marquage des brins d'ADN avec la désoxyribonucléotidyle exotransférase (TUNEL)
- Test de dispersion de l'ADN des spermatozoïdes
- Méthode radioenzymatique
- Test à l'orange acridine.

Les techniques de mesure de la décondensation de l'ADN spermatique sont :

- Test au bleu de toluidine
- Test au bleu d'aniline
- Test a la chromomycine A3

Dans cette étude nous avons utilisé les tests à la coloration du bleu de toluidine et à la coloration de l'orange acridine.

2. CADRE ET METHODE D'ETUDE

2.1. Cadre

L'étude s'est déroulée au Bénin, dans l'enceinte de 03 laboratoires de biologie médicale ayant les caractéristiques requises et le matériel nécessaire. Ces laboratoires sont : le laboratoire du centre de recherche en reproduction humaine et en démographie (CERRHUD), le laboratoire de biologie médicale du centre hospitalier et universitaire de la mère et de l'enfant de la lagune (CHU-MEL), et la section biologie de la reproduction du laboratoire d'histologie, embryologie et de cytogénétique de la faculté des sciences de la santé (FSS).

- **Laboratoire du CERRHUD**

Le CERRHUD est une organisation de santé publique à statut « association, loi 1901 », associée à la clinique universitaire de gynécologie obstétrique (CUGO) du CNHU-HKM de Cotonou au Bénin.

Depuis ses débuts en 1979, le CERRHUD a (co) conçu et mis en œuvre plusieurs projets d'envergure et a acquis une solide réputation aux niveaux national, régional et international. Depuis sa création, le CERRHUD a développé de fortes « racines » au Bénin et dans de nombreux pays d'Afrique francophones et les pays anglophones.

Le CERRHUD mène des travaux de recherches et d'interventions sur des questions de santé telles que :

- La biologie de la reproduction
- La nuptialité, la fécondité et la parenté
- Les comportements sexuels
- Les aspects sociaux de la reproduction
- Les questions relatives à la clinique et à l'épidémiologie des problèmes de santé sexuelle et reproductrice

Il dispose de trois sites :

- Le siège social, ilot Patte d'Oie Awhanleko
- L'administration sise au CUGO-CNHU Avenue Jean-Paul II et

- Le laboratoire de biologie de la reproduction et centre de documentation sise à Gbegamey Rue 607, Carré 750.

Le laboratoire de biologie de la reproduction réalise plusieurs analyses et examens visant à diagnostiquer la pathologie de la reproduction, de la procréation, mais aussi la mise en place de techniques de biologie interventionnelle au cours de l'assistance médicale à la procréation.

- **Laboratoire du CHU-MEL**

Le laboratoire est situé dans le même bloc et au-dessus du service de vaccination. Il est dirigé par un médecin biologiste. Le laboratoire est constitué de quatre sections : la section d'hématologie-parasitologie, la section de biochimie, la section de la bactériologie et la section de la sérologie. Les techniciens des actions sanitaires en analyse biomédicale.

- **Laboratoire de la FSS**

Le laboratoire dispose d'une salle de manipulation, d'une salle de microscopie, d'une salle polyvalente, d'une salle de météorologie et d'une salle de culture. Il compte deux techniciens chargé des travaux, un docteur en génétique, un chargé de recherche qui est responsable du plateau technique et de la gestion du laboratoire, un Maitre de conférence et un Professeur responsable du laboratoire.

2.2. Méthode

2.2.1. Type et période d'étude

Il s'agissait d'une étude transversale analytique portant sur des patients venus dans le cadre d'un bilan d'infertilité. L'étude s'est déroulée sur une durée de 06 mois allant du mois de mai 2023 à octobre 2023.

2.2.2. Population d'étude

La population d'étude était constituée par les patients reçus dans le cadre d'un bilan d'infertilité, dans les laboratoires du centre hospitalier et universitaire de la mère et de l'enfant de la lagune (CHU-MEL), du centre de recherche en

reproduction humaine et en démographie (CERRHUD), et la section biologie de la reproduction de la FSS pendant la période d'étude.

2.2.3. Echantillonnage

L'échantillonnage a consisté en un recrutement exhaustif et fait selon les critères d'inclusion et de non-inclusion.

2.2.3.1. Taille de l'échantillon

Ce calcul a été possible grâce à la formule de Schwarz, soit n la taille de l'échantillon, *n* représente la taille minimale pour avoir des résultats probants, $\boldsymbol{n} = \frac{(\varepsilon\alpha)^2 \times \boldsymbol{p} \times \boldsymbol{q}}{\boldsymbol{i}^2}$ avec un intervalle de confiance de 95%, α écart réduit à un risque de 5 % , une probabilité de survenue p à 0,2 ; une probabilité de non survenue q (1-p) et une précision i de 0,05 ; la taille est donc 246.

n=taille de l'échantillon

p=probabilité de survenue

q= probabilité de non survenue

i= précision.

2.2.3.2. Critères d'inclusion

Ont été inclus dans l'étude tous hommes adressés pour bilan d'infertilité du couple.

2.2.3.3. Critères de non-inclusion

Tout patient n'ayant pas accepté de participer à l'étude.

2.2.3.4. Critères d'exclusion

Ont été exclus les patients présentant une azoospermie.

2.2.4. Outils et technique de collecte

2.2.4.1. Outils de collecte

Une fiche d'enquête et une fiche de paillase pour la lecture des colorations au bleu de toluidine et à l'orange acridine.

2.2.4.2. Technique de collecte

Après avoir obtenu l'autorisation du comité d'éthique et de chacun des chefs de service des différents laboratoires, nous avons collecté les données nécessaires à notre étude à travers la fiche d'enquête. Chaque patient a subi un interrogatoire minutieux permettant ainsi de remplir la fiche d'enquête. Pour ce faire, nous nous sommes fait aider par une tierce personne en ce qui concerne le remplissage de la fiche d'enquête. Un spermogramme/spermocytogramme a été systématiquement réalisé dans les laboratoires par les techniques décrites précédemment. À partir des frottis de sperme, les colorations (bleu de toluidine et orange acridine) ont été réalisées. Les données sociodémographiques, cliniques et spermatiques ainsi que les résultats des colorations ont été reportés sur la fiche d'enquête et la fiche de paillasse. Les frottis de sperme ont été utilisés pour analyser la qualité de l'ADN spermatique. Le test de condensation de l'ADN a été réalisé par la coloration au bleu de toluidine et le test de fragmentation par la coloration à l'orange acridine. Les protocoles de coloration utilisés sont décrits ci-dessous.

2.2.4.2.1. La coloration au bleu de toluidine (BT).

Le bleu de toluidine ou chlorhydrate de triméthylthionine évalue le niveau de la condensation de la chromatine spermatique. C'est un colorant basique qui possède une forte affinité pour les molécules basophiles dont les acides nucléiques, qui seront alors coloré en différentes nuances de bleu. Dans le spermatozoïde, le bleu de toluidine colore le noyau en bleu de façon plus ou moins intense selon le degré d'ouverture de la chromatine : un ADN fortement condensé ne laissera pénétré

que peu de colorant, donnant un bleu très pâle au noyau, tandis qu'un ADN peu condensé accepte plus de colorant, apportant un bleu très foncé au noyau [45].

- **Produits nécessaires**
  - Bleu de toluidine de référence
  - Acide chlorhydrique (HCl)
  - Méthanol
  - Acétone
  - Phosphate di sodique (Na_2HPO_4)
  - Acide citrique
  - PBS (phosphate buffer salin) tampon phosphate salin 1%
  - Eau distillée
- **Matériel**
  - pH mètre
  - microscope optique à objectif 100 à immersion
  - lames et lamelles
  - pipette 5ml, 10 ml / fioles jaugées 250 ml, 500 ml, 1000 ml / flacon de 100 ml, 200 ml, 500 ml / bacs pour coloration / portoir de lame pour coloration/ huile à immersion / compteur
- **Réactifs**
  - HCl à 0,1 normal (à partir d'une solution commerciale d'HCl à 36% pour 1 litre d'HCl à 0,1N à préparer il faut 9 ml d'HCl 36% + 991 ml d'eau distillée)
  - Fixateur (méthanol + acétone mesurer volume à volume, c'est-à-dire 50 ml de méthanol + 50 ml d'acétone)
  - Tampon de McIlvan (200 mg de Na_2HPO_4, 100 mg d'acide citrique, pH=3,5)
  - Solution mère de bleu de toluidine 1% en tampon McIlvan (1g pour 100 ml de tampon McIlvan)

- **Méthode pratique** [46]
  - Après liquéfaction du sperme, prélever 0,5 ml de sperme dans un tube conique
  - Centrifuger à 1500 t/min pendant 10 minutes, puis décanter le plasma séminal
  - Ajouter 2 ml de PBS à pH 7,4 puis centrifuger à 1500 t/min pendant 10 minutes deux fois
  - Faire un frottis puis sécher à l'air ambiant
  - Fixer les lames à 4°C dans un mélange volume à volume d'éthanol 95° et d'acétone pendant 30 minutes
  - Incuber les lames à 4°C dans de l'HCl 0,1 N pendant 5 minutes.
  - Laver rapidement dans de l'eau distillée
  - Incuber les lames pendant 17 minutes à température ambiante dans une solution filtrée de bleu de toluidine à 1 % en tampon de McIlvain
  - Déshydrater les lames par des bains successifs de 2 minutes d'éthanol de degré croissant (70°, 95° puis 100°)
  - Monter les lames avec Eukitt
  - Observer et compter au microscope en contraste de phase, sur un total de 100 spermatozoïdes, les spermatozoïdes présentant une coloration pâle, bleu violet et bleu clair.
- **Avantages**
  - Apprécier la décondensation du noyau
- **Inconvénients**
  - Nécessite de l'obscurité pour sa manipulation

2.2.4.2.2. La coloration à l'orange acridine (OA).

L'orange d'acridine est un colorant perméable aux cellules qui se lie aux acides nucléiques. L'orange d'acridine est un colorant sélectif à l'acide nucléique perméable par les cellules qui émet de la fluorescence verte lorsqu'il est lié à l'ADN double brin (520 nm) et de la fluorescence rouge lorsqu'il est lié à l'ADN simple brin ou à l'ARN (650 nm). L'orange d'acridine est un composé qui colore différemment l'ADN double brin (vert) et l'ADN simple brin ou ARN (rouge vif). Le test à l'acridine orange est une coloration par fluorescence appelée test structurel à la chromatine des spermatozoïdes (SCSA) qui reflète la dénaturation de la chromatine des spermatozoïdes (ADN monobrin ou ADN à double brin) [47].

L'AO intercalée dans l'ADN double brin émet fluorescence verte, tandis que l'AO associée à l'ADN simple brin émet une fluorescence rouge [44].

- **Produits nécessaires**
  - Orange acridine de référence
  - Acide acétique glacial
  - Méthanol
  - Tampon phosphate
  - Phosphate di-sodique (Na_2HPO_4)
  - Acide citrique
  - PBS (phosphate buffer salin), tampon phosphate salin 1%
  - Eau distillée
- **Matériel**
  - pH mètre
  - microscope optique avec une source fluorescente Olympus BX61 à objectif 100 à immersion
  - pipette 5ml, 10 ml / fioles jaugées 50ml, 250 ml, 500 ml, 1000 ml / flacon de 100 ml, 200 ml, 500 ml / bacs pour coloration / portoir de lame pour coloration/ huile à immersion / compteur

- **Réactifs**
  - Solution de Carnoy (composé de 3 volumes de méthanol et 1 volume d'acide acétique glacial)
  - Solution tampon phosphate d'acide citrique, pH 2,5 (0,1M acide citrique et 0,3M de tampon phosphate)
  - Solution de stock (on dissout dans un bécher 50 mg de poudre d'acridine orange dans 10 ml d'eau distillée. La solution de stock est conservée au réfrigérateur)
  - Solution de travail d'acridine orange (la solution utilisée en routine dite de travail est préparée en ajoutant dans une fiole jaugée de 50 ml, 1 ml de la solution de stock, 0,5 ml d'acide acétique glacial et un volume d'eau distillée en quantité suffisante pour obtenir le volume nécessaire).
- **Méthode pratique** [48]

La coloration des frottis de sperme se fait selon les étapes suivantes :

- Après liquéfaction du sperme, prélever 0,5 ml de sperme dans un tube conique
- Centrifuger à 1500 t/min pendant 10 minutes, puis décanter le plasma séminal
- Ajouter 2 ml de PBS à pH 7,4 puis centrifuger à 1500 t/min pendant 10 minutes deux fois
- Faire un frottis puis sécher à l'air ambiant
- Fixer des lames par la solution de Carnoy pendant 4 heures de temps
- Incuber des lames fixées dans une solution tampon phosphate d'acide citrique, pendant 7 minutes
- Colorer des lames dans une solution de travail d'acridine orange pendant 10 minutes
- Observer les lames au microscope à fluorescence
- Sur un total de 100 spermatozoïdes, les spermatozoïdes présentant une coloration verte, jaune et rouge seront comptés.

L'index de fragmentation de l'ADN (IDF) correspond au total de spermatozoïdes orange acridine positif (rouge). Il est admis que des valeurs supérieures à 25%, sont considérées comme pathologiques [49].

- **Avantages**
  - Déterminer la nature du matériel génétique présent (ADN ou ARN)
  - Apprécier la fragmentation de l'ADN
- **Inconvénients**
  - Nécessite de l'obscurité pour sa manipulation et sa lecture
  - Substance cancérigène pour la peau

2.2.5 Description des variables de l'étude

2.2.5.1. Variables dépendantes

Données des colorations

- Bleu de toluidine : niveau de décondensation de l'ADN spermatique
- Orange d'acridine : taux de fragmentation de l'ADN spermatique

2.2.5.2 Variables indépendantes

- Données sociodémographiques
  - Age : il s'agit de l'âge du sujet au moment de l'étude
  - Profession : le métier qu'exerce le sujet au moment de l'étude
- Antécédents médicaux et chirurgicaux ;
- Traitement en cours : molécule et durée ;
- Paramètres anthropométriques : poids, taille, indice de masse corporelle ;
- Enquête sociale
  - Consommation d'alcool ou non : quantité d'alcool consommée par jour, par semaine ;
  - Consommation de tabac : nombre de paquet-années ;
  - Stress.
- Données spermatiques

2.2.5. Traitement et analyse des données

Les données recueillies ont été saisies sous forme de base de données avec le logiciel Microsoft Office Excel 2013. Elles ont été ensuite analysées avec les logiciels Microsoft Office Excel 2013 et R version 4.3.2 (2023_10_31 ucrt). Les proportions ont été calculées pour les variables qualitatives. Les variables quantitatives étaient exprimées en moyenne et écart-type. Les graphiques et les tableaux ont été réalisés par le logiciel Microsoft Office Excel 2013

2.2.6. Considérations éthiques et administratives

L'accord des autorités compétentes à divers niveaux a été obtenu avant la collecte des données en l'occurrence celui des chefs de services des différents laboratoires. Nous avons obtenu l'avis favorable du comité d'éthique de recherche de l'institut des sciences biomédicales appliquées (CER-ISBA) sous le numéro N°182/23 du 30/10/2023. Le consentement éclairé et signé par le patient a été obtenu. La confidentialité des données a été également assurée.

3. RESULTATS

3.1. Diagramme de flux

151 patients ont été reçus dont 04 exclus car présentant une azoospermie.

87 patients (**59,19%**) des patients provenaient du CERRHUD, 12 patients (**8,16%**) du CHU-MEL et 48 patients (**32,65%**) de la FSS.

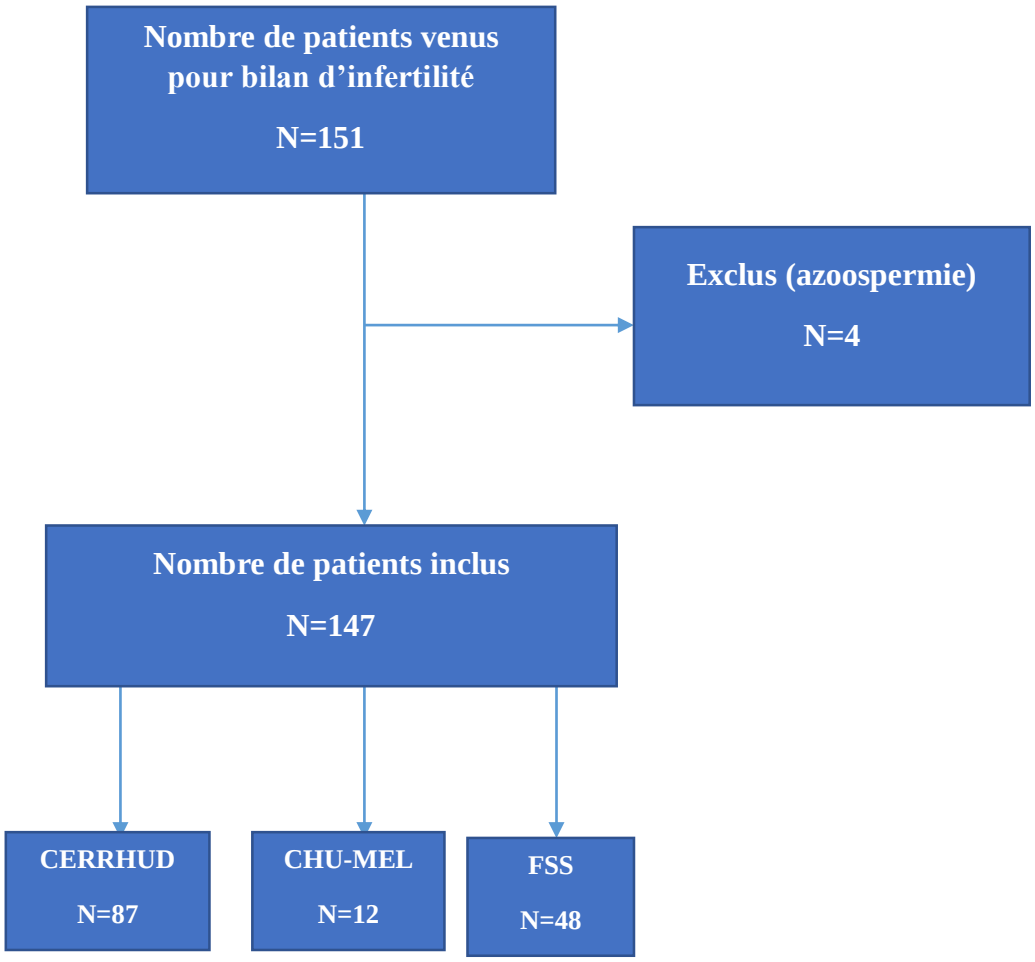


Figure 8: diagramme de flux

3.2. Données sociodémographiques

3.2.1. Age

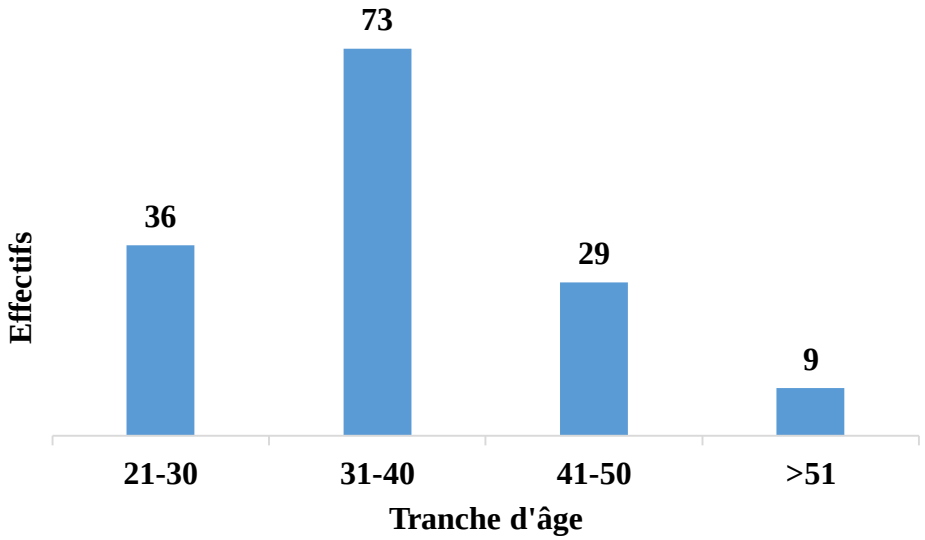


Figure 9: répartition des patients selon l'âge (en année) (N=147)

L'âge moyen était de **36,71 ± 6 ans** avec les extrêmes de **21 ans** et **72 ans**. La tranche d'âge comprise entre 31 et 40 ans était la plus représentée avec 73 patients (**49,66%**). Les patients de plus de 51 ans étaient peu nombreux avec un pourcentage de **19,14%**.

3.2.2. Profession

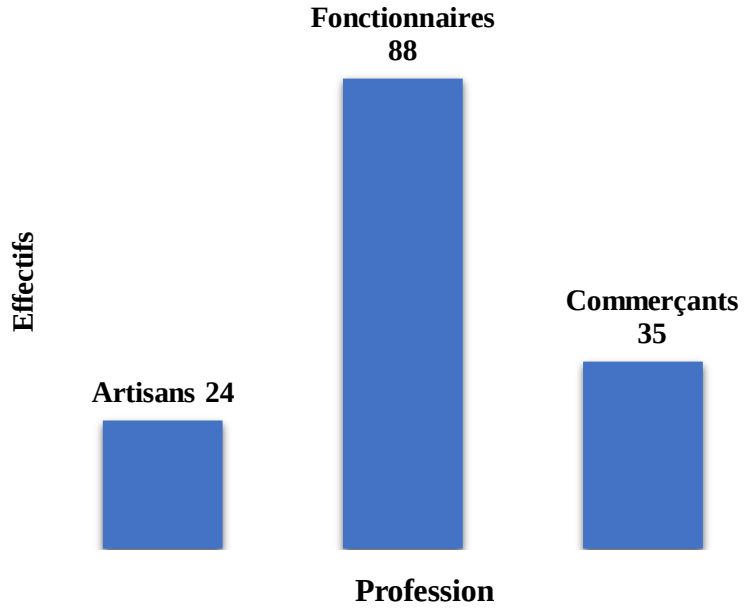


Figure 10: répartition des patients en fonction de la profession (N=147)

La catégorie professionnelle la plus représentée était celle des fonctionnaires avec 88 patients (**60%**). Elle est suivie de celles des commerçants.

3.2.3. Type d'infertilité

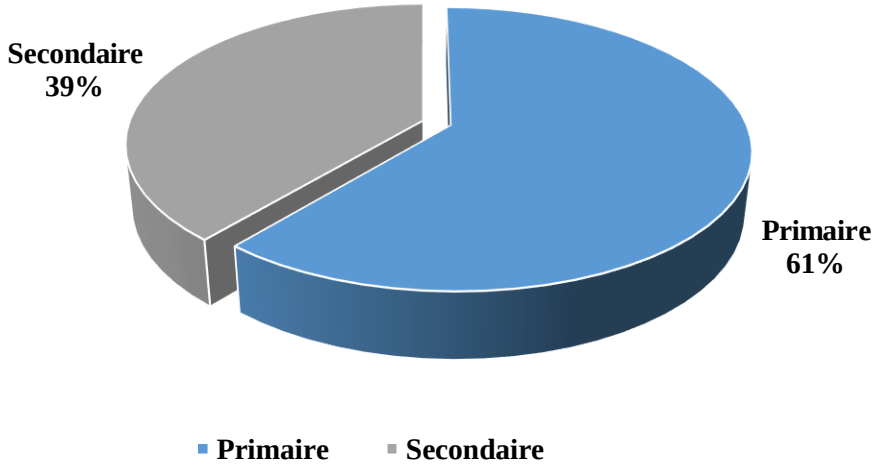


Figure 11: répartition des patients en fonction du type d'infertilité (N=147)

Selon le motif de consultation, nous avons constaté que 90 patients (**61%)** étaient atteints d'infertilité primaire et 57 patients (**39%**) avaient une infertilité secondaire.

3.2.4. Age du dernier enfant

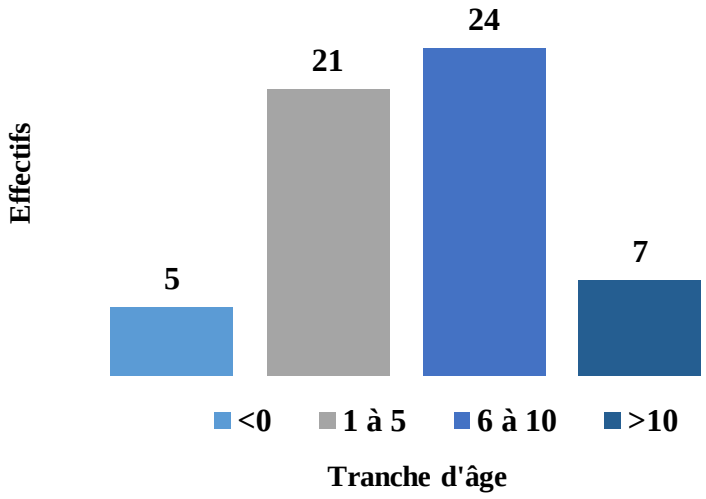


Figure 12: répartition des patients selon l'âge du dernier enfant (en année) (N=57)

Seuls ceux présentant une infertilité secondaire, ont été pris en compte ici.
Le graphe montre que chez 24 patients, l'âge du dernier enfant était compris entre 6 à 10 ans. Les enfants de plus de 10 ans étaient au nombre de 7.

3.2.5. Age de la conjointe

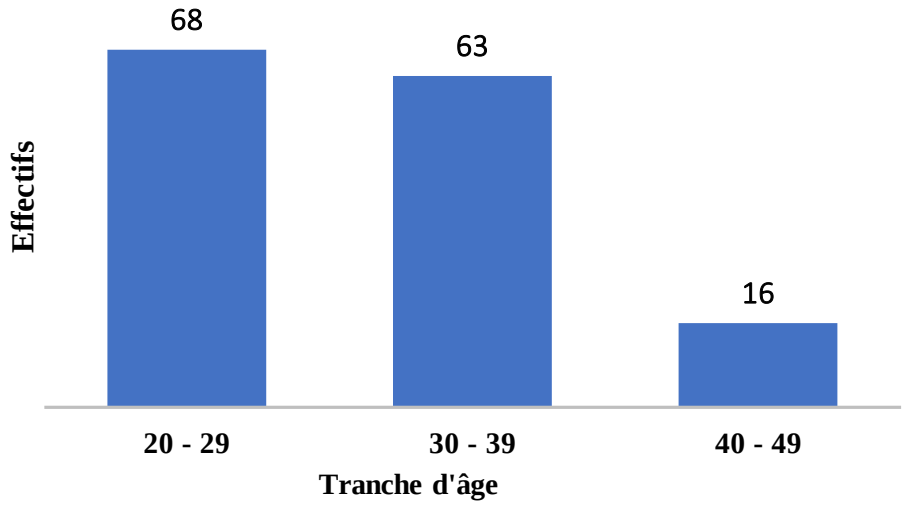


Figure 13: répartition des patients en fonction de l'âge de la conjointe (N=147)

L'âge moyen était de **30 ± 3 ans** avec les extrêmes de **20 ans** et **49 ans**. La tranchante d'âge comprise entre 20 et 29 ans était la plus représentée avec 68 femmes (**46,26%**). Les femmes de plus de 40 ans étaient peu nombreuses avec un pourcentage de **10,88%**.

3.2.6. Nombre d'années de vie commune

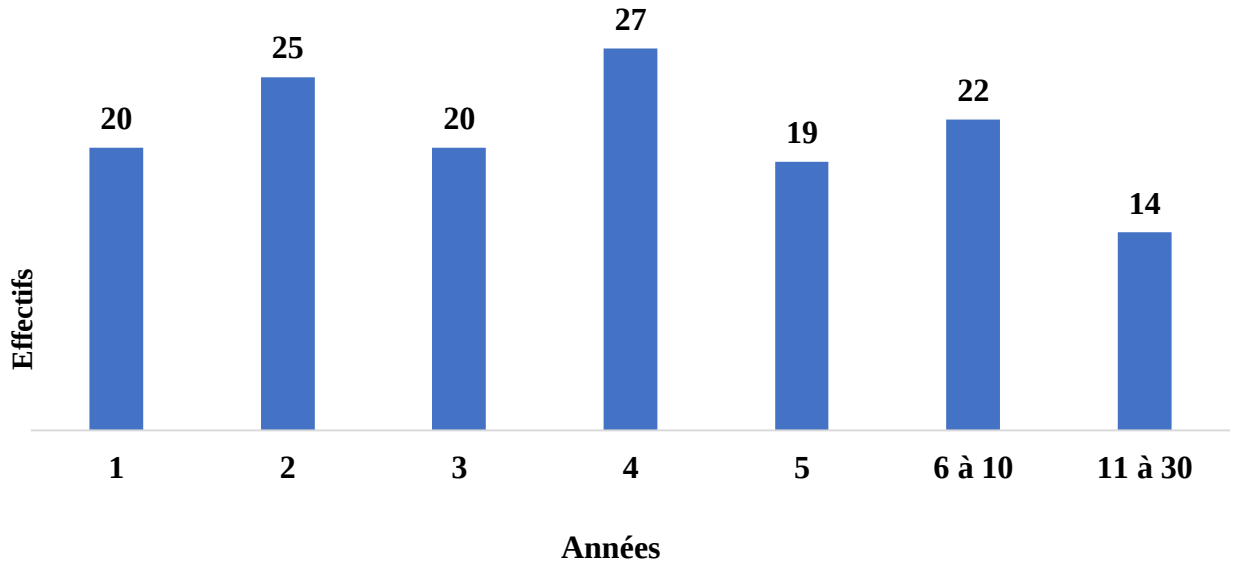


Figure 14: répartition des patients selon le nombre d'années de vie commune (N=147).

Au cours de l'étude 27 patients (**18,37%**) vivaient en couple depuis 4 ans, 20 parmi eux vivaient en couple depuis au moins un an.

3.2.7. Durée de l'abstinence

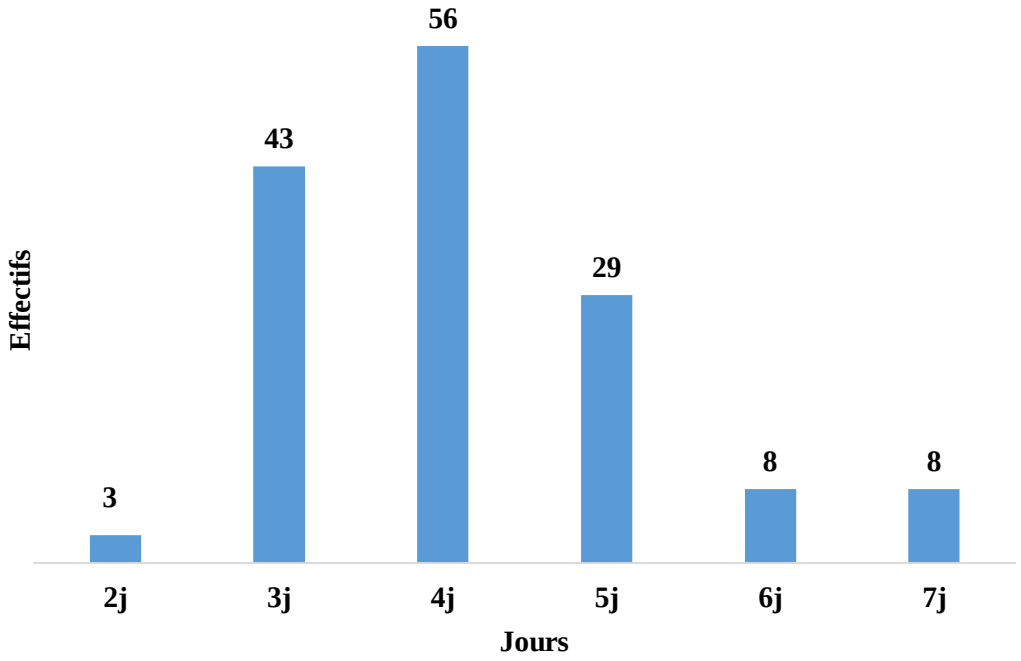


Figure 15: répartition des patients en fonction de la durée d'abstinence (en jours) (N=147)

La durée moyenne de l'abstinence était de **4,24** jours. La plupart des patients avaient respectés la durée d'abstinence requise. **57** patients ont eu une durée d'abstinence de **4** jours.

3.2.8. Traitement en cours

Tableau II: répartition des patients en fonction du traitement en cours (N=147)

Les résultats montrent que 20 patients (**13,61%**), au cours de l'étude étaient sous un traitement à base d'antioxydants. Et seulement 2 patients (**1,3%**) avaient eu recours à la phytothérapie.

	Effectif (N)	**Pourcentage (%)**
Aucun	125	85,03
Anti oxydant	**20**	**13,61**
Phytothérapie	2	1,3

3.2.9. Indice de masse corporelle

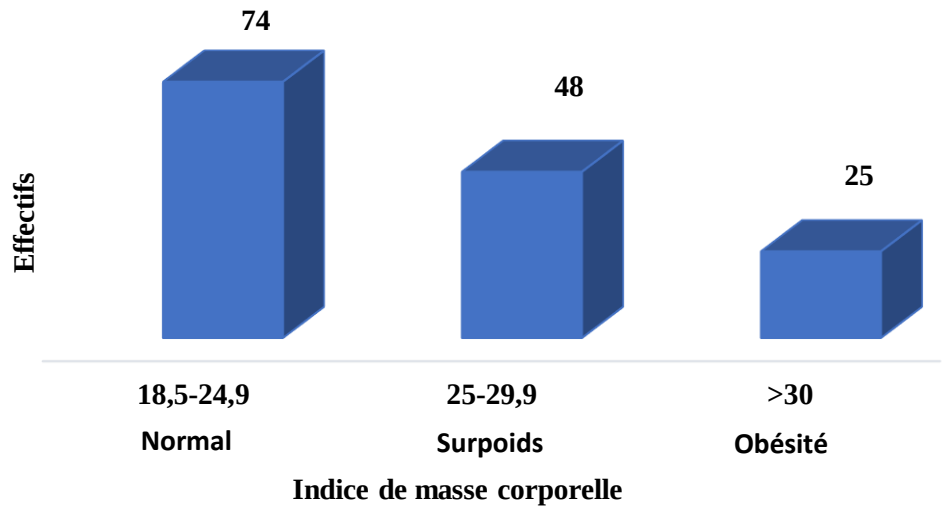


Figure 16: répartition des patients en fonction de l'indice de masse corporelle (N=147)

Les résultats ont montré que l'IMC moyen des patients dans notre étude était de **25,44 ± 3,04** kg/m^2. La plupart des patients avaient un IMC normal (entre 18,5 kg/m^2 et 24,9 kg/m^2) représentant **74** patients (**50,34%**). 48 patients soit **32,65**% des patients étaient en surpoids et 25 patients (**17%**) étaient obèse.

3.2.10. Antécédents personnels médicaux

Tableau III: répartition des patients en fonction des antécédents personnels médicaux (N=35)

Au moins un antécédent personnel médical était retrouvé chez 35 patients avec une prédominance des **oreillons** et de la **varicocèle** respectivement chez 12 patients (**34,28%**) et 11 patients (**31,43%**). Une hypertension artérielle était retrouvée chez 5 patients (14,29%).

	Effectif
Oreillons	**12**
Hernies	6
Varicocèle	**11**
Diabète	1
HTA	5

3.3. Données spermatiques

Nous présenterons dans l'ordre, les données spermatiques en rapport avec le volume de l'éjaculat, le pH du sperme, la vitalité des spermatozoïdes, leur mobilité, leur concentration et leur morphologie ; tous ont été évalués selon les normes strictes de l'OMS (2010).

3.3.1. Volume de l'éjaculat

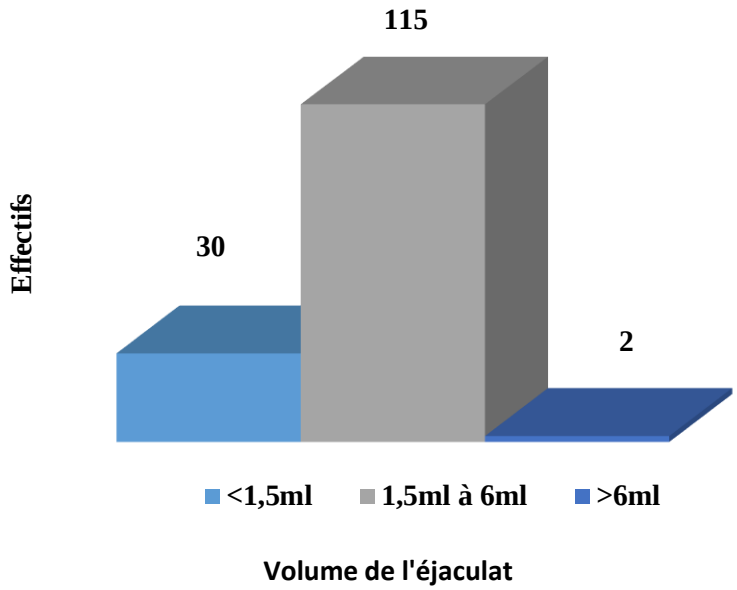


Figure 17: répartition des patients en fonction du volume de l'éjaculat (N=147)

La plupart des patients avaient un volume d'éjaculat normal (**78,23%**). Une hypospermie (volume de l'éjaculat <1,5 ml) a été retrouvée chez 30 patients (**20,41%**) et seulement 2 patients (**1,37%**) présentaient une hyperspermie (volume de l'éjaculat > 6 ml).

3.3.2. pH du sperme

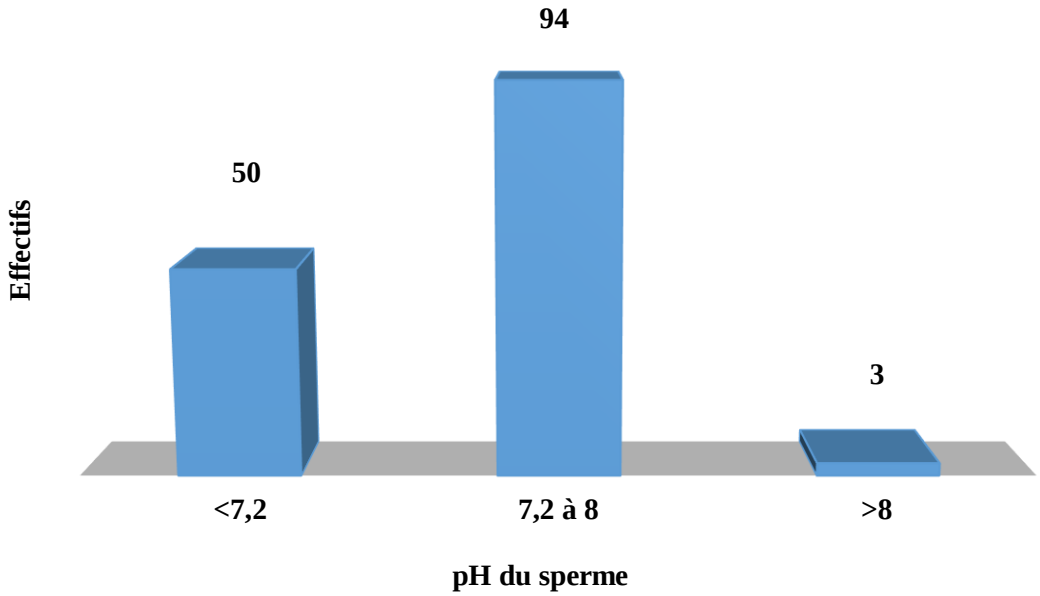


Figure 18: répartition des patients en fonction du pH du sperme (N=147)

Un pH normal était retrouvé chez 94 patients (**64%**). Par contre un pH acide (pH < 7,2) était retrouvé chez 50 patients (**34,31%**) et seulement 3 patients avec un pH basique (pH > 8).

3.3.3. Vitalité des spermatozoïdes

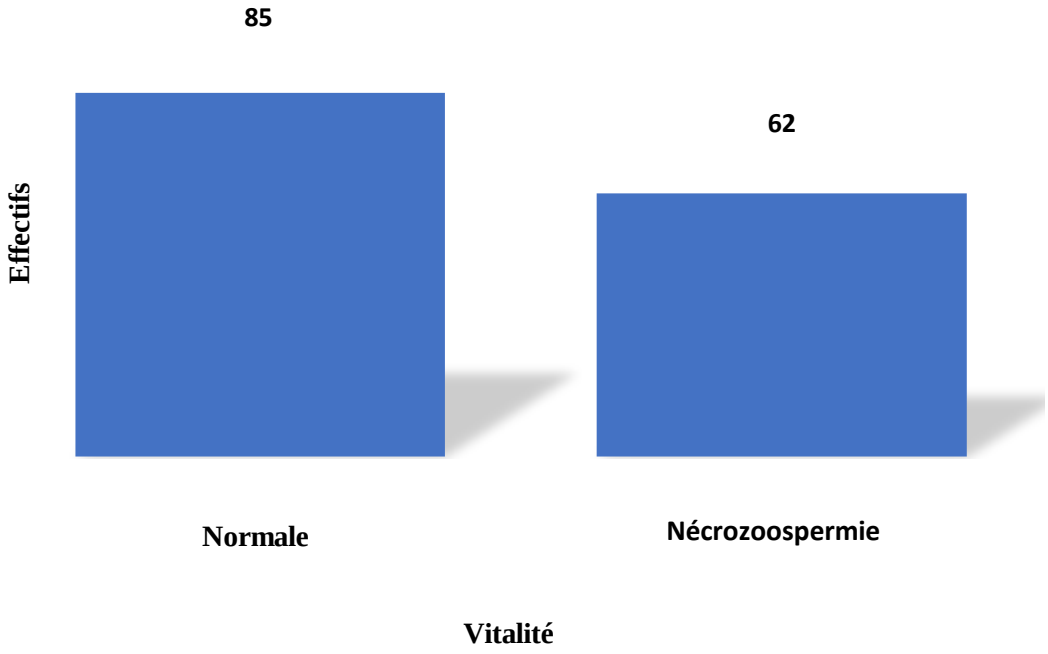


Figure 19: répartition des patients en fonction de la vitalité des spermatozoïdes (N=147)

Parmi les patients, 62 (**42%**) présentaient une nécrozoospermie (nombre de spermatozoïdes morts ≥ 58%).

3.3.4. Mobilité des spermatozoïdes à la première heure

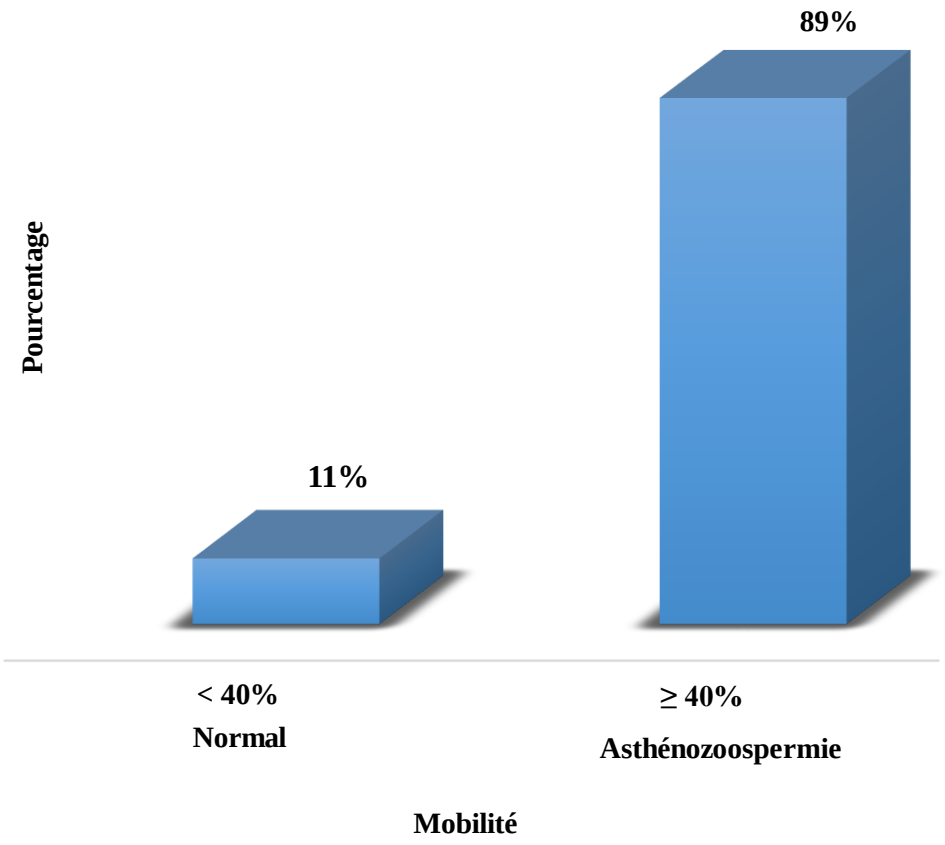


Figure 20: répartition des patients en fonction de la mobilité à la première heure (N=147)

L'asthénozoospermie (diminution de la mobilité des spermatozoïdes) était retrouvée chez **89%** des patients.

3.3.5. Concentration des spermatozoïdes

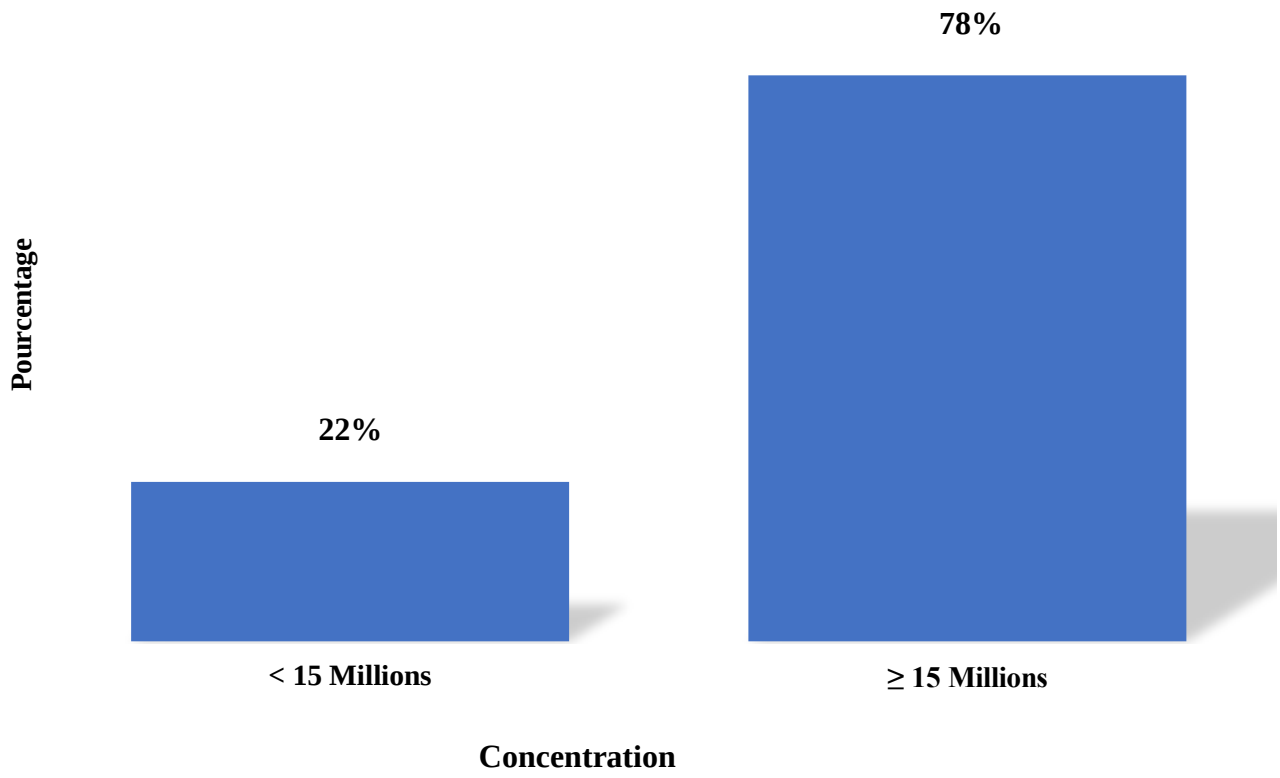


Figure 21: répartition des patients en fonction de la concentration des spermatozoïdes (N=147)

Une oligozoospermie (nombre de spermatozoïdes < 15 millions par ml) est retrouvée chez **22%** des patients. 114 patients au cours de l'étude (**78%**) avaient une concentration de spermatozoïdes normale.

3.3.6. Morphologie des spermatozoïdes

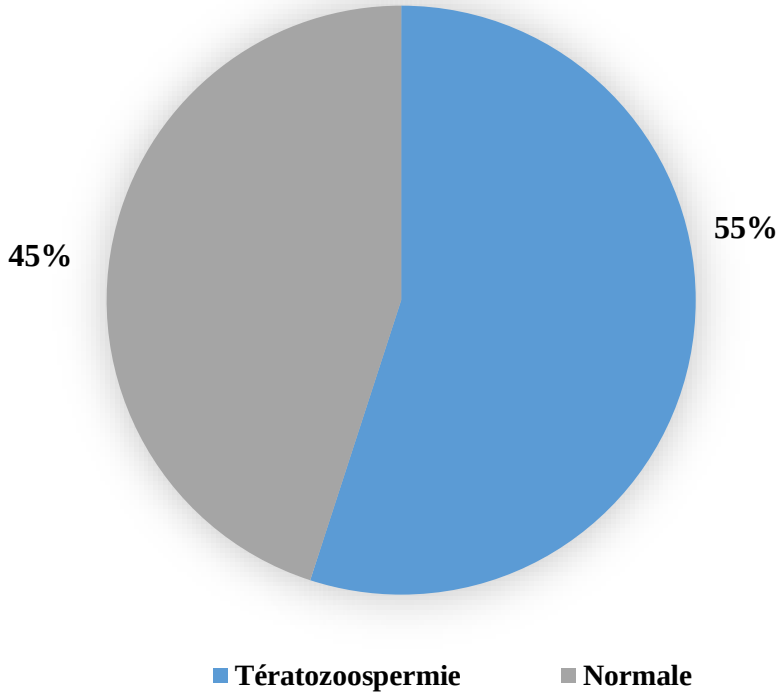


Figure 22: répartition des patients en fonction de la morphologie des spermatozoïdes (N=147)

Une tératozoospermie (nombre de formes typiques de spermatozoïdes < 4%) a été retrouvée chez 81 patients (**55%**).

3.3.7. Index d'Anomalies Multiples (IAM)

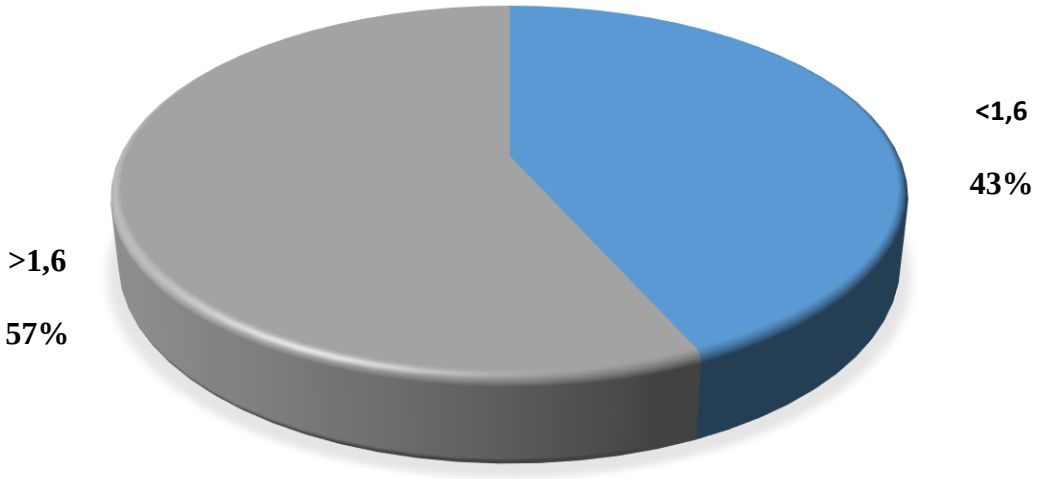


Figure 23: répartition des patients en fonction de l'index d'anomalies multiples (N=60)

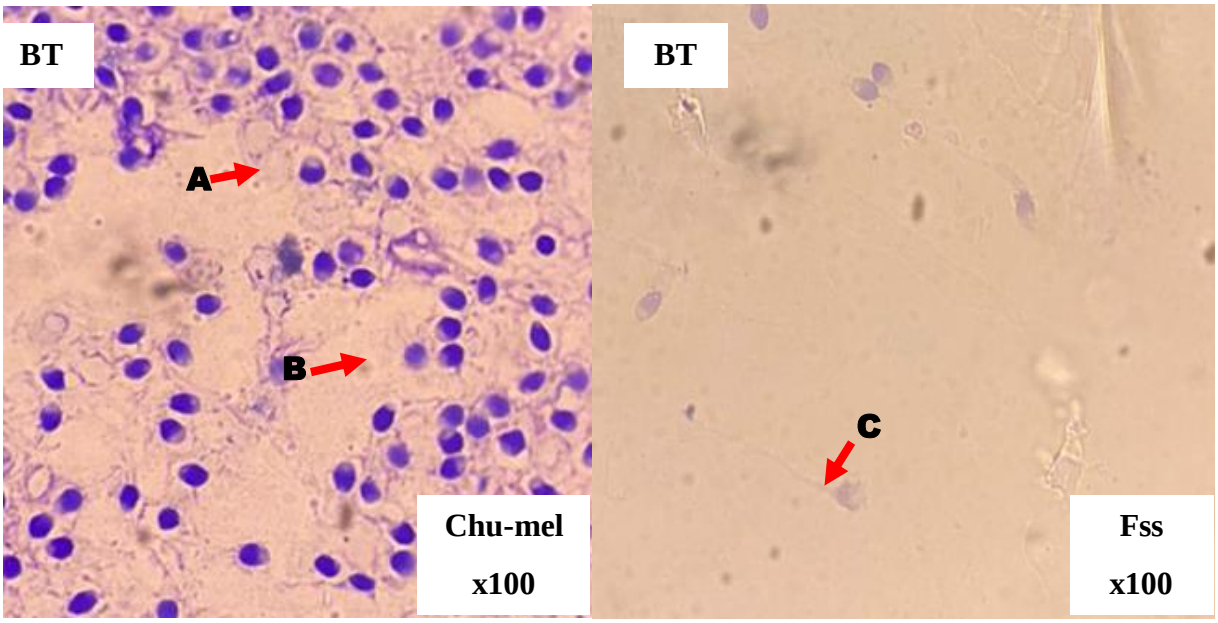
L'index d'anomalies multiples est un index pronostic, qui a été évalué seulement chez les patients provenant du laboratoire du **CHU-MEL** et du laboratoire de la **FSS** soit au total 60 patients.

Un index d'anomalies multiples normal (< 1,6) a été retrouvé chez 26 patients (**43%**) et les 34 patients restant présentaient un index d'anomalies multiples anormal (**57%**). Les extrêmes étaient respectivement **1,07** et **3,34**.

3.4. Données de la qualité du noyau

Nous présenterons dans l'ordre, les données de la qualité du noyau en rapport avec la décondensation (évaluée grâce à la coloration au bleu de toluidine) et la fragmentation (évaluée grâce à la coloration à l'orange acridine)

3.4.1. Décondensation de l'ADN spermatique



A : spermatozoïde avec un ADN décondensé

B : spermatozoïde avec un ADN en cours de décondensation

C : spermatozoïde avec un ADN condensé/normal

Figure 24: observation au microscope optique (X1000) de spermatozoïdes colorés au bleu de toluidine (BT)

Sur les 147 patients étudiés, nous n'avons pas pu lire les lames de 38 patients soit **25,85%**. En ce qui concerne les **74,15%** restants, la répartition de la décondensation de l'ADN spermatique est présentée comme suit :

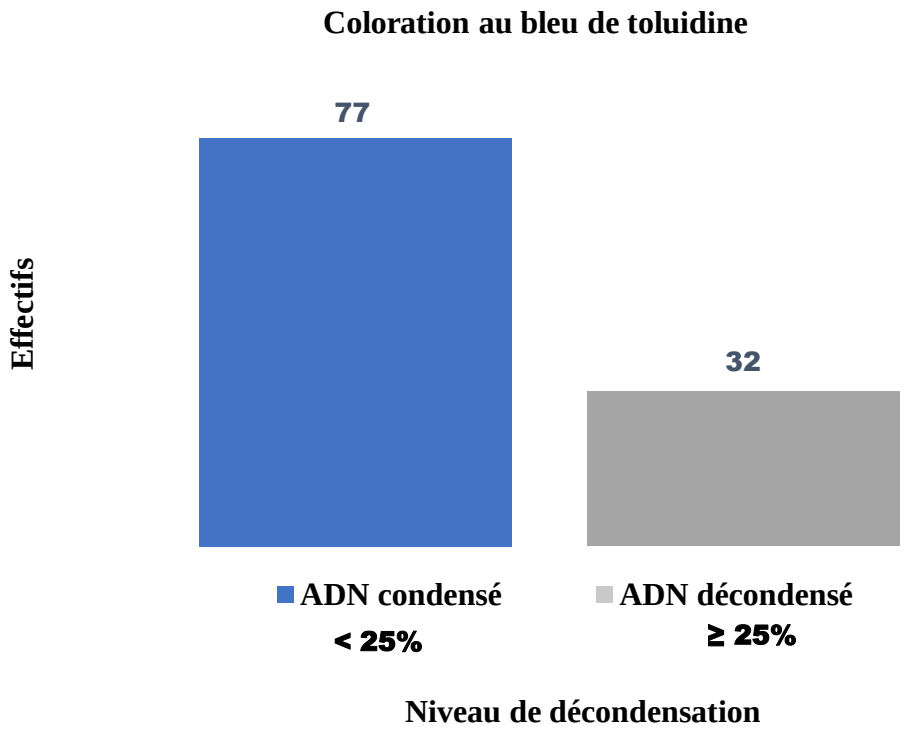
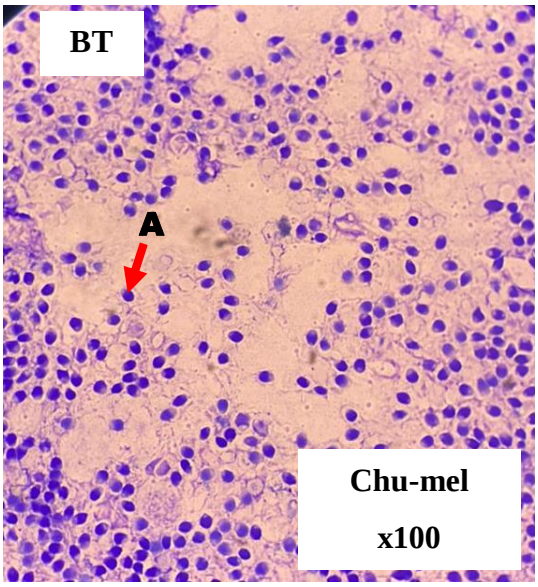
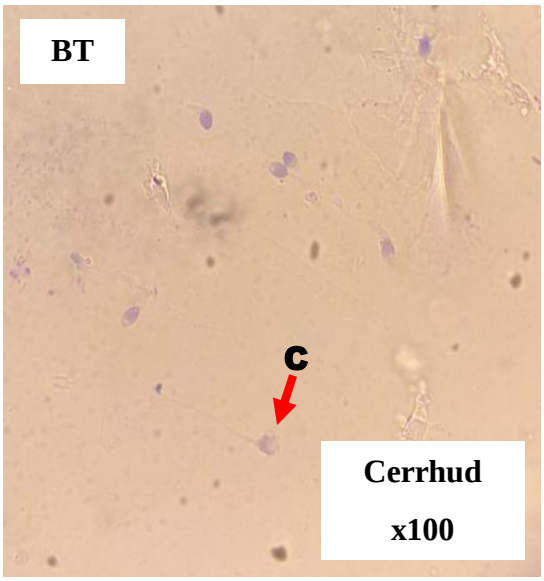


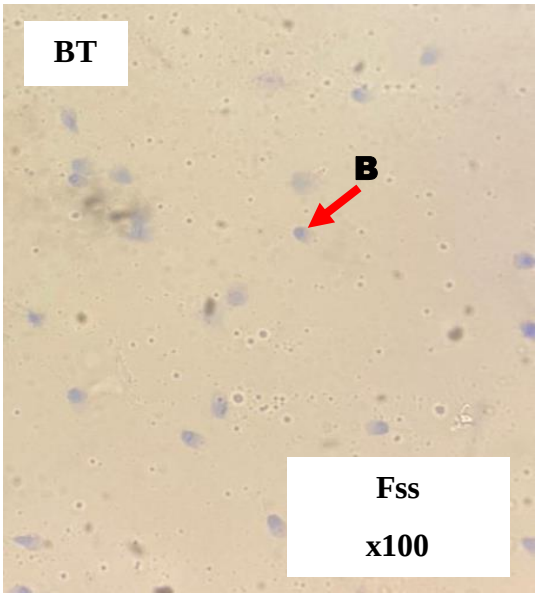
Figure 25: répartition des patients en fonction de la décondensation de l'ADN spermatique (N=109)

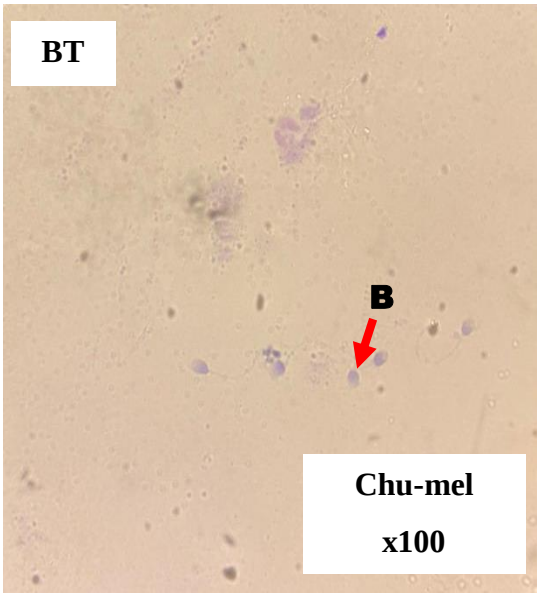
Les résultats montrent que 32 patients (**29,35%**) avaient un ADN spermatique décondensé à plus de 25% (supérieure à la normale). La valeur moyenne était de **37,88%** avec des extrêmes de **25 %** et **73%**.

Nous présentons ici quelques iconographies des aspects de la condensation/décondensation des spermatozoïdes de quelques patients.









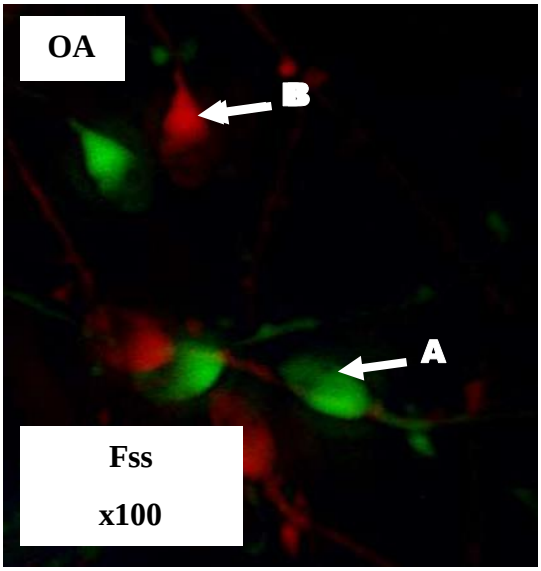
A : spermatozoïde avec un ADN décondensé

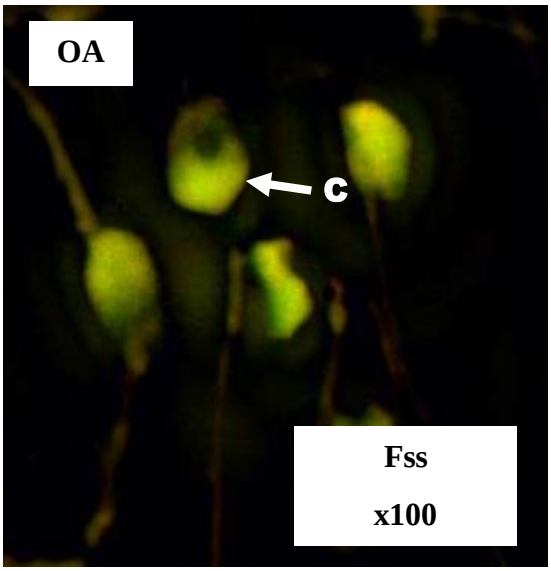
B : spermatozoïde avec un ADN en cours de décondensation

C : spermatozoïde avec un ADN condensé/normal

Iconographie 1: Quelques iconographies illustrant les différents aspects de la décondensation de l'ADN spermatique

3.4.2. Fragmentation de l'ADN spermatique





A : spermatozoïde à ADN normal

B : spermatozoïde à ADN fragmenté

C : spermatozoïde à ADN en cours de fragmentation

Figure 26: observation au microscope à fluorescence (X 1000) de spermatozoïdes colorés à l'orange acridine (OA)

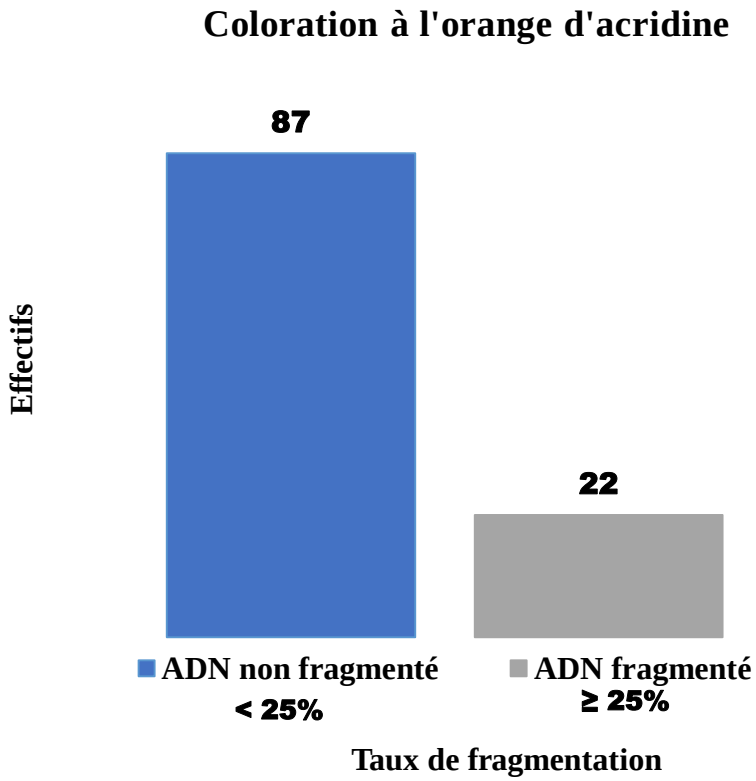
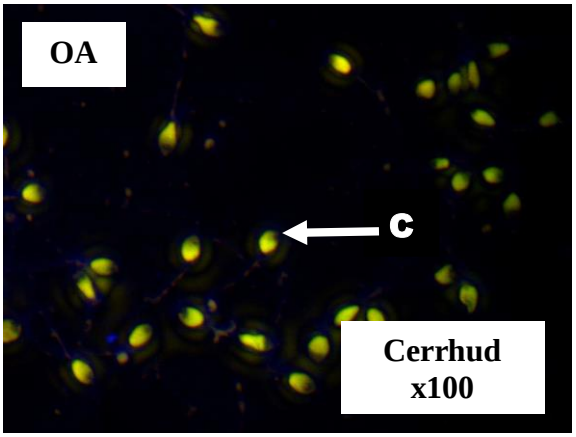
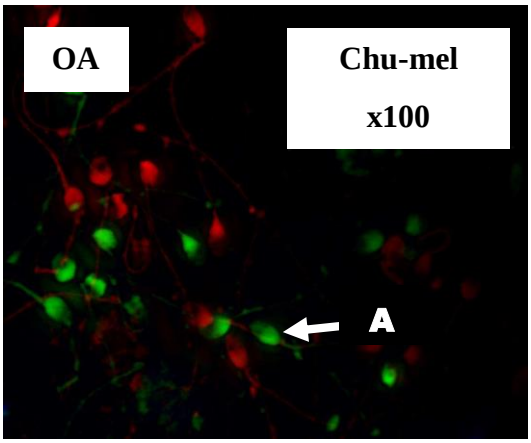


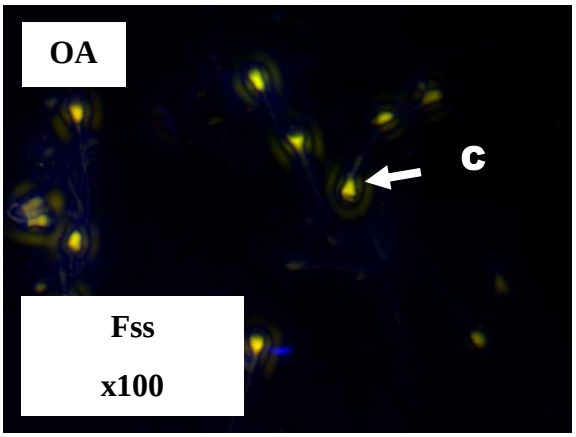
Figure 27: répartition des patients en fonction de la fragmentation de l'ADN spermatique (N=109)

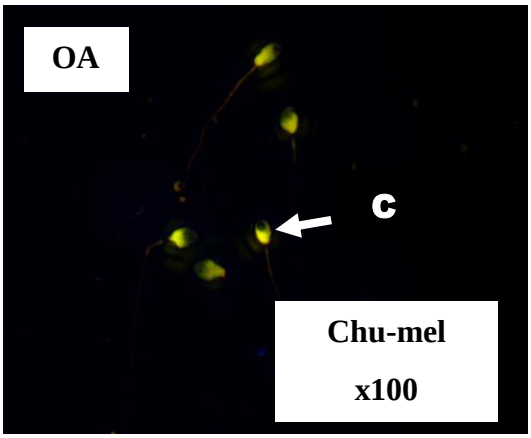
Les résultats montrent que 22 patients (**20,18%**) avaient un ADN spermatique fragmenté à plus de 25% (supérieure à la normale). La valeur moyenne était de **42,36%** avec des extrêmes de **25 %** et **99%**.

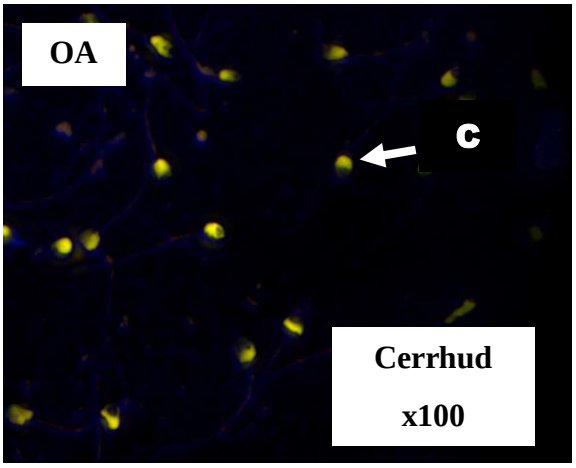
Nous présentons ici quelques iconographies des aspects de la fragmentation de l'ADN spermatique de quelques patients.

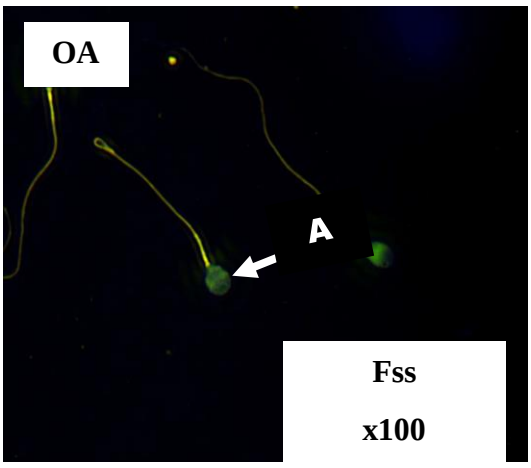


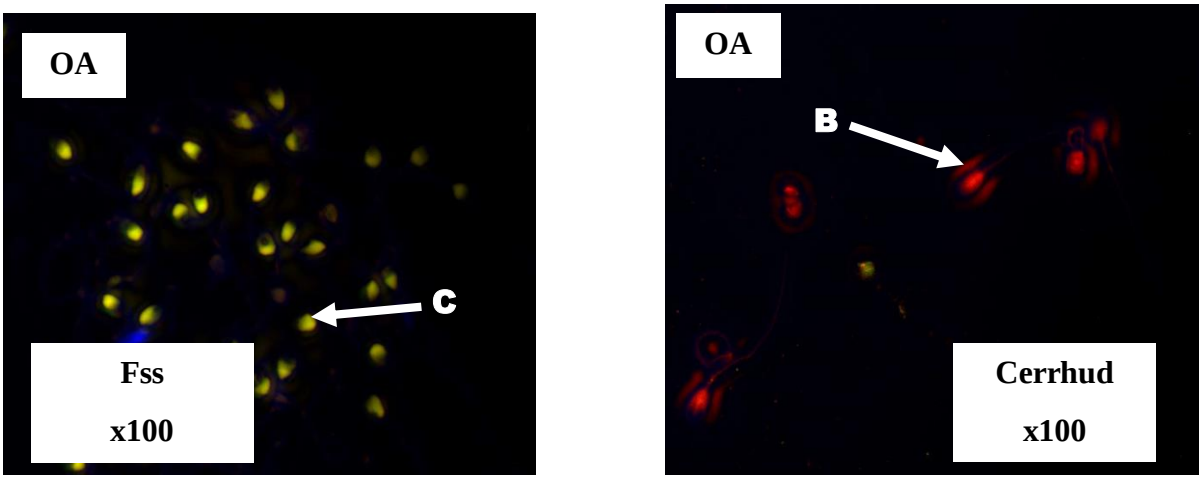












A : spermatozoïde à ADN normal

B : spermatozoïde à ADN fragmenté

C : spermatozoïde à ADN en cours de fragmentation

Iconographie 2: Quelques iconographies illustrant les différents aspects de la fragmentation de l'ADN spermatique

3.5. Données sociodémographiques, paramètres spermatiques et décondensation de l'ADN spermatique

Tableau IV: relation entre variables et décondensation de l'ADN spermatique

En ce qui concerne l'âge, la morphologie, la vitalité et l'index d'anomalies multiples, nous les avons introduits dans un modèle de régression logistique (en raison de la p-value inférieure à 0,05) avant de conclure.

	p-Value	r
Age	**0,0009**	**0,1**
Profession	0,32	
IMC	0,17	
Concentration	0,09	
Morphologie	**0,01**	**0,46**
Vitalité	**0,0012**	**0,33**
Mobilité	**0,05**	**0,12**
IAM	**0,00**	**0,16**

- **Données sociodémographiques, paramètres spermatiques et fragmentation de l'ADN spermatique**

Tableau V: relation entre variables et fragmentation de l'ADN spermatique

D'après le test de chi^2, nos résultats ont montré une relation statistiquement significative entre l'âge (p=0,02), la concentration (p=0,047), la morphologie (p=0,00), la vitalité (p=0,01), la mobilité (0,02), l'index d'anomalies multiples (0,0009) et la fragmentation de l'ADN spermatique.

En ce qui concerne l'âge, la concentration, la morphologie, la vitalité, la mobilité et l'index d'anomalies multiples, nous les avons également introduits dans un modèle de régression logistique (en raison de la p-value inférieure à 0,05) avant de conclure.

	p-Value	r
Age	**0,02**	**0,27**
Profession	0,08	
IMC	0,06	
Concentration	**0,047**	**0,86**
Morphologie	**0,00**	**0,41**
Vitalité	**0,01**	**0,21**
Mobilité	**0,002**	**0,27**
IAM	**0,0009**	**0,18**

- **Lien entre décondensation et fragmentation**

Nous avons fait un test de chi^2, pour l'analyse de la relation entre la décondensation et la fragmentation de l'ADN spermatique. La p-Value trouvée était de **0,0031** pour la décondensation et la fragmentation de l'ADN spermatique. Il existe donc une relation **statistiquement significative** entre la décondensation de l'ADN spermatique et la fragmentation de l'ADN spermatique. Ainsi donc, les hommes infertiles présentant une décondensation de l'ADN spermatique ont un risque de présenter une fragmentation de l'ADN spermatique.

4. DISCUSSION

La discussion des résultats de la présente étude s'articulera autour des points ci-après :

- l'atteinte des objectifs de l'étude ;
- la validité de l'étude ;
- l'analyse des données et la comparaison des résultats avec ceux des autres auteurs.

4.1. Atteinte des objectifs de l'étude

Les caractéristiques sociodémographiques des hommes infertiles ont été présentées ; les anomalies du spermogramme chez les hommes infertiles ont été identifiées, ainsi que la proportion de chacune d'elle ; le niveau de décondensation de l'ADN spermatique et le taux de fragmentation de l'ADN spermatique a été déterminé. Une relation entre les anomalies spermatiques et les résultats des colorations a été recherché. De plus, une relation entre la décondensation de l'ADN spermatique et la fragmentation de l'ADN spermatique a été établie.

4.2. Validité de l'étude

Sur la validité interne de cette étude, nous avons respecté nos critères d'inclusion, de non-inclusion et d'exclusion. Les patients venus pour le bilan d'infertilité dans les trois laboratoires ont été pris en compte. Les variables ont été mesurées en respectant les normes scientifiques.

Quant à la validité externe, nous pouvons dire que vu la population d'étude restreinte aux patients reçus pour bilan d'infertilité à Cotonou, celle-ci est donc non représentative de la population générale, il serait incorrect de prétendre que ces résultats sont absolument représentatifs de l'infertilité masculine à l'échelle nationale.

4.3. Commentaires des résultats

Les commentaires des résultats se feront suivant le plan ci-après :

- Les aspects sociodémographiques
- Les aspects selon le type de d'infertilité
- Les aspects selon les anomalies spermatiques
- Les aspects selon la qualité nucléaire
- Les aspects de la corrélation entre les données spermatiques et les résultats de l'évaluation de la qualité nucléaire des spermatozoïdes.

4.3.1. Les aspects sociodémographiques

- **Age**

L'âge moyen des patients était de **36,71 ± 6 ans** avec les extrêmes de **21 ans** et **72 ans**. Ce constat rejoint les données de la littérature. En effet, deux travaux réalisés par Nianj et al en 2005 au Sénégal [50] et par Adil Kbirou et al au Maroc, en 2022 [51], ont rapporté respectivement un âge moyen de **39 ans** et **37,5 ans**. Ce résultat est également superposable à celui de Kikpade et al en 2023 à Cotonou qui ont trouvé une moyenne d'âge de **36,2 ans** [52]**.**

La tranche d'âge la plus représentée de notre série est celle 31 ans à 40 ans avec **73 patients** (49,66%). Ce résultat rejoint celui de Nianj et al qui avaient trouvé que **69,1 %** des patients avaient entre **30 ans** et **45 ans**.

Cela pourrait s'expliquer par le fait qu'avant ses 30 ans, l'homme est moins préoccupé par le désir de paternité. De façon générale, les études ainsi que l'évolution de la société béninoise, voire africaine entraînent un mariage dans la troisième décennie. C'est donc après le mariage que le désir de conception devient une priorité. Seuls 9 patients, soit **19,14%** avaient un âge supérieur à 51 ans. Selon Schimdt et al. au Danemark en 1995, les dommages sur l'ADN des spermatozoïdes sont significativement liés à l'âge [53]. Ceci serait probablement lié au vieillissement et stress oxydatif endogène qui ont tendance à augmenter avec l'âge dans l'espèce humaine.

- **Profession**

Dans notre étude, la catégorie professionnelle la plus représentée était celle des fonctionnaires avec **88 patients (60%),** suivi de celle des commerçants **35 patients (23,9%)**. Ces résultats rejoignent ceux de Vigninou en 2022 et Kikpade en 2023 au Bénin qui ont montré respectivement que la catégorie professionnelle la plus représentée était celle des fonctionnaires avec 57,8% et 53,17%. Elle était également suivie de celles des commerçants dans les deux études avec respectivement 26,7% et 24,6%. Cela se traduit par l'importance qu'accordent les patients instruits au rôle de l'homme dans l'infertilité, mais surtout la disponibilité des moyens financiers permettant la réalisation des bilans. D'autres études notamment celle de Moussa et al. [36], au Niger en 2016 et celle de Khadidja et al. [54] en Algérie en 2022 ont montré que les fonctionnaires étaient les plus représentés avec respectivement 60,9% et 42,2%. Ces résultats ne sont pas superposables avec ceux d'Oumar et al [55], en Guinée, en 2007 qui ont retrouvé une prédominance des ouvriers (32,5%) suivi de celle des fonctionnaires 28,2%. Selon cet auteur la prédominance des ouvriers s'expliquerait probablement par leurs expositions aux différents risques (chaleur, manipulations de produits chimiques) connus pour des effets nocifs sur la spermatogenèse.

4.3.2. Les aspects selon le type d'infertilité

Les résultats obtenus indiquent que l'infertilité de type primaire est plus importante. Elle représente une fréquence de **61%** contre **39%** pour l'infertilité de type secondaire. Ces résultats sont concordants avec ceux de Nianj et al [50] en 2005 au Sénégal qui indiquent que l'infertilité était de type primaire chez 66,5 % des patients et secondaire dans 31,5 % des cas. Daouri et al [56] en 2001 à Annaba (Algérie) indiquent que l'infertilité de type primaire était de 73,48% et ceux de Zaghreb 2008 en région Constantine de 74,73%. Ouegnin et al. en Cote-d'Ivoire en 2008 et Boukari et al. au Togo en 1998 ont retrouvé des résultats similaires avec 70,2% et 62,5% respectivement. Puis des études au Bénin

(Cotonou) par Kikpade et al. [52] et Vigninou et al. [57] sont également concordantes avec respectivement 57,14% et 67,12%.

Ces résultats pourraient s'expliquer par le fait que les couples n'ayant pas d'enfants ont tendance à consulter de façon fréquente et précoce. La première préoccupation après le mariage étant l'arrivée d'un enfant. Lorsqu'un couple présente des difficultés à concevoir la femme est d'abord indexée et subit des investigations en premier dans la plupart des cas. Le plus souvent l'homme est considéré comme le chef de la famille, la reconnaissance de sa défaillance est souvent compliquée. C'est donc en dernier recours qu'il est suspecté et cela après plusieurs dommages collatéraux une, deux voire trois séparations sans enfants.

- **La durée moyenne d'évolution de l'infertilité**

Au cours notre étude, la durée moyenne était de 5 ans, dont la plus longue est de 30 ans ; avec des extrêmes allant de 1 à 30 ans. Nos résultats rejoignent ceux de la littérature qui indiquent la moyenne à 6 ans pour des extrêmes de 1 an à 30 ans par Nianj et al. [50] au Sénégal. Les résultats de Kikpade et al [52] qui avaient trouvé une moyenne de 5,1 ans. Cette proportion élevée de patients consultant après plus de 2 ans de vie commune montre la résistance des hommes à consulter et à recourir à des soins pour la prise en charge de l'infertilité du couple. Dans notre contexte, le recours aux tradipraticiens est fréquent ; ce qui peut également expliquer les retards des patients à consulter. Pour Yevi et al. [58] au Bénin (Cotonou) en 2017 cela cache la honte qu'éprouvent les hommes à s'adresser à un médecin pour désir de paternité et ce complexe tiendrait ses racines dans les conceptions culturelles africaines de l'infertilité selon lesquelles seule la femme peut être infertile. En réalité dans certaines traditions africaines, la virilité est souvent confondue avec la fertilité et tant que l'homme a une bonne érection, il se considère fertile. Ce qui n'est pas exact.

- **Antécédents personnels médicaux**

Au moins un antécédent personnel médical était retrouvé chez 35 patients avec une prédominance des **oreillons** et de la **varicocèle** respectivement chez 12

patients (**34,28%**) et 11 patients (**31,43%**). Ces résultats sont similaires de ceux de Kbirou et al. qui ont trouvés que 42% des patients présentaient une varicocèle. La varicocèle représente une cause importante d'infertilité masculine. Cette anomalie vasculaire bouleverse la thermorégulation testiculaire entraînant alors des troubles de la spermatogenèse.

- **L'indice de masse corporelle**

Les résultats ont montré que l'IMC moyen des patients dans notre étude était de **25,44 ± 3,04** kg/m^2. La plupart des patients avaient un IMC normal c'est-à-dire compris entre 18,5 kg/m^2 et 24,9 kg/m^2 (**74** patients, **50,34%**), 48 soit 32,65% des patients étaient en surpoids et 25 (17%) étaient obèses. Ces résultats sont similaires à ceux de Kikpade et al. [52] qui ont montré que l'IMC moyen était de **25,3** ± **3,7** kg/m^2. L'IMC moyen était de 27,5 kg/m^2 ± 4,17 ; ce qui correspond clairement à un surpoids selon une autre menée par Yazdanpanah et al. [49] en Iran menée en 2022. De façon globale, le surpoids et l'obésité sont connus comme étant des facteurs de risques de l'infertilité. En effet, une énergie superflue altère les mécanismes de régulation du système reproducteur. Les personnes en surpoids et obèses ont des niveaux d'œstrogènes augmentés, ces œstrogènes exercent un retro contrôle négatif sur la sécrétion de gonadotrophines, diminuant ainsi la sécrétion pulsatile de LH qui sera à l'origine de la diminution de la testostérone requise pour la spermatogenèse. Ces effets hormonaux, outre l'augmentation du stress oxydatif, la lipotoxicité et les instabilités de l'absorption des adipokines, perturbent directement les gonades, les organes reproducteurs périphériques et l'embryon.

4.3.4. Les aspects selon les anomalies spermatiques

- **Volume de l'éjaculat**

La plupart des patients avaient un volume de sperme normal (78,23%). Une hypospermie a été retrouvée chez 30 patients soit 20,41%. Ces résultats sont similaires à ceux d'Ikram et al. en Algérie en 2014 qui ont retrouvés une

hypospermie dans 27,58 % [29]. Une hypospermie est en général en rapport avec un défaut de recueil ou une perte de l'éjaculat lors du recueil. Dans certaines conditions, notamment en cas d'âge avancé, on retrouve une hypospermie pouvant être en rapport avec diminution des secrétions hormonales avec l'âge (andropause). Une hypospermie peut également traduire une malformation des voies excrétrices ou un taux plasmatique de testostérone bas.

- **Mobilité à la première heure**

Les résultats ont montré que 40% des patients présentaient une asthénozoospermie. Ces résultats diffèrent de ceux retrouvés par Ikram en Algérie en 2014 qui ont retrouvé une asthénozoospermie à 62,06 % [29]. Le pourcentage de mobilité est un paramètre primordial, qui détermine en partie l'orientation thérapeutique. En effet, seuls les spermatozoïdes à mobilité progressive normale peuvent atteindre et féconder l'ovocyte. Il faudra rechercher des antécédents d'infections du sperme, d'infections des glandes annexes et la présence de bactéries, pouvant induire une diminution de la mobilité et des anomalies flagellaires.

- **Vitalité des spermatozoïdes**

Notre étude avait retrouvé 42% de nécrozoospermie. Nos résultats se rapprochent de ceux trouvés par Ikram en Algérie en 2014 qui ont trouvés une nécrozoospermie dans 55,14% [29]. La vitalité et la mobilité sont souvent en relation, elles sont parfois le reflet d'une infection du sperme. Sous nos cieux, c'est seulement les germes banals (*Neisseria gonorrhoeae*, *Escherichia coli*, *Staphylocoques, Streptocoques*) qui sont recherchés en routine lors de la spermoculture. Très souvent, la part des germes intracellulaires (*Chlamydia trachomatis*…) est souvent négligée. Il serait bien de rechercher systématiquement ces germes en cas d'altération des paramètres spermatiques à type d'asthénospermie ou de nécrospermie compte tenu de leur prévalence importante.

- **Concentration des spermatozoïdes**

Une oligozoospermie est retrouvée chez 22% des patients. Nos résultats se rapprochent de ceux trouvés par Adil Kbirou et al au Maroc en 2022 qui ont retrouvés 33% [51]. En effet, la concentration peut variée en fonction de la quantité du culot examinée, de la vitesse de centrifugation et de la durée. Il faudra aussi noter que la mesure de la concentration étant operateur dépendant, des biais de calculs peuvent être observes après la lecture à l'hémocytomètre.

- **Morphologie des spermatozoïdes**

Une tératozoospermie (nombre de formes typiques de spermatozoïdes < 4%) a été retrouvée chez 81 patients (**55%**) dans notre étude. Selon une étude menée par Adil Kbirou et al au Maroc en 2022, une tératozoospermie chez 6 % des cas [51]. Les spermatozoïdes morphologiquement anormaux ont un potentiel fécondant réduit et ce d'autant plus qu'ils cumulent des anomalies. Certaines anomalies de morphologie et l'index d'anomalies multiples ont un intérêt pronostique au cours de la grossesse. Il est à souligner, l'impact des facteurs physiques et chimiques sur la survenue d'anomalies.

4.3.5. Les aspects selon la qualité nucléaire

L'impact de la fragmentation de l'ADN des spermatozoïdes sur la fertilité masculine a été documenté par plusieurs équipes de recherche qui ont utilisé différentes techniques. Devant cela et vue la prévalence de l'infertilité idiopathique (en rapport avec le stress oxydatif), certains auteurs recommandent systématiquement, la mise sous antioxydants en cas d'altération de la qualité nucléaire des spermatozoïdes.

4.3.5.1. Index de fragmentation (coloration à l'orange d'acridine)

Les résultats de notre étude, montrent que **20,18%** des patients présentaient un index de fragmentation (IDF) supérieur à 25%. Ces résultats sont différents de ceux de Yazdanpanah et al. menée en Iran (2022) [49], qui ont rapporté que **40,1%** avaient un IDF qui a été cliniquement considéré comme pathologique (IDF

> 25%). Ces différences pourraient s'expliquer par le fait que l'étude menée par Yazdanpanah et al. en Iran (2022), avait inclus 1191 patients et s'était déroulée sur une période de deux ans. Il s'agit donc d'une cohorte plus importante avec des résultats probablement plus plausibles que les nôtres.

Aucune corrélation n'a été trouvée entre l'indice de fragmentation de l'ADN et l'indice de masse corporelle des patients, au cours de notre étude (p-value= 0,06) bien que la plupart présentaient un surpoids significatif (**32,65%**). Ces résultats sont similaires à ceux de Yazdanpanah et al. menée en Iran (2022) [49]. Ces données préliminaires entre l'IDF et l'IMC méritent d'être mieux étudiées au sein de cohorte plus larges au sein de notre population.

4.3.5.2. Relation entre la fragmentation de l'ADN et l'âge

Dans notre étude, les hommes âgés entre **31 ans** et **40 ans** ont 0,27 fois plus de risques de présenter une fragmentation de l'ADN. Le même résultat été retrouvé par Ikram et al. en 2014 en Algérie, qui ont montré que les individus avec une moyenne d'âge de 34 ans montrent un IDF > 25% par contre ceux de 24 ans leur DFI est ≤ 25% [29]. Selon Schimdt et al. au Danemark en 1995, les dommages sur l'ADN des spermatozoïdes sont significativement liés à l'âge [53].

Cela pourrait s'expliquer d'une part par la diminution des secrétions hormonales avec l'âge, d'autre part, par l'exposition plus importante aux facteurs physiques notamment au stress oxydatif qui pourrait engendrer des altérations de l'ADN spermatique.

4.3.5.3. Relation entre la fragmentation de l'ADN et la vitalité

La vitalité est un critère important dans l'analyse du spermogramme, car elle donne une idée sur le potentiel fécondant du spermatozoïde [29]. Selon Ikram et al. en 2014 en Algérie, les individus dont la vitalité est en dessous du seuil défini par l'OMS 2010 (58%), montrent un IDF élevé au-delà du seuil de 25 %. Ces résultats sont similaires à ceux retrouvés dans notre étude car il a été prouvé qu'il existe une relation statistiquement significative entre la vitalité et l'IDF. De plus,

ces résultats sont en faveur d'un lien très hautement significatif (P =0,001) [29] entre le IDF et la vitalité ; comparativement à ceux trouvés dans notre étude (p=0,01), ce qui signifie que plus la vitalité est faible plus le IDF est élevé et inversement [29]. L'altération de la membrane du spermatozoïde, pourrait expliquer la pénétration plus facile de l'orange acridine. Ce test pourrait donc permettre l'évaluation du pouvoir fécondant du spermatozoïde.

4.3.5.4. Relation entre la fragmentation de l'ADN et la mobilité

L'analyse de la mobilité des spermatozoïdes nous informe sur leurs qualités cinétiques essentielles : la vitesse et la progressivité en ligne droite. Ces facteurs sont indispensables à la fécondation de l'ovocyte [29].

Selon Ikram et al. les spermatozoïdes avec une très faible mobilité, ont une augmentation de l'IDF (>25%) [29]. Ce qui signifie que, plus la mobilité est faible, plus le IDF est élevé et inversement. Les résultats similaires ont été observés dans notre étude, en effet nous avons trouvé, une relation statistiquement significative entre la fragmentation et la mobilité. Les paramètres de la mobilité des spermatozoïdes ont un impact significatif sur la capacité fécondante du spermatozoïde. De fait, la mobilité des spermatozoïdes et la fragmentation étant significativement liées, le test à la coloration d'orange acridine pourrait être l'un des prédicteurs de la capacité fécondante du spermatozoïde humain.

4.3.5.5. Relation entre la fragmentation de la chromatine et la morphologie

Nous avons voulu savoir si la fragmentation des spermatozoïdes avec les données morphologiques donnerait une meilleure appréciation de l'impact sur l'intégrité du génome spermatique. Ikram et al. en 2014 en Algérie a montré qu'une perturbation globale des critères morphologiques a de grandes influences sur le taux de fragmentation de l'ADN spermatique [29]. Nous avons eu des résultats similaires au cours de notre étude (p-value=0,00) avec une relation statistiquement significativement entre la morphologie et la fragmentation de l'ADN spermatique. La relation entre la morphologie des spermatozoïdes et la maturité nucléaire

pourrait s'expliquer par le fait que certaines anomalies morphologiques des spermatozoïdes peuvent être causées par une perte de surenroulement de l'ADN, ce qui entraîne un accès plus facile de l'orange d'acridine à l'ADN spermatique. Aussi la morphologie s'est révélée comme un excellent indicateur de la réussite en FIV. L'étude morphologique associée aux données de l'ADN spermatique est donc très utile pour mieux prédire le taux de fécondation des spermatozoïdes. Mises ensemble, les informations obtenues à l'aide du test à l'orange d'acridine pourraient être utiles pour planifier la stratégie de traitement des couples infertiles.

4.3.5.6. Taux de décondensation (coloration au bleu de toluidine)

Les résultats ont montré une relation statistiquement significative entre l'âge (p=0,0009), la morphologie (p=0,01), la vitalité (p=0,0012), l'index d'anomalies multiples (p= 0 ,00) et la décondensation de l'ADN spermatique. Les résultats de notre étude, montrent que **29,35%** des patients présentaient un ADN spermatique décondensé à plus de 25%. Les hommes infertiles âgés de **31 ans** à **40 ans** ont donc plus de risques de présenter une décondensation de l'ADN spermatique. En ce qui concerne les paramètres spermatiques, en cas de **tératozoospermie** et de **nécrozoospermie**, les hommes infertiles ont plus de risques de présenter une décondensation de l'ADN spermatique. Ces résultats diffèrent de ceux retrouvés par Tsarev et al. en 2004 au Danemark [44] ; ils ont montré qu'il y avait une différence significative avec la concentration de spermatozoïdes, mais aucune différence avec la motilité progressive entre les hommes fertiles et infertile. Cela pourrait s'expliquer par le fait qu'une perturbation de la vitalité et de la morphologie influencent négativement la qualité de l'ADN spermatique, ces derniers étant utiles pour apprécier le pouvoir fécondant du spermatozoïde.

4.3.5.7. Test de décondensation et test de fragmentation

Des résultats précédents, la p-Value était de **0,0031** pour la décondensation et la fragmentation de l'ADN spermatique. Il existe donc une relation **statistiquement significative** entre la décondensation de l'ADN spermatique et la fragmentation

de l'ADN spermatique. Ainsi donc, les hommes infertiles présentant une décondensation de l'ADN spermatique ont plus de risques de présenter une fragmentation de l'ADN spermatique. Ces résultats sont similaires à ceux retrouvés par Tsarev et al. en 2004 au Danemark, qui ont montrés que les résultats du test de fragmentation de l'ADN spermatique sont bien corrélés aux résultats du test de décondensation de l'ADN spermatique [44]. Ceci pourrait s'expliquer par le fait qu'un défaut de condensation de l'ADN spermatique peut entraîner une fragilité de l'ADN spermatique à l'origine des cassures simple brin ou double brin et donc à l'origine de la fragmentation de l'ADN spermatique.

4.3.5.8. Applications cliniques des colorations à l'orange acridine et au bleu de toluidine

L'impact de la fragmentation de l'ADN des spermatozoïdes sur la fertilité masculine a été documenté par plusieurs équipes de recherche qui ont utilisé les différentes techniques. Les applications des tests utilisés au décours de la présente étude sont les suivantes :

- Mesure de contrôle de la qualité du sperme ;
- Outil de diagnostic à utiliser chez les patients présentant un problème d'infertilité mais avec des spermogrammes apparemment normaux;
- Outil d'évaluation du potentiel fécondant du partenaire masculin dans un couple ayant des difficultés à concevoir, pour orienter vers une décision plus éclairée en ce qui concerne les inséminations intraconjugale ou avec don ;
- Outil de recherche pour mieux comprendre certains types d'infertilité masculine
- Outil pour prédire de la survenue de fausses couches spontanées ;
- Contrôle du sperme dans les procédures de fécondation in vitro.

CONCLUSION

Il s'est agi d'une étude transversale analytique portant sur la qualité nucléaire de l'ADN spermatique chez les hommes infertiles dans trois laboratoires de Cotonou sur une période de six mois. Nous avons évalué les aspects sociodémographiques, les paramètres spermatiques, la qualité de l'ADN spermatique par les colorations au bleu de toluidine et l'orange d'acridine et établi la relation entre les données sociodémographiques, spermatiques et la qualité de l'ADN spermatique. Une relation entre la décondensation et la fragmentation de l'ADN spermatique a été également établie. Cette étude a permis de tirer les conclusions suivantes :

- L'existence d'une relation entre âge, paramètres spermatiques (vitalité, morphologie, IAM) et décondensation de l'ADN spermatique ;
- L'existence d'une relation entre âge, paramètres spermatiques (mobilité, vitalité, concentration, morphologie, IAM) et fragmentation de l'ADN spermatique ;
- L'existence d'une relation entre la décondensation et la fragmentation de l'ADN spermatique : plus l'ADN spermatique est décondensé, plus il y a le risque de fragmentation ;
- En plus, de son potentiel à prédire les difficultés à concevoir, l'utilisation des données de l'ADN spermatique en complément au spermogramme classique constitue une approche diagnostique innovante et permet donc d'éviter la mise des patients sous traitement inutiles.

PERSPECTIVES

Dans le but d'améliorer la prise en charge de l'infertilité masculine au Bénin, nous formulons les perspectives suivantes :

- Poursuivre l'étude sur l'évaluation de la qualité de l'ADN spermatique chez les hommes infertiles sur une population plus large
- Instaurer les tests d'évaluation de l'ADN spermatique dans le bilan de routine de l'exploration de l'infertilité en plus du spermogramme/spermocytogramme
- Vulgariser les tests complémentaires d'exploration de l'infertilité masculine
- Renforcer la formation des médecins généralistes et spécialistes sur les moyens modernes d'évaluation de la fertilité du couple en occurrence les tests d'évaluation de la qualité nucléaire des gamètes.

REFERENCES

1. Segond L. La Sainte Bible. Société biblique de Genève, éd Segond,Genève, Suisse, 2112 pages; 2011.

2. Mascarenhas MN, Flaxman SR, Boerma C, Vanderpoel S et Stevens G. National, Regional, and Global Trends in Infertility Prevalence Since 1990: A Systematic Analysis of 277 Health Surveys. PLoS Med. 2012;9.

3. Traore M, Toure A, Sissoko S et Samake N. Profil spermiologique des hommes infertiles au Mali. Andrologie. 2008;18:253- 7.

4. Rowe PJ, Comhaire FH, Hargreave TB et Mahmoud A. WHO manual for the standardized investigation and diagnosis of the infertile couple. Published on behalf of the World Health Organization by Cambridge University Press; 1993.

5. Inhorn MC et Patrizio P. Infertility around the globe: New thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century. Hum Reprod Update. 2014;21:411- 26.

6. SO A. Traitements et conseils contre l'infertilité dans le contexte du patriarcat à Ijebu, dans le sud-ouest du Nigéria. An Int J Sci Technol. 2014;3:31- 50.

7. Weiyuan C. Mother or nothing: the agony of infertility. Bull World Heal Organ. 2010;881- 2.

8. Médiapart. L'Afrique, continent le plus touché par l'infertilité [Internet], https://www.mediapart.fr/journal/international/180316/l-afrique-continent-le-plus-touche-par-l-infertilite. (Consulté le 2023-08-06).

9. Bambra C. Current status of reproductive behaviour in Africa. Hum Reprod Update. 1999;5:1- 20.

10. Godjo A. La stérilité de la femme et l'homme à la CUGO et à la CU de cotonou à propos de 364. [Thèse de Médecine]. Faculté des Sciences de la Santé, Université d'Abomey-Calavi, Bénin; 1994.

11. Ahokpossi M. L'infertilité du couple à la CUGO: faire le point sur les cas recensés et les ressources nécessaire à la satisfaction des besoins. [Thèse de médecine]. Faculté des Sciences de la Santé de Cotonou, Université d'Abomey-Calavi, Bénin; 2003.

12. Mascarenhas MN, Flaxman SR, Boerma C, Vanderpoel S et Stevens G. National, Regional, and Global Trends in Infertility Prevalence Since 1990: A Systematic Analysis of 277 Health Surveys. PLoS Med. 2012;9.

13. Courchesne A. Comparaison de deux nouvelles méthodes d ' évaluation de la fertilité masculine avec le spermogramme chez des patients ayant recours à la fécondation in vitro. [Mémoire de maîtrise]. Sciences biomédicales, Faculté de médecine, Université de Montréal, Canada; 2009.

14. Moreau J, Reignier A, Leandri R, Parinaud J, Fréour T et Gatimel N. Spermogramme et spermocytogramme manuels et automatisés-Test de migration-survie. Rev Francoph des Lab. 2018;2018:28- 35.

15. Batou AS, Abessolo FO, Mba I et Mintsa A. Analyse des paramètres du spermogramme en relation avec le fructose, le citrate et l'alpha glucosidase neutre du sperme chez les hommes consultant pour infertilité à Libreville. Int J Biol Chem Sci. 2018;12:2486- 502.

16. Roux C, Tripogney C, Joanne C et Bresson J. Qualité nucléaire du spermatozoïde : tests d'exploration de la chromatine des spermatozoïdes humains (protéines nucléaires). Gynécologie Obs Fertil. 2004;32:792- 8.

17. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, Racowsky C, Mouzon J, Sokol R et al. The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017. Hum Reprod. 2017;32:1786- 801.

18. Sharma A. Male Infertility; Evidences, Risk Factors, Causes, Diagnosis and Management in Human. Ann Clin Lab Res. 2017;05:10.

19. Lopes P, Thonneaut P et Alnot M. Recommandations et références médicales. 1996.

20. Futura. Chromatine : qu'est-ce que c'est ? [internet]. https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/genetique-chromatine-114/. (consulté le 2023-10-03).

21. Kamina P. Anatomie clinique tome 4. Maloine, 2e édition, Poîtiers, France, 378 pages; 2006.

22. Vacheret N. Histologie fonctionnelle des organes [internet]. http://lecannabiculteur.free.fr/sites/iniv%20lyon/cri-cirs-wnts.univ-lyon1.fr/Polycopies.html. (Consulté le 2023-10-31). 1999.

23. Dahami Z, El Amrani MD et Houssam B. Les testicules. Faculté de médecine et de pharmacie, Université de marrakech, Maroc; 2011.

24. Hirsch I. Structure du système reproducteur masculin - Problèmes de santé de l'homme. Le Man pour le Gd public. 2023;1- 10.

25. Drake RL, Vogl AW, Mitchell AWM, Tibbitts R et Richardson P. Atlas d'anatomie de Gray. Elsevier, 3e édition, Paris, France, 626 pages; 2020.

26. Langman J, Sadler TW et Bloch B. Embryologie médicale. Pradel, 9e édition, Paris, France, 496 pages; 2018.

27. Kierszenbaum A. Histologie et Biologie cellulaire une introduction à l'anatomie pathologique. Histol. Biol. Cell. de boeck, 1re édition, Bruxelles , Belgique, 638 pages; 2016.

28. Dubest C et Pugeat M. Gonadotrophines hypophysaires : physiologie et exploration fonctionnelle. EMC - Endocrinol. 2005;2:231- 40.

29. Meziout I et Merad O. La relation entre les perturbations des paramètres spermatiques et la fragmentation de l'ADN spermatique [Mémoire de master].

Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Constantine, Algérie; 2014.

30. Maier W et Spann W. The importance of opportune treatment of undescended testes for fertility. Dtsch Med Wochenschr. 1962;87:1697- 704.

31. Grizard G et Jimenez C. Les examens du sperme dans l'exploration de la fertilité masculine. Progès en Urol. 1997;7:496- 504.

32. Auger J. Exploration de la fonction de reproduction/versant masculin. Bioforma, biologie de la reproduction, cahier n° 42, Paris, France, 222 pages; 2009.

33. Boukerzaza E. Etude de la qualité du génome spermatique : cas de la tératozoospermie [Mémoire de master]. Biologie animale, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Constantine,Algérie; 2021.

34. Bachelot-Narquin R. Règles de bonnes pratiques cliniques et biologiques d'assistance médicale à la procréation. Paris, France; 2008.

35. Poncelet C et Sifer C. Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain. Springer link. 2011;693.

36. Moussa D, Soumana A, Amadou SM, Soli I, Tahirou I, Ali A. Profil hormonal chez l'homme en cas d'infertilité au laboratoire de radio immunologie de l'institut des radioisotopes de Niamey. African J Urol. 2016;22:305- 9.

37. Schlosser J, Nakib I, Carré-Pigeon F et Staerman F. Infertilité masculine : définition et physiopathologie. Ann Urol (Paris). 2007;41:127- 33.

38. Schlegel PN, Sigman M, Collura B, Jonge C, Eisenberg M, Lamb D et al. Diagnosis and Treatment of Infertility in Men. J Urol. 2021;205:36- 43.

39. Huyghe E, Boitrelle F, Methorst C, Mieusset R, Ray PF, Akakpo W, et al. Recommandations de l'AFU et de la SALF concernant l'évaluation de l'homme

infertile. Progrès en Urol. 2021;31:131- 44.

40. Roux C, Tripogney C, Joanne C et Bresson J. Qualité nucléaire du spermatozoïde : tests d'exploration de la chromatine des spermatozoïdes humains (protéines nucléaires). Gynecol Obstet Fertil. 2004;32:792- 8.

41. Evenson T et al. Indice de fragmentation et de décondensation de l ' ADN du spermatozoïde Intérêt dans l ' hypofertilité masculine. Eurofins. 1980;4.

42. Simon L, Murphy K, Shamsi MB, Liu L, Emery B, Aston KI, et al. Paternal influence of sperm DNA integrity on early embryonic development. 2014;29:2402- 12.

43. Nguyen M. Infertilité masculine : fragmentation de l'ADN spermatique, ségrégation méiotique et facteurs génétiques [thèse de PhD]. Ecole doctorale, Université de Bretagne Occidentale, Grande Bretagne; 2015.

44. Tsarev I, Bungum M, Giwercman A, Erenpreisa J, Ebessen T, Ernst E, et al. Evaluation of male fertility potential by Toluidine Blue test for sperm chromatin structure assessment. Hum Reprod. 2009;24:1569- 74.

45. Noblanc A. Contrôle des dommages oxydants au noyau spermatique Apports des modèles murins knock-out pour des glutathion peroxydases [thèse de biologie humaine]. École doctorale sciences de la vie, santé, agronomie, environnement, Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand, France; 2013.

46. Noblanc A. Contrôle des dommages oxydants au noyau spermatique Apports des modèles murins knock-out pour des glutathion peroxydases [thèse de biologie humaine]. École doctorale sciences de la vie, santé, agronomie, environnement, Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand, France; 2013.

47. Kazerooni T, Asadi N, Jadid L, Kazerooni M, Ghanadi A, Ghaffarpasand F, et al. Evaluation of sperm's chromatin quality with acridine orange test, chromomycin A3 and aniline blue staining in couples with unexplained

recurrent abortion. J Assist Reprod Genet. 2009;26:591- 6.

48. Chohan KR, Griffin JT et Carrell D. Evaluation of chromatin integrity in human sperm using acridine orange staining with different fixatives and after cryopreservation. First Int J Androl. 2004;36:321- 6.

49. Yazdanpanah P, Rashki L, Vesali S, Janzamin E, Gilani MAS, Sajadi H et al. Epidemiology of sperm DNA fragmentation in a retrospective cohort of 1191 men. Andrology. 2023;10.

50. Niang L, Ndoye M, Labou I, Jalloh M, Kane R, Diaw JJ, et al. Profil épidémiologique et clinique de l'infertilité masculine à l'hôpital général de Grand-Yoff, Sénégal: à propos de 492 cas. Andrologie. 2009;19:103- 7.

51. Kbirou A, Jandou I, Adnane E, Mohammed E, Moataz A et Mohammed D. Epidemiological and clinical profile of male infertility in Morocco; cross-sectional observational, descriptive and analytical study. Sexologies. 2022;31:117- 22.

52. Kikpade J. Etude de l'impact du poids corporel sur la fertilité masculine à l'ex-hopital d'instruction des armées centre hospitalier de Cotonou [Thèse de médecine]. Faculté des sciences de la santé, Université d'Abomey-Calavi, Bénin; 2023.

53. Rochebrochard E. Médicalisation de l'infertilité : quelle est la situation mondiale du nord au sud ? Reprod Health. 2004;1- 20.

54. Zouaoui N, Debbache I et Bourouh Y. Implication du gène HLA G dans l'infertilité du couple : Étude bibliographique et statistique [Mémoire de génétique moléculaire]. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de biologie animale, Université Constantine, Algérie; 2022.

55. Raphiou BAH O, Bobo DIALLO A, Diallo A, Guirassy S, Bah I, Barry M, et al. Infertilitd masculine : frdquence et aspects dtiologiques au service d'Urologie-Andrologie du CHU de Conakry. Andrologie. 2007;17:241- 5.

56. Daroui H. Exploration et biochimique dans l'hypofertilité masculine [Thèse de biologie appliquée]. Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Badji Mokhtar, Algérie; 2001.

57. Vigninou R. Devenir des patients pris en charge pour infertilité masculine à la CUUA du CNHU-HKM de Cotonou de 2017 à 2022 [Thèse de médecine]. Faculté des Sciences de la Santé, Université d'Abomey-Calavi, Bénin; 2022.

58. Yevi M, Fagbemi H, Sossa J, Agounkpe M, Ntchagande G et Avakoudjo J. Profil épidémiologique des patients atteints de varicocèle à Cotonou. Open J Urol. 2017;40- 6.

ANNEXES

Annexe 1 : avis du comité éthique

RÉPUBLIQUE DU BÉNIN

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

INSTITUT DES SCIENCES BIOMÉDICALES APPLIQUÉES

I. S. B. A.

Comité d'Ethique de la Recherche
CER-ISBA

DECISION ETHIQUE FAVORABLE

N°182 du 30/10/2023

LE PRESIDENT

A

Madame DEGBELO H. Marina S. et Collaborateurs

Madame,

Votre protocole de recherche intitulé « **Qualité nucléaire des gamètes chez les hommes infertiles à propos de 246 cas** » a été évalué par le Comité d'Ethique de la Recherche de l'ISBA composé des membres suivants :

- DRAMANE Karim
- LOKO Fréderic
- KEDOTE Marius
- GBANKOTO B. Adam
- NAHUM Alain
- de SOUZA Léchidia Pélagie
- TOFFOUN QUENUM Marie Marc
- DOSSOU-YOVO Bonaventure
- SOSSOU AGBOHOLOU Françoise
- OUINSOU S. Edmond
- AKOHA B. Théophile

Sur la base de :

1. documents suivants soumis le 18 septembre 2023 :
   - protocole de recherche ;
   - budget de recherche ;
   - chronogramme détaillé ;
   - note d'information ;
   - formulaire de consentement ;
   - outils de collecte de données ;
   - CVs des chercheurs principaux
2. de vos réponses aux commentaires du comité sur votre dossier et de la nouvelle version du formulaire de soumission et le protocole soumis le 12 octobre 2023;

1/2

01 B.P. Tél.: 21 30 55 65 E-mail : isba@intnet.bj COTONOU (République du Bénin)
Site Web : www.isbabenin.com

le comité d'éthique de la recherche de l'ISBA a évalué les aspects scientifiques et éthiques conformément aux normes nationales en vigueur.

Par conséquent, le CER-ISBA vous accorde **sa décision favorable** pour la mise en œuvre de la recherche au Bénin.

Cette décision est valable pour une période d'un (01) an à compter de sa date de signature.

Par ailleurs, le CER-ISBA vous demande de :

1) L'informer de toute nouvelle information / modification, qui surviendrait à une date ultérieure à cette approbation-ci et qui impliquerait des changements dans le choix des sujets, dans la manière d'obtenir leur consentement, les risques encourus survenant dans le cadre du déroulement de cette recherche. Le CER-ISBA doit, en effet, dans ces cas, réévaluer et donner une nouvelle approbation avant l'entrée en vigueur desdites modifications ;
2) Utiliser les documents qu'il a validé (protocole, **note d'information et formulaires de consentement tamponnés par le CER-ISBA**, etc.) ;
3) Conserver dans vos dossiers, les versions originales des formulaires de consentement signés par les participants de recherche ou leurs témoins ;
4) Lui adresser **un rapport annuel** de la recherche.

Tout en vous souhaitant pleins succès pour la réalisation de votre recherche, le CER-ISBA vous remercie pour la confiance à lui accordée.

Cotonou, le 30 octobre **2023**

Le Président

Prof. Karim DRAMANE

Comité d'Ethique de la Recherche de l'ISBA
Le Président

2/2

Annexe 2 : autorisation de collecte du CHU-MEL

MINISTÈRE DE LA SANTÉ
RÉPUBLIQUE DU BÉN

CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE
DE LA MERE ET DE L'ENFANT-LAGUNE
(CHU – MEL)
****
DIRECTION GENERALE

01 BP 107 -
COTONOU
. : +229 21-14-94-38 / 97 04 86 75
homelag@gmail.com
skintomonho@gouv.bj

0015494-00

N° 1896 -2023/DG/DAF/SRH/DGPFE/SA

Cotonou, le 30 MAI 2023

AUTORISATION DE RECHERCHE

****

Le Directeur Général du Centre Hospitalier Universitaire de la Mère et de l'Enfant-Lagune (CHU-MEL) soussigné, autorise la nommée **DEGBELO Houéfa Marina Syntyche,** doctorante en médecine à la Faculté des Sciences de la Santé (FSS) de l'Université d'Abomey Calavi (UAC), à collecter des données dans le Laboratoire du CHU-MEL dans le cadre de la rédaction de sa thèse dont le thème porte sur la **« QUALITE NUCLEAIRE DES GAMETES CHEZ LES HOMMES INFERTILES A PROPOS DE 246 CAS ».**

En foi de quoi, la présente autorisation lui est établie pour servir et valoir ce que de droit.

Le Directeur Général

Le Directeur Général

Souroudi Raymond KINTOMONHO

AMPLIATIONS

Commission Médicale d'Etablissement	1
Laboratoire	1
Intéressée	1
Chrono/Archives	1

Annexe 3 : certificat de non plagiat

Certificat d'analyse

Date d'émission: 22/11/2023
Compte évaluateur: DEGBELO H. Marina S.

AUTEUR DU DOCUMENT : DEGBELO H. MARINA S.
TITRE DU DOCUMENT : QUALITE NUCLEAIRE DES GAMETES CHEZ LES HOMMES INFERTILES A COTONOU

e-Plagiat est un évaluateur certifié de prévention et de détection de plagiat intelligent et autonome basé sur l'IA

Type de document	Nombre de mots	Nombre de pages (approximatif)	Taux de plagiat
Thèse	**13452**	**54**	**11.07%**

M. Pierre ROUAN

Ce document est signé électroniquement et certifié.
Le fichier constitue un original électronique de valeur probatoire, il est enregistré sous la référence suivante :

e5aa1228715ff5e24bffeb5a626fa59c6a92

e-plagiat.online, 1er évaluateur de plagiat en Afrique basé sur l'Intelligence artificielle

Annexe 4 : fiche de collecte

Fiche n°…

Date : / /2023

Laboratoire : CHU-MEL ☐ CERRHUD ☐ FSS ☐

1. Age :……
2. Profession : ……..
3. Age de la conjointe :……
4. Nombre d'années de vie commune :……
5. Lieu et mode de prélèvement:……
6. Durée d'abstinence :……..
7. Téléphone :…….
8. Nombre d'enfants

Nombre

Age du dernier

9. Antécédents personnels et familiaux

HTA, Diabète Chirurgie de la prostate

Autres Autres

10. Traitement en cours

Molécule

Durée

11. Paramètres anthropométriques

Poids Taille IMC

12. Mode de vie et habitudes alimentaires

Alcool : Tabac : Stress : jamais☐ parfois☐ stressé☐

13. Données spermatiques

Volume :

1 □ 2 □ 3 □

1 = normal (1.5-6) 2=hypospermie 3= hyperspermie

Vitalité : ……...

1 □ 2 □

1= normale ≥ 58% 2= nécrospermie<58%

pH :……

1 □ 2 □ 3 □

1= normal 2= acide 3= basique

Mobilité

a= c= a+b+c=

b= d=

1 □ 2 □

1= normale (a+b+c >40%) 2=asthénospermie

Concentration : …… / ml ; …….. / éjaculat

1 □ 2 □ 3 □

1= normale ≥ 15 millions/ ml 2=oligospermie <15 millons / ml

3= polyspermie>200 millions / ml

Morphologie

1 □ 2 □

1= normale 2= tératozoospermie

Formes typiques

Formes anormales	tête	Allongée
		Amincie
		Microcéphale

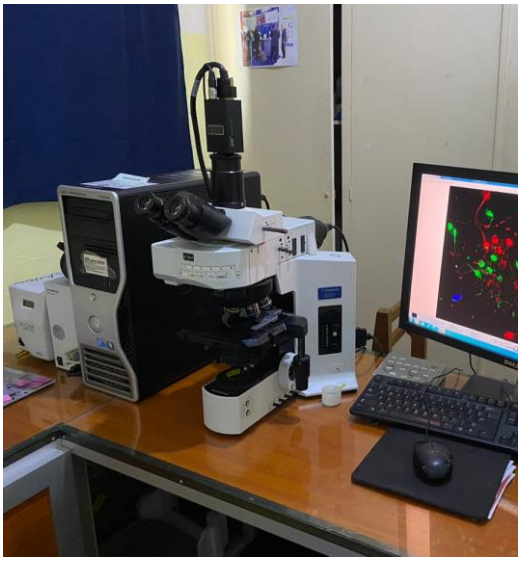
	Macrocéphale
	Multiple
	Base anormale
	Région acrosomique anormale
Pièce intermédiaire	Reste cytoplasmique
	Grêle
	Angulée /désaxée
Flagelle	Absent
	Ecourté
	Calibre irrégulier
	Enroulé
	multiple
Index d'anomalies multiples	

Index d'anomalies multiples : ……

1 □ 2 □

1= < 1.6 2= > 1.6

Annexe 5 : matériel et réactif



Microscope à fluorescence



Microscope optique

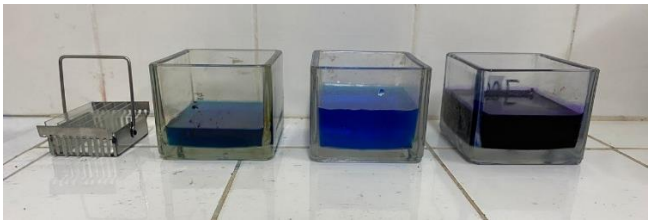




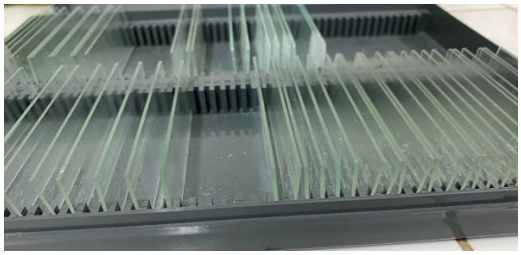
Centrifugeuse et pipettes



Bacs coloration OA



Bacs coloration BT



Frottis de sperme

Annexe 6 : Note d'information

NOTE D'INFORMATION

(A l'attention des participants)



1- Introduction

Nous, **DEGBELO H. Marina S.,** doctorante en médecine générale à la Faculté des Sciences de la Santé (FSS) de l'Université d'Abomey-Calavi (UAC), vous invite à participer à la recherche conduisant à la rédaction de sa thèse de doctorat sur la

«**QUALITE NUCLEAIRE DES GAMETES CHEZ LES HOMMES INFERTILES A PROPOS DE 246 CAS**». Prenez votre temps pour lire ou vous faire lire et pour comprendre cette notice d'information qui résume cette recherche. Nous vous recommandons de ne pas donner votre consentement sans avoir eu l'occasion de poser des questions qui vous viennent à l'esprit et d'avoir obtenu des réponses satisfaisantes s'il y a des mots ou des énoncés que vous ne comprenez pas.

2- Objectifs de la recherche

La présente étude a pour objectif d'évaluer la qualité du protéome des spermatozoïdes chez les hommes infertiles dans trois laboratoires de Cotonou.

3- Démarche méthodologique

Cette étude se déroule dans l'enceinte de 03 laboratoires de biologie moléculaire ayant les caractéristiques requises et le matériel nécessaire. Ces laboratoires sont : le laboratoire du CERRHUD, le laboratoire de biologie médicale du CHU-MEL et la section biologie de la reproduction du laboratoire d'Histologie, Biologie de la Reproduction, Cytogénétique et

Génétique Médicale de la FSS. Les personnes auprès de qui les informations seront obtenues sont : les patients, reçus dans le cadre d'un bilan d'infertilité, dans les laboratoires du CHU-MEL, du CERRHUD, et de la FSS pendant la période d'étude.

Les centres d'investigation sont constitués par :

- le laboratoire du CERRHUD, + 229 95 66 03 57, Patte d'oie, Cotonou Bénin
- le laboratoire de biologie médicale du CHU-MEL, + 229 94 93 90 41, Ave Delome, Cotonou Bénin
- et la section biologie de la reproduction du laboratoire d'Histologie, Biologie de la Reproduction, Cytogénétique et Génétique Médicale de la FSS, + 229 21 30 40 95, champ de foire, Cotonou Bénin



4- Raisons et attentes de votre participation à l'étude

Vous êtes une personne ressource habilité à nous renseigner le mieux possible sur notre sujet de recherche.

Nous attendons de vous une collaboration nous permettant de faire :

- Des entretiens individuels
- Des prélèvements de liquide biologique (sperme)

5- Liberté de participation

Vous êtes libre de participer ou de ne pas participer à la présente étude. Si vous décidez maintenant d'y participer, il vous sera possible de revenir sur votre décision. Le fait de revenir sur votre décision à tout moment n'affectera en rien la suite de la recherche. Vous recevrez deux papiers :

- L'un intitulé « notice d'information » contient les informations liées à la recherche. Vous lirez cette notice vous-même / ou la ferez lire par qui vous voudrez. Vous pourrez prendre quelques jours pour réfléchir sur les informations et demander éventuellement des avis extérieurs en cas de besoin. Vous poserez toutes les questions que vous voulez avant de décider.
- L'autre intitulé « formulaire de consentement libre et éclairé » servira à apposer votre signature en cas d'accord pour continuer à participer à la recherche.



6- Administration des outils de collecte

Le recueil des données se fera grâce à une fiche d'enquête /questionnaire. Elle se déroulera dans les trois laboratoires de Mai à Décembre 2023. L'enquête comprendra la phase de recueil des données et de colorations de lames, puis

après la réalisation des prélèvements (sperme). Le prélèvement de sperme se fera au laboratoire dans la plus grande intimité ; une chambre munie d'un lit est prévu dans chaque laboratoire.

7- Les enquêteurs

L'enquêtrice qui vous abordera dans la phase de collecte des données est : DEGBELO H. Marina S.



8- Le superviseur

La doctorante qui réalise cette enquête en vue de la rédaction de sa thèse est : DEGBELO H. Marina S. .Elle est chargée de la réalisation des entretiens et des colorations. Le travail sera supervisé par le directeur de thèse **MCA Simon AZONBAKIN,** azandeg@yahoo.fr, **+229 97 13 00 61**. Elle sera donc présente dans la plupart des entretiens à réaliser sur le terrain. Mieux, ce sera elle-même qui dirigera les entretiens.

9- Communication des résultats aux participants

Les résultats obtenus à l'issu de nos recherches seront communiqués aux participants à travers un entretien.

- **Bénéfices liés à la participation à la recherche**

Votre participation à cette recherche constitue une occasion pour améliorer les méthodes de diagnostiques notamment le diagnostic biologique de l'infertilité masculine. Cette étude permettra également de découvrir d'autres étiologies (causes) de l'infertilité masculine qui ne sont pas exploré par le spermogramme normal. Elle permettra de comprendre aussi la corrélation entre la qualité du noyau des spermatozoïdes et l'infertilité masculine

10- Risques et inconvénients liés à la participation à la recherche

Le seul inconvénient de votre participation à l'étude est le temps que vous devrez consacrer l'entretien et le prélèvement du sperme qui n'est parfois pas facile, ni agréable. Sinon votre participation est à titre informatif.



11- Confidentialité des données de la recherche

Tous les renseignements recueillis pour l'étude sont confidentiels et anonymes. A ce titre, toutes les informations obtenues dans le cadre de cette recherche sont couvertes par le secret professionnel conformément aux lois en vigueur au Bénin. Pour ce faire, les renseignements seront codés, le numéro de code vous ayant été attribué sera utilisé pour toutes les analyses des résultats. Ces résultats pourront être publiés ou communiqués dans un congrès scientifique mais aucune information pouvant vous identifier ne sera dévoilée

12- Personne à contacter en cas de problème

N'hésitez pas à poser des questions à tout moment pendant l'étude. Si vous avez un problème ou d'autres questions à propos de l'étude ou de vos droits en tant que participants, veuillez communiquer avec H. Marina S. DEGBELO + **229 62 85 08 96**

13- Approbation du protocole de recherche

Le protocole et les procédures opérationnelles ont été soumis pour approbation au Comité d'Ethique de la Recherche (CER-ISBA), cer_isba@yahoo.fr



Annexe 7 : feuille de paillasse de lecture des lames

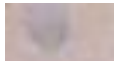
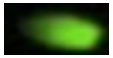
Date	Numéro	Bleu de toluidine Test de Condensation/Décondensation				Orange acridine Test de fragmentation				Conclusion générale
		Normal 	Moyen 	Mauvais 	Conclusion partielle	Normal 	Moyen 	Mauvais 	Conclusion partielle	

TABLE DES MATIERES

ACTION DE GRÂCE i
DEDICACES iii
REMERCIEMENTS vi
HOMMAGES viii
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS xi
LISTE DES TABLEAUX xiv
LISTE DES ICONOGRAPHIES xv
LISTE DES FIGURES xvi
SOMMAIRE xix
INTRODUCTION 1
1. GENERALITES 5
1.1. Définitions de concepts 6
1.2. Appareil génital masculin 7
1.2.1. Les testicules [21] 8
1.2.2. Les voies spermatiques 10
1.2.2.1. Les voies spermatiques intra testiculaires 10
1.2.2.2. Les voies spermatiques extra testiculaires 10
1.2.3.Les glandes annexes [25] 12
1.2.4. Les organes génitaux externes [21] 12
1.3. Rappel physiologique 13
1.3.1. Spermatogenèse [26] 13
1.3.2. Le spermatozoïde normal [27] 16
1.3.3. Fonction de la reproduction chez l'homme 17
1.4. Infertilité masculine 18
14.1. Epidémiologie 18
1.4.2. Causes 19
1.4.2.1. Etiologies pré-testiculaires [29] 19

1.4.2.2. Etiologies testiculaires [29,30] 19
1.4.2.3. Etiologies post-testiculaires [29] 20
1.4.3. Exploration de la fonction de reproduction masculine 21
1.4.3.1. Bilan biologique 21
1.4.3.2. Bilan hormonal [36,37]. 26
1.4.3.3. Bilan d'imagerie [38] 26
1.4.3.4. Bilan génétique [3] 26
1.4.3.5. Biopsie testiculaire [39] 27
1.3.4. Fragmentation de l'ADN spermatique 27
1.3.5. Exploration de la qualité nucléaire du spermatozoïde 29
2. CADRE ET METHODE D'ETUDE 32
2.1. Cadre 33
2.2. Méthode 34
2.2.1. Type et période d'étude 34
2.2.2. Population d'étude 34
2.2.3. Echantillonnage 35
2.2.3.1. Taille de l'échantillon 35
2.2.3.2. Critères d'inclusion 35
2.2.3.3. Critères de non-inclusion 35
2.2.3.4. Critères d'exclusion 35
2.2.4. Outils et technique de collecte 36
2.2.4.1. Outils de collecte 36
2.2.4.2. Technique de collecte 36
2.2.4.2.1. La coloration au bleu de toluidine (BT). 36
2.2.4.2.2. La coloration à l'orange acridine (OA). 39
2.2.5 Description des variables de l'étude 41
2.2.5.1. Variables dépendantes 41
2.2.5. Traitement et analyse des données 42
2.2.6. Considérations éthiques et administratives 42

3. RESULTATS 43
3.1. Diagramme de flux 44
3.2. Données sociodémographiques 45
3.2.1. Age 45
3.2.2. Profession 46
3.2.3. Type d'infertilité 46
3.2.4. Age du dernier enfant 47
3.2.5. Age de la conjointe 48
3.2.6. Nombre d'années de vie commune 49
3.2.7. Durée de l'abstinence 50
3.2.8. Traitement en cours 50
3.2.9. Indice de masse corporelle 51
3.2.10. Antécédents personnels médicaux 52
3.3. Données spermatiques 52
3.3.1. Volume de l'éjaculat 53
3.3.2. pH du sperme 54
3.3.3. Vitalité des spermatozoïdes 55
3.3.4. Mobilité des spermatozoïdes à la première heure 56
3.3.5. Concentration des spermatozoïdes 57
3.3.6. Morphologie des spermatozoïdes 58
3.3.7. Index d'Anomalies Multiples (IAM) 59
3.4. Données de la qualité du noyau 60
3.4.1. Décondensation de l'ADN spermatique 60
3.4.2. Fragmentation de l'ADN spermatique 63
3.5.Données sociodémographiques, paramètres spermatiques et décondensation de l'ADN spermatique 66
4. DISCUSSION 69
4.1. Atteinte des objectifs de l'étude 70
4.2. Validité de l'étude 70

4.3. Commentaires des résultats 71
4.3.1. Les aspects sociodémographiques 71
4.3.2. Les aspects selon le type d'infertilité 72
4.3.4. Les aspects selon les anomalies spermatiques 74
4.3.5. Les aspects selon la qualité nucléaire 76
4.3.5.1. Index de fragmentation (coloration à l'orange d'acridine) 76
4.3.5.2. Relation entre la fragmentation de l'ADN et l'âge 77
4.3.5.3. Relation entre la fragmentation de l'ADN et la vitalité 77
4.3.5.4. Relation entre la fragmentation de l'ADN et la mobilité 78
4.3.5.5. Relation entre la fragmentation de la chromatine et la morphologie 78
4.3.5.6. Taux de décondensation (coloration au bleu de toluidine) 79
4.3.5.7. Test de décondensation et test de fragmentation 79
4.3.5.8. Applications cliniques des colorations à l'orange acridine et au bleu de toluidine 80
CONCLUSION 81
PERSPECTIVES 83
REFERENCES 85
ANNEXES ..... A
TABLE DES MATIERES ..... a

SERMENT D'HIPPOCRATE

Devant le peuple béninois et en présence des maîtres de cette faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires. Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me sont confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Je ne permettrai pas que les considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès la conception. Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers les maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs parents. Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure

VU LE PRESIDENT DU JURY

VU LE DOYEN

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

LE RECTEUR DE L'UNIVERSITÉ D'ABOMEY-CALAVI

RESUME

Introduction : Le spermogramme explore les différentes étapes de production et de transport des spermatozoïdes ainsi que la production des glandes annexes. L'intégrité de la chromatine des spermatozoïdes a été reconnue comme un facteur important de l'infertilité masculine. Des anomalies de la condensation de la chromatine peuvent entraîner des altérations de l'ADN du type fragmentation. De nouvelles approches sont nécessaires pour mieux explorer l'infertilité masculine.

Objectif : Evaluer la qualité de l'ADN spermatique chez les hommes infertiles à Cotonou.

Patients, matériels et méthode d'étude : Il s'est agi d'une étude transversale analytique portant sur des patients venus dans le cadre d'un bilan d'infertilité. L'étude s'est déroulée sur une durée de 06 mois allant du mois de mai à octobre 2023, dans trois laboratoires de Cotonou.

Résultats : L'âge moyen était de 36,71 ± 6 ans avec des extrêmes entre 21 ans et 72 ans. Les fonctionnaires étaient la classe professionnelle la plus représentée. L'infertilité primaire dominait (61%) avec une durée moyenne d'infertilité de 5 ans. Les oreillons et la varicocèle étaient retrouvés respectivement chez 31,41% et 34,28% des patients. L'IMC moyen était de 25,44 ± 3,04 kg/m^2. Selon les normes de l'OMS, les anomalies du spermogramme retrouvées étaient : l'asthénozoospermie (40%), la nécrozoospermie (42%), l'oligozoospermie (22%) et la tératozoospermie (55%). La coloration au bleu de toluidine a permis d'évaluer le niveau de décondensation qui était > 25% chez 29,35% des patients ; la valeur moyenne était de 37,88% avec des extrêmes de 25% et 73%. La coloration à l'orange acridine a permis d'évaluer le taux de fragmentation qui était > 25% chez 20,18% des patients ; la valeur moyenne était de 42,36% avec des extrêmes de 25% et 99%. Une relation entre le niveau de décondensation, le taux de fragmentation de l'ADN spermatique et les paramètres spermatiques a été établie. Ainsi qu'une relation statistiquement significative entre le niveau de décondensation et le taux de fragmentation a été mise en évidence (p-Value=0,0031).

Conclusion : Le spermogramme à lui seul ne permet une exploration complète de l'infertilité masculine. Il n'explore pas la qualité fonctionnelle des gamètes. Il serait judicieux d'associer l'étude de la qualité de l'ADN spermatique au spermogramme dans l'exploration de routine de l'infertilité masculine.

Mots clés : infertilité masculine, spermogramme, fragmentation, décondensation, ADN spermatique.

ABSTRACT

Introduction: The spermogram explores the different stages of sperm production and transport as well as the production of accessory glands. Sperm chromatin integrity has been recognized as an important factor in male infertility. Abnormalities in chromatin condensation can lead to DNA damage such as fragmentation. New approaches are needed to better explore male infertility.

Objective: To evaluate the quality of sperm DNA in infertile men in Cotonou.

Patients, materials and study method: This was an analytical cross-sectional study involving patients who came as part of an infertility assessment. The study took place over a period of 06 months from May to October 2023, in three laboratories in Cotonou.

Results: The average age was 36.71 ± 6 years with extremes between 21 and 72 years. Civil servants were the most represented professional class. Primary infertility dominated (61%) with an average duration of infertility of 5 years. Mumps and varicocele were found in 31.41% and 34.28% of patients respectively. The average BMI was 25.44 ± 3.04 kg/m2. According to WHO standards, the spermogram abnormalities found were: asthenozoospermia (40%), necrozoospermia (42%), oligozoospermia (22%) and teratozoospermia (55%). Toluidine blue staining made it possible to evaluate the level of decondensation which was > 25% in 29.35% of patients; the average value was 37.88% with extremes of 25% and 73%. The acridine orange staining made it possible to evaluate the fragmentation rate which was > 25% in 20.18% of patients; the average value was 42.36% with extremes of 25% and 99%. A relationship between the level of decondensation, the sperm DNA fragmentation rate and sperm parameters was established. As well as a statistically significant relationship between the level of decondensation and the fragmentation rate was highlighted (p-Value=0.0031).

Conclusion: The spermogram alone does not allow a complete exploration of male infertility. It does not explore the functional quality of gametes. It would be wise to combine the study of the quality of sperm DNA with the spermogram in the routine exploration of male infertility.

Key words: male infertility, spermogram, fragmentation, decondensation, sperm DNA.