

Ministère des Enseignements  
Secondaire Supérieur et de  
La Recherche Scientifique  
Université de Bamako



République du Mali  
Un Peuple – Un But – Une Foi



**Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie**

Année universitaire 2009-2010 N°.....

## *Thèse*

# **MISE EN EVIDENCE PAR PCR DES MICRODELETIONS SUR LE CHROMOSOME Y CHEZ 17 HOMMES AZOOSPERMES ET 1 OLIGOSPERME SEVERE MALI**

Présentée et soutenue publiquement le ...../ 2010  
Devant la Faculté de Médecine de Pharmacie et  
D'Odontostomatologie

**Par : Mr Doumbia Cheick Hamala**

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine  
(Diplôme d'Etat)

## *Jury*

Président:

Membre:

Membre :

Codirecteur:

Directeur de thèse:

**REPUBLIQUE DU MALI**  
**MINISTERE DE L'EDUCATION**  
**UNIVERSITE DE BAMAKO**  
**FACULTE DE MEDECINE PHARMACIE ET D'ODONTOSTOMATOLOGIE**  
**Année universitaire : 2009-2010**

**THESE**

En vue de l'obtention du grade de **DOCTEUR EN MEDECINE (Diplôme d'Etat)**

**Titre :**

**MISE EN EVIDENCE PAR PCR DES MICRODELETIONS SUR  
LE CHROMOSOME Y CHEZ 17 HOMMES AZOOSPERMES ET 1  
OLIGOSPERME SEVERE MALI**

Présentée par **CHEICK HAMALA DOUMBIA**

Soutenue publiquement le.....Janvier 2010

**JURY**

**Président :**

**Membre :**

**Membre :**

**Codirecteur :**

**Directeur de thèse :**

**MISE EN EVIDENCE PAR PCR DES  
MICRODELETIONS SUR LE CHROMOSOME  
Y CHEZ 17 HOMMES AZOOSPERMES ET 1  
OLIGOSPERME SEVERE MALI**

**ADMINISTRATION:**

DOYEN: ANATOLE TOUNKARA – PROFESSEUR

1<sup>er</sup> ASSESSEUR: **DRISSA DIALLO** – MAÎTRE DE CONFERENCES

2<sup>ème</sup> ASSESSEUR: **SEKOU SIDIBE** – MAÎTRE DE CONFERENCE

SECRETAIRE PRINCIPAL: **YENIMEGUE ALBERT DEMBELE** – PROFESSEUR

AGENT COMPTABLE: **MADAME COULIBALY FATOUMATA TALL**

- CONTROLEUR DES FINANCES

**PROFESSEURS HONORAIRES:**

Mr. Alou BA	Ophtalmologie
Mr. Bocar SALL	Orthopédie Traumatologie – Secourisme
Mr. Souleymane SANGARE	Pneumo-phtisiologie
Mr. Yaya FOFANA	Hématologie
Mr. Mamadou L. TRAORE	Chirurgie Générale
Mr. Balla COULIBALY	Pédiatrie
Mr. Mamadou DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Ali Nouhoum DIALLO	Médecine interne
Mr Aly GUINDO	Gastro-entérologie
Mr Mamadou M. KEITA	Pédiatrie
Mr Sinè BAYO	Anatomie-Pathologie- Histo-embryologie
Mr Sidi Yaya SIMAGA	Santé Publique
Mr Abdoulaye Ag RHALY	Médecine Interne
Mr Boulkassoum HAIDARA	Législation
Mr Boubacar Sidiki Cissé	Toxicologie
Mr Massa SANOGO	Chimie Analytique

## LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E.R. & PAR GRADE

### **D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES :**

#### **1. PROFESSEURS**

Mr. Abdel Karim KOUMARE	Chirurgie Générale
Mr. Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr. Abdou Alassane TOURE	Orthopédie -Traumatologie
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie
Mr Amadou DOLO	Gynéco Obstétrique
Mr Alhousseini Ag MOHAMED	ORL
Mme SY Assitan SOW	Gyneco- Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gyneco- Obstétrique
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie – Réanimation
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale, <b>Chef de D.E.R.</b>
Mr Abdel Kader TRAORE dit DIOP	Chirurgie Générale
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie Viscérale

#### **2. MAITRES DE CONFERENCES**

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie
Mr Mamadou TRAORE	Gynéco- Obstétrique
Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale
Mr Sékou SIDIBE	Orthopédie -Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie - Réanimation
Mr Tièman COULIBALY	Orthopédie -Traumatologie
Mme TRAORE J THOMAS	Ophtalmologie
Mr Mamadou L. DIOMBANA	Stomatologie
Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE	Gynéco- Obstétrique
Mr Nouhoum ONGOÏBA	Anatomie & Chirurgie Générale
Mr Sadio YENA	Chirurgie Thoracique
Mr Youssouf COULIBALY	Anesthésie- Réanimation
Mr Zimogo Zié SANOGO	Chirurgie Générale

### 3. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Issa DIARRA	Gynéco- Obstétrique
Mr Samba Karim TIMBO	Oto-Rhino-Laryngologie
Mme TOGOLA Fanta KONIPO	Oto-Rhino-Laryngologie
Mme Djénéba DOUMBIA	Anesthésie / Réanimation
Mr Zanafon OUATTARA	Urologie
Mr Adama SANGARE	Orthopédie- Traumatologie
Mr Sanoussi BAMANI	Ophtalmologie
Mr Doulaye SACKO	Ophtalmologie
Mr Ibrahim ALWATA	Orthopédie - Traumatologie
Mr Lamine TRAORE	Ophtalmologie
Mr Mady MAKALOU	Orthopédie/ Traumatologie
Mr Aly TEMBELY	Urologie
Mr Niani MOUNKORO	Gynécologie/ Obstétrique
Mr Tiémoko D. COULIBALY	Odontologie
Mr Souleymane TOGORA	Odontologie
Mr Mohamed KEITA	Oto-Rhino-Laryngologie
Mr Bouraïma MAIGA	Gynécologie/Obstétrique
Mr Youssouf SOW	Chirurgie Générale
Mr Djibo Mahamane DIANGO	Anesthésie/Réanimation
Mr Moustapha TOURE	Gynécologie
Mr Mamadou DIARRA	Ophtalmologie
Mr Boubacar GUINDO	Oto-Rhino-Laryngologie
Mr Moussa Abdoulaye OUATTARA	Chirurgie Générale
Mr Birama TOGOLA	Chirurgie Générale
Mr Bréhima COULIBALY	Chirurgie Générale
Mr Adama Konoba KOÏTA	Chirurgie Générale
Mr Adégné TOGO	Chirurgie Générale
Mr Lassana KANTE	Chirurgie Générale
Mr Mamby KEITA	Chirurgie Pédiatrique
Mr Hamady TRAORE	Odonto-Stomatologie
Mme KEITA Fatoumata SYLLA	Ophtalmologie
Mr Drissa KANIKOMO	Neurochirurgie
Mme Kadiatou SINGARE	Oto-Rhino-Laryngologie

Mr Nouhoum DIANI	Anesthésie/Réanimation
Mr Aladji Séydou DEMBELE	Anesthésie/Réanimation
Mr Ibrahima TEGUETE	Gynécologie/Obstétrique
Mr Youssouf TRAORE	Gynécologie/Obstétrique
Mr Lamine Mamadou DIAKITE	Urologie

## **D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES**

### **1. PROFESSEURS**

Mr Daouda DIALLO	Chimie Générale & Minérale
Mr Amadou DIALLO	Biologie
Mr Moussa HARAMA	Chimie Organique
Mr Ogobara DOUMBO	Parasitologie-Mycologie
Mr Yénimégué Albert DEMBELE	Chimie Organique
Mr Anatole TOUNKARA	Immunologie
Mr Bakary M. CISSE	Biochimie
Mr Abdourahamane S. MAÏGA	Parasitologie
Mr Adama DIARRA	Physiologie
Mr Mamadou KONE	Physiologie

### **2. MAÎTRES DE CONFERENCES**

Mr Amadou TOURE	Histoembryologie
Mr Flabou BOUGOUDOGO	Bactériologie – Virologie
Mr Amagana DOLO	Parasitologie, <b>Chef de D.E.R</b>
Mr Mahamadou CISSE	Biologie
Mr Sékou F. M. TRAORE	Entomologie médicale
Mr Abdoulaye DABO	Malacologie – Biologie Animale
Mr Ibrahim I. MAÏGA	Bactériologie – Virologie
Mr Mahamadou A. THERA	Parasitologie – Mycologie

### **3. MAÎTRES ASSISTANTS**

Mr Lassana DOUMBIA	Chimie Organique
Mr Mounirou Baby	Hématologie
Mr Moussa Issa DIARRA	Biophysique
Mr Kaourou DOUCOURE	Biologie
Mr Bouréma KOURIBA	Immunologie
Mr Souleymane DIALLO	Bactériologie -Virologie
Mr Cheik Bougadari TRAORE	Anatomie - Pathologie
Mr Guimogo DOLO	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Mouctar DIALLO	Biologie Parasitologie
Mr Abdoulaye TOURE	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Boubacar TRAORE	Parasitologie - Mycologie
Mr Djibril SANGARE	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Mahamadou DIAKITE	Immunologie – Génétique
Mr Bakarou KAMATE	Anatomie – Pathologie
Mr Bakary MAÏGA	Immunologie

### **4. ASSISTANTS**

Mr Mangara M. BAGAYOKO	Entomologie-Moléculaire Médicale
Mr Bokary Y. SACKO	Biochimie
Mr Mamadou BA	Biologie, Parasitologie, Entomologie Médicale
Mr Moussa FANE	Parasitologie Entomologie
Mr Blaise DACKOUCO	Chimie Analytique

### **D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES**

#### **1. PROFESSEURS**

Mr Mamadou K. TOURE	Cardiologie
Mr Mahamane MAÏGA	Néphrologie
Mr Baba KOUMARE	Psychiatrie- <b>Chef de D.E.R.</b>
Mr Moussa TRAORE	Neurologie
Mr Issa TRAORE	Radiologie
Mr Hamar A. TRAORE	Médecine Interne
Mr Dapa Aly DIALLO	Hématologie

Mr Moussa Y. MAIGA	Gastro- entérologie- Hépatologie
Mr Somita KEITA	Dermato- Léprologie
Mr Boubacar DIALLO	Cardiologie
Mr Toumani SIDIBE	Pédiatrie

## **2. MAÎTRES DE CONFERENCES**

Mr Bah KEITA	Pneumo- Phtisiologie
Mr Abdel Kader TRAORE	Médecine Interne
Mr Siaka SIDIBE	Radiologie
Mr Mamadou DEMBELE	Médecine Interne
Mr Mamady KANE	Radiologie
Mr Sahare FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Mr Bou DIAKITE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastro-entérologie
Mme SIDIBE Assa TRAORE	Endocrinologie
Mr Adama D. KEITA	Radiologie
Mr Sounkalo DAO	Maladies Infectieuses
Mme TRAORE Mariam SYLLA	Pédiatrie
Mr Daouda K Minta	Maladies Infectieuses

## **3. MAITRES ASSISTANTS**

Mme Habibatou DIAWARA	Dermatologie
Mr Kassoum SANOGO	Cardiologie
Mr Seydou DIAKITE	Cardiologie
Mr Arouna TOGORA	Psychiatrie
Mme KAYA Assétou SOUCKO	Médecine interne
Mr Boubacar TOGO	Pédiatrie
Mr Mahamadou B. TOURE	Radiologie
Mr Idrissa A. CISSE	Dermatologie
Mr Mamadou B. DIARRA	Cardiologie
Mr Anselme KONATE	Hépto-gastro-entérologie
Mr Moussa T. DIARRA	Hépto-gastro-entérologie
Mr Souleymane DIALLO	Pneumologie

Mr Souleymane COULIBALY	Psychologie
Mr Cheick Oumar GUINTO	Neurologie
Mr Mahamadoun GUINDO	Radiologie
Mr Ousmane FAYE	Dermatologie
Mr Yacouba TOLOBA	Pneumo-Phtisiologie
Mme Fatoumata DICKO	Pédiatrie
Mr Boubacar DIALLO	Médecine Interne
Mr Youssoufa Mamoudou MAIGA	Neurologie
Mr Modibo SISSOKO	Psychiatrie
Mr Ilo Bella DIALL	Cardiologie
Mr Mahamadou DIALLO	Radiologie

## **D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

### **1. PROFESSEURS**

Mr Gaoussou KANOUTE	Chimie Analytique <b>Chef de D.E.R</b>
Mr Ousmane DOUMBIA	Pharmacie Chimique
Mr Elimane MARIKO	Pharmacologie

### **2. MAITRES DE CONFERENCES**

Mr Drissa DIALLO	Matières Médicales
Mr Alou KEITA	Galénique
Mr Benoît Yaranga KOUMARE	Chimie Analytique
Mr Ababacar I. MAIGA	Toxicologie
Mme Rokia SANOGO	Pharmacognosie

### **3. MAÎTRES ASSISTANTS**

Mr Yaya KANE	Galénique
Mr Saibou MAIGA	Législation
Mr Ousmane KOITA	Parasitologie Moléculaire
Mr Yaya COULIBALY	Législation
Mr Abdoulaye DJIMDE	Microbiologie/Immunologie
Mr Sékou BAH	Pharmacologie
Mr Loséni BENGALY	Pharmacie Hospitalière

## **D.E.R. SANTE PUBLIQUE**

### **1. PROFESSEUR**

Mr Sanoussi KONATE

Santé- Publique- **Chef de D.E.R**

### **2. MAÎTRE DE CONFERENCES**

Mr Moussa A. MAÏGA

Santé Publique

Mr Jean TESTA

Santé Publique

Mr Mamadou Souncalo TRAORE

Santé Publique

### **3. MAÎTRES ASSISTANTS**

Mr Adama DIAWARA

Santé Publique

Mr Hamadoun SANGHO

Santé Publique

Mr Massambou SACKO

Santé Publique

Mr Alassane A DICKO

Santé Publique

Mr Hammadoun Aly SANGO

Santé Publique

Mr Séydou DOUMBIA

Epidémiologie

Mr Samba DIOP

Anthropologie Médicale

Mr Akory Ag IKNANE

Santé Publique

Mr Ousmane Ly

Santé Publique

### **4. ASSISTANTS :**

Mr Oumar THIERO

Bio statistique

Mr Séydou DIARRA

Anthropologie Médicale

## **CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES**

Mr N'Golo DIARRA	Botanique
Mr Bouba DIARRA	Bactériologie
Mr Salikou SANOGO	Physique
Mr Boubacar KANTE	Galénique
Mr Souleymane GUINDO	Gestion
Mme DEMBELE Sira DIARRA	Mathématiques
Mr Modibo DIARRA	Nutrition
Mme MAÏGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du Milieu
Mr Mahamadou TRAORE	Génétique
Mr Yaya COULIBALY	Législation
Mr Lassine SIDIBE	Chimie Organique

## **ENSEIGNANTS EN MISSION**

Pr. Doudou BA	Bromatologie
Pr. Babacar FAYE	Pharmacodynamie
Pr. Mounirou CISS	Hydrologie
Pr Amadou Papa DIOP	Biochimie
Pr Lamine GAYE	Physiologie

DEDICACES  
ET  
REMERCIEMENTS

## Dédicaces

*Bismilahi Rahman Rahim*

*Au nom de D.F.E.U le tout puissant le très miséricordieux*

### ➤ *A mes parents*

*Cher père les mots me manquent pour te témoigner en ce jour tant attendu ton soutien constant durant mon cursus scolaire ; ton amour pour le travail bienfait ton éducation ta patience et ton sens pour le pardon du prochain je ne saurais te dire ce que je ressens cher papa que D.F.E.U te donne longue vie et une bonne santé te rendre fier de moi constitue ma priorité.*

*Chère mère vous avez supporté mes caprices qu'Allah vous donne longue vie et la santé*

### ➤ *A toute ma famille*

*Je vous dédie ce travail avec mon amour pour vous qu'Allah vous protège.*

*Sitan, Badiallo, Oumou, Seydou, Dramane, Sali, Tenin, Chaka, Bassitou, Kadia, Madou, Sékou, Mako*

### ➤ *A ma femme Madame Doumbia Fatoumata Nomogo ainsi qu'à ma fille Aïsi l'hononyme de ma mère*

### ➤ *- A mes ami(e)s*

*L'amitié est sacrée par ce lien c'est un grand honneur pour moi d'être votre ami recevez ici ma reconnaissance sincère. Que D.F.E.U nous donne une longue vie et une bonne santé.*

*Je vous en suis très reconnaissant : Fadoni, Marcel, Moussa, Fifi Doucoure, Cok, Bassaba, Abdoul Karim, Fouss, Maï, Abdou, Abdramane, Mohamed, Bassinou, Idrissa, Ismail a, Youssouf, Sékou, Kotou, Aba, Boré, Bink, Yaya, Tiédé, Ramata, Soumy, Idriss, Yacouba*

*A tous ceux que j'ai omis de citer dans l'enthousiasme, je vous prie d'accepter mes excuses pour cette omission involontaire.*

*A tous ceux que j'ai omis de citer dans l'enthousiasme, je vous prie d'accepter mes excuses pour cette omission involontaire.*

*C'est de tout mon cœur que je vous dédie ce travail.*

## *A la mémoire de :*

*Feu Tonton Falaye Doumbia :*

*Le travail est le tiens je me souviens encore quand tu nous apprenais à réciter les tables de multiplications, les 26 lettres de l`alphabet français. Qu`Allah t`heberge dans son paradis  
(Amine)*

## Remerciements

- ✚ *A la famille Diallo à Kalaban- Coura*
- ✚ *A Mr Diallo Fadoni*
- ✚ *A la famille de Mr Nomoogo Djibril*
- ✚ *A la famille Konaré à Faladié*
- ✚ *Mr Abdoul Karim*
- ✚ *Stagiaires de l' Unité de Virologie LBMA Mr Kotou Sangaré*
- ✚ *A Dr Traore Samba et Dr Théra*
- ✚ *A Marcel*
- ✚ *Au Dr Diarra Yaya*
- ✚ *Au Dr Alico Sissako*
- ✚ *Au Dr Ousmane Hamadoun Cissé*
- ✚ *A la famille Camara*
- ✚ *A Gil : Moussa Samaké*
- ✚ *Mes parents (Seydou : Dramane ; Ismaël et Tary)*
- ✚ *La famille Sanogo à Dacoudabougou*
- ✚ *A tous le personnel du centre medical <Etoiles>*
- ✚ *A.A.S.A.C.O.K.A.L*
- ✚ *Personnel du LBMA*
- ✚ *Personnel du PMI de Missira*
- ✚ *Personnel de l' INRSP*
- ✚ *Personnel de l' Unité de Virologie LBMA*

HOMMAGES  
AUX MEMBRES  
DU JURY

## **Hommage aux membres du Jury**

A notre maitre et président du jury

*Dr BOUREIMA MAIGA*

A notre maitre et Directeur de thèse

*Professeur SY Assitan SOW:*

*Professeur titulaire de gynécologie et d'obstétrique à la FMPOS.  
Chef de service de gynécologie obstétrique au centre de santé de  
référence de la commune II du District de Bamako.*

*Présidente de la Société Malienne de Gynécologie Obstétrique  
(SOMAGO).*

*Chevalier de l'ordre national du mérite de la santé du MALI  
Cher maître communément appelée TANTI.*

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous avez fait en nous confiant ce travail. Ce jour est le votre. C'est une fierté pour nous d'être compté parmi vos nombreux élèves. En plus de la science, nous avons appris les normes d'une meilleure vie sous vos ailes. Les mots manquent pour exprimer tout ce que nous ressentons pour vous. Vos précieux conseils resteront gravés dans notre mémoire.

Merci pour tout et soyez assurée de notre profond dévouement à suivre vos pas tous les jours.

A notre maitre et Directeur de thèse

*Dr OUSMANE KOITA*

Docteur en pharmacie et PhD en Parasitologie moléculaire.

Chargé de cours de biologie Moléculaire Appliquée à la FAST et de Biologie animale à la FMPOS.

Responsable du Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée de la FAST

Directeur adjoint du programme NIH/NIAD/FMPOS de recherche sur le SIDA et la Tuberculose.

Nous ne savons combien vous remercier pour avoir bien voulu la réalisation de ce travail. Votre gout pour la recherche

A notre maitre et Co-directeur de thèse

*Dr MAHAMADOU TRAORE*

*Biologiste généticien.*

*Responsable de l'enseignement de la génétique à la  
FMPOS.*

*Directeur de recherche à l'INRSP.*

*Adjoint au chef de service de cytogénétique et de biologie  
de la reproduction.*

*Membre de la Société d'Andrologie de Langue Française  
(SALF).*

*Membre du comité international de la revue Andrologie.*

## TABLES DES MATIERES

ADMINISTRATION: .....	iv
DEDICACES.....	xiii
ET .....	xiii
REMERCIEMENTS <i>Dédicaces</i> .....	xiii
<i>Dédicaces</i> .....	xiv
<i>A la mémoire de</i> :.....	xv
<i>Remerciements</i> .....	xvi
Homage aux membres du Jury .....	xviii
ABREVIATIONS .....	xxiv
TABLEAUX ET FIGURES .....	xxv
INTRODUCTION .....	1
<b>1 OBJECTIFS :</b> .....	<b>4</b>
<b>1.1 Objectif général</b> .....	<b>4</b>
<b>1.2 Objectifs spécifiques</b> .....	<b>4</b>
<b>2 GENERALITES</b> .....	<b>6</b>
<b>2.1 Définition :</b> .....	<b>6</b>
- L'infécondité : .....	7
- L'infertilité : .....	7
- L'hypofertilité : .....	7
- La stérilité :.....	7
<b>2.2 Rappel anatomique sur le système reproducteur mâle</b> .....	<b>7</b>
2.2.1 Embryologie du système reproducteur male:.....	7
2.2.2 Anatomie du système reproducteur mâle :.....	9
➤ Les testicules :.....	9
➤ Les voies spermatiques : .....	11
• Les tubes droits :.....	11
• Le rete-testis : .....	11
• Les cônes efférents : .....	11
• L'épididyme : .....	11
• Le canal déférent : .....	12
• Le canal éjaculateur : .....	13
➤ Les glandes annexes :.....	13
➤ Les organes génitaux externes : .....	14
2.2.3 Histologie du testicule adulte : .....	16
➤ Le testicule exocrine: .....	16
➤ Le testicule endocrine : .....	16
➤ La spermatogenèse :.....	17
✓ La méiose ou phase de maturation :.....	18
• La mitose réductionnelle ou méiose I :.....	19
• La mitose équationnelle ou méiose II :.....	19
✓ La spermiogenèse ou phase de différenciation :.....	20
✓ Description des cellules de la spermatogenèse : .....	23
• Les cellules germinales :.....	23

• Les spermatogonies ou cellules souches : .....	23
• Les spermatocytes de 1 <sup>er</sup> ordre : .....	23
• Les spermatocytes de 2 <sup>eme</sup> ordre : .....	23
• Les spermatides : .....	23
• Le spermatozoïde : .....	23
<b>2.2.4 La physiologie du système reproducteur mâle : .....</b>	<b>30</b>
➤ La régulation hormonale de la spermatogenèse : .....	30
✓ Action des gonadotrophines : .....	30
✓ Contrôle de la sécrétion des gonadotrophines : .....	30
➤ Maturation des spermatozoïdes : .....	31
➤ Mouvement des spermatozoïdes: .....	31
➤ Influence de certains facteurs sur la spermatogenèse .....	31
✓ Facteurs physiologiques : .....	31
✓ Facteurs physiques : .....	32
✓ Facteurs exogènes : .....	32
✓ Facteurs pharmacologiques : .....	33
➤ Le sperme : .....	33
✓ Définition : .....	33
✓ Les différentes fractions du sperme : .....	33
✓ Le plasma séminal : .....	34
✓ Méthodes de recueil du sperme : .....	34
• La condition physique du patient : .....	34
• La condition du prélèvement : .....	35
• Les conditions d'évaluation des paramètres physico-chimiques du sperme : .....	36
✓ Autres méthodes de recueil du sperme : .....	36
<b>2.2.5 Les anomalies du sperme : .....</b>	<b>36</b>
➤ Anomalies du nombre des spermatozoïdes .....	36
✓ Azoospermie : .....	36
• Azoospermie sécrétoire : .....	36
• Azoospermie excrétoire : .....	37
✓ Oligospermie : .....	37
✓ Polyzoospermie : .....	37
✓ Cryptozoospermie : .....	37
✓ Nécrozoospermie : .....	37
➤ Anomalie du volume du sperme : .....	37
✓ Aspermie : .....	37
✓ Hypospermie : .....	38
✓ Hyperspermie : .....	38
➤ Anomalie du pH : .....	38
✓ PH acide : .....	38
✓ PH basique : .....	38
➤ Anomalie de la mobilité : .....	38
➤ Anomalie de la morphologie : .....	38
➤ Infection du sperme : .....	39
➤ L'auto-immunisation anti-spermatozoïdes : .....	39
➤ Les anomalies chromosomiques : .....	39
<b>2.3 Etiologies .....</b>	<b>42</b>
2.4 Les moyens d'exploration de la stérilité masculine : .....	44
2.4.1- Le test post coïtal .....	44

2.4.2 Le spermogramme.....	45
<b>2.5 Outils de biologie moléculaire .....</b>	<b>48</b>
2.5.1 Transport des échantillons au LBMA .....	48
2.5.2 Critère d'acceptabilité de l'échantillon .....	48
2.5.3 Bonne pratique du laboratoire .....	48
2.5.4 La Lymphoséparation.....	48
2.5.5 Comptage des cellules mononuclées.....	50
2.5.6 Extraction \ Purification d'ADN .....	50
2.5.7 Dosage et Conservation.....	51
2.5.8- Electrophorèse.....	51
2.5.9 Amplification in vitro du matériel génétique (PCR).....	52
<b>METHODOLOGIE .....</b>	<b>55</b>
<b>3 METHODOLOGIE .....</b>	<b>56</b>
<b>3.1 Cadre et lieu d'étude : .....</b>	<b>56</b>
<b>3.2 Type et Période d'étude : .....</b>	<b>61</b>
<b>3.3 Population d'étude .....</b>	<b>62</b>
3.3.1 Description et critères d'inclusion.....	62
3.3.2 Critères de non inclusion.....	62
3.3.3 Limites de l'étude.....	62
3.3.4 Considérations éthiques.....	62
<b>3.4 Méthodes de l'étude.....</b>	<b>62</b>
3.4.1 Marqueurs moléculaires utilisés.....	62
➤ Synthèse ou cycle de PCR .....	62
➤ Dilution des amorces.....	64
3.4.2 Matériel biologique .....	64
➤ Isolement des cellules mononuclées du sang périphérique.....	64
➤ Extraction et quantification de l'ADN génomique : .....	64
3.4.3- Amplification des sous régions AZF .....	65
➤ Les conditions de la PCR.....	65
➤ Le programme d'amplification .....	66
➤ Electrophorèse et estimation de la taille des produits PCR .....	67
3.4.4 Exploration de microdeletion .....	67
➤ Tests diagnostique.....	67
➤ Mode de transmission .....	68
➤ Conseil génétique.....	69
<b>4 RESULTATS ET COMMENTAIRES : .....</b>	<b>71</b>
<b>5 DISCUSSION .....</b>	<b>80</b>
Caractéristiques des patients : .....	80
1. Ages : .....	80
2. Ethnie : .....	80
3. Profession : .....	81
4. Résidence : .....	81
5. Habitude de vie : .....	82
6. Antécédents infectieux : .....	82
7. Résultat du spermogramme : .....	82
8. Résultat de la PCR : .....	83
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>86</b>
<b>RECOMMANDATIONS.....</b>	<b>88</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>90</b>

ANNEXES.....	101
FICHE SIGNALÉTIQUE DE LA THÈSE.....	102
<i>SERMENT D'HIPPOCRATE</i> .....	104

## ABREVIATIONS

%	: pourcentage	PBMC	: cellules mononuclées du sang périphérique
µl	: microlitre	PBMCs:	Péripheric Blood Monocyte Cells
ADN	: Acide desoxyribo nucléique	PBS:	Phosphate Buffered Saline
ASACO	: Association Santé communautaire	PTME	: Prévention de la Transmission Mère Enfant
ATP	: Adénine Tri Phosphate	Taq	: Thermus Aquaticus
AZF	: Azoospermia factor	TBE:	Tris-Borate EDTA
CES	: Certificat d'Etude spéciale	UI	: Unité Internationale
DHT	: Dihydrotestostérone hormone	UV	: Ultra violet
EDTA	: Ethylène Diamino Tétra Acétique	STSs	: Séquence tagged sites
FAST	: Faculté des sciences et techniques		
FMPOS	: Faculté de Médecine Pharmacie et d'Odontostomatologie		
FSH	: Folliculo-Stimulating Hormone		
INRSP	: Institut Nationale de Recherche en Santé Publique		
IOTA	: Institut Ophtalmologie tropicale Africaine		
Kb	: Kilo base		
Km	: Kilomètre		
LBMA	: Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée		
LH	: Luteinizing Hormone		
LH-RH=Gn-RH			
MgCl <sub>2</sub>	: Chlorure de magnésium		
ml	: millilitre		
mM	: micro moles par litre		
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé		
Pb	: Paire de base		
PCR	: Polymérase Chain réaction		
PEV	: Programme élargie de vaccination		

## **TABLEAUX ET FIGURES**

<b>Tableau 1 : Etiologie du défaut de la spermatogenèse.....</b>	<b>43</b>
<b>Tableau 2 : Les normes du spermogramme selon l’OMS.....</b>	<b>49</b>
<b>Tableau 3: Sequence-tagged sites (STS) and primer sequences used for Y chromosome microdeletion analysis.....</b>	<b>64</b>
<b>Tableau 4 : Réactifs utilisés pour la PCR d’un échantillon.....</b>	<b>66</b>
<b>Tableau 5 : Programme du cycle thermique utilisé au cours de la PCR.....</b>	<b>66</b>
<b>Tableau 6 : Répartition des patients selon l’âge.....</b>	<b>69</b>
<b>Tableau 7 : Répartition des patients selon l’ethnie.....</b>	<b>69</b>
<b>Tableau 8 : Répartition des patients selon la profession.....</b>	<b>70</b>
<b>Tableau 9 : Répartition des patients selon la résidence.....</b>	<b>70</b>
<b>Tableau 10 : Répartition des patients selon les habitudes de vies.....</b>	<b>71</b>
<b>Tableau 11 : Répartition des patients selon les antécédents infectieux.....</b>	<b>71</b>
<b>Tableau 12 : Répartition des patients selon le volume du sperme.....</b>	<b>72</b>
<b>Tableau 13 : Répartition des patients selon la viscosité du sperme .....</b>	<b>72</b>
<b>Tableau 14 : Répartition des patients selon la numération des spermatozoïde.....</b>	<b>73</b>
<b>Tableau 15 : Amplification par PCR de la sous-région AZFa pour la recherche de microdeletion chez les 18 sujets.....</b>	<b>73</b>
<b>Tableau 16 : Amplification de la partie subtélomérique de la zone Yp servant de contrôle positif de PCR chez les 18 sujets.....</b>	<b>74</b>
<b>Tableau 17 : Amplification par PCR de la sous région AZFc pour la recherche de microdeletion chez les 18 sujets.....</b>	<b>74</b>
<b>Tableau 18 : Amplification de la zone hétéro chromatinienne au niveau de la partie Yq du chromosome des 18 sujets.....</b>	<b>75</b>
<b>Tableau 19 : Valeur hormonale chez nos sujets 2 et 8.....</b>	<b>77</b>

## FIGURES

<b>Figure 1 : Coupe sagittale du testicule.....</b>	<b>10</b>
<b>Figure 2 : Appareil génital masculin.....</b>	<b>15</b>
<b>Figure 3 : la paroi de la lumière du tube séminifère.....</b>	<b>21</b>
<b>Figure 4 : la spermatogenèse.....</b>	<b>22</b>
<b>Figure 5 : Complete diagram of a human spermatozoa fr.svg.....</b>	<b>24</b>
<b>Figure 6 : un spermatozoïde en microscopie optique (Vue de face).....</b>	<b>25</b>
<b>Figure 7 : un spermatozoïde en microscopie électronique.....</b>	<b>28</b>
<b>Figure 8 : Les différentes régions du chromosome Y et leurs marqueurs.....</b>	<b>44</b>
<b>Figure 9 : Séparation lymphocytaire par le Ficoll.....</b>	<b>50</b>
<b>Figure 10 : indications de la recherche de microdeletion de l'Y chez l'homme infertile.....</b>	<b>68</b>
<b>Figure 11 : Gel montrant l'amplification de l'ADN des 18 sujets par le marqueur sY255.....</b>	<b>75</b>
<b>Figure 12 : diagramme schématique du chromosome Y humain.....</b>	<b>76</b>

# INTRODUCTION

## **INTRODUCTION**

Plusieurs milliers soit 15% des couples à travers le monde ne peuvent concevoir après des rapports sexuels réguliers, cependant dans plus de 30% des cas, l'étiologie de cette infertilité est inconnue(99). Aussi, malgré des traitements, la situation reste inchangée, ce qui fait penser à un désordre d'ordre génétique au niveau du chromosome sur lequel se situent les gènes qui gouvernent la spermatogenèse. La présence d'un gène ou groupe de gènes, liés à une normale spermatogenèse a permis d'établir la base de l'analyse cytogénétique qui montra des délétions microscopiques sur la partie distale du chromosome Y (Yq11) chez l'homme avec azoospermie (AZF) (1). Le récent développement de la technique de Polymérase Chain Réaction (PCR) a permis d'identifier plusieurs régions de microdeletion couvrant tout le chromosome Y (30).

“Lorsque l'enfant parait, le cercle de famille  
Applaudit à grands cris. “

**Victor HUGO** - Les feuilles d'automne

“Il est si beau, l'enfant avec son doux sourire  
Sa douce bonne foi, sa voix qui veut tout dire,  
Ses pleurs vite apaisés. “

**Victor HUGO** - Les feuilles d'automne

“Nous n'existons vraiment que par ces petits êtres  
Qui dans tout notre cœur s'établissent en maître  
Qui prennent notre vie et ne s'en doutent pas,  
Et n'ont qu'à vivre heureux pour n'être point ingrats. “

**Emile AUGIER** - Gabrielle

Ceux qui sont inhabiles à la génération doivent être méprisés et être tenus comme monstres imparfaits et défectueux. Cette assertion de **LOUIS SERRES** en 1625 reste encore d'actualité. En effet la stérilité du couple n'est acceptée par aucune

société (28). La stérilité est un problème multifactoriel touchant selon les statistiques 15% des couples dans le monde.

Au MALI, où « l'instinct » de reproduction reste encore profondément ancré, la stérilité du couple revêt les caractères d'un véritable fléau social. Objet de déshonneur, voir une punition la stérilité a été de tous les temps considéré comme une tare spécifiquement féminine (23), ceci afin de ne pas remettre en question l'homme et sa virilité. La vertu féminine se résume alors à la dualité production-procréation. Conséquemment la « valeur » et le rang social de la femme n'y reposent que sur le nombre de ses enfants donc de sa faculté de procréer. Un adage Bambara ne dit-il pas que : le but du mariage est de procréer.

La cosmogonie Africaine interprète la procréation comme le retour des ancêtres par les enfants contrairement à la religion pour laquelle ; elle est un devoir supérieur. Dans de nombreuses cultures, l'enfant constitue un bien précieux, sacré dont sa conception donne un sens à la vie du couple. Au MALI, dans tous les groupes ethniques, il fait inéluctablement la fierté du couple et de la famille.

« La responsabilité de l'homme à été longtemps niée ; en effet depuis l'aube des temps l'hypofertilité masculine, longtemps confondue avec l'impuissance sexuelle et aussi à la croyance populaire selon laquelle tout homme capable de coït suivi d'éjaculation renferment des spermatozoïdes féconds, persistent encore de nos jours (7, 19, 56). L'ignorance de la physiologie de la reproduction a longtemps entretenu le mythe de la seule responsabilité féminine puisque ce que l'on connaissait de la grossesse est qu'elle se déroulait chez la femme. Il s'y ajoute que depuis toujours dans l'opinion commune on a assimilé stérilité et impuissance ». Des études montrant la responsabilité de l'homme dans la stérilité du couple ont été faites et la plus récente en 2001 (à Bamako au service d'Urologie de l'Hôpital National du Point G sur 22 cas de stérilité du couple) a montré que l'homme y est responsable dans 44,50% (55). L'homme stérile vit impunément cette situation dans nos contrées contrairement à la femme.

La découverte de l'infertilité est toujours un traumatisme psychologique pour l'homme et les conséquences peuvent être multiples : état dépressif, culpabilité, abandon, troubles sexuels, sexualité extraconjugale(28), ... bref une crise d'identité. Le désir d'enfant chez l'homme « traverse » celui de la paternité en tant qu'habituellement selon **BEETSHEN** désir de transmettre plus que de donner une vie, ce qui est différent pour une femme. Est-il encore père s'il n'a pas d'enfant ? C'est toute la question de son identité sexuée, qui se trouve posée là, au travers d'un enfant qui ne vient pas, qui ne s'inscrit pas dans la généalogie.

L'esprit de l'africain confond souvent virilité et impuissance, ainsi l'homme stérile bénéficie très souvent du soutien de sa famille. Polygame, divorcé ou remarié, sa préférence est du côté des enfants de sexe masculin héritiers potentiels dans la logique de la succession au MALI.

La privatisation des secteurs médical pharmaceutique et para médical a amélioré certes la prise en charge des stérilités au MALI. Cependant le paupérisme engendré par la dévaluation du franc CFA a aggravé davantage la douleur des couples stériles. Oui la douleur puisque la stérilité est le plus souvent synonyme de douleur en Afrique. C'est dur à vivre la stérilité et tous ces examens complémentaires. Notre étude est la première du genre au MALI.

## **1 OBJECTIFS :**

Notre étude a pour but:

### **1.1 Objectif général**

- Mise en évidence du rôle de la microbiologie dans l'exploration de la microdélétion du chromosome y.

### **1.2 Objectifs spécifiques**

- Déterminer la fréquence de l'azoospermie et de l'oligospermie sévère chez les hommes reçus dans le service cytogénétique et de biologie de la reproduction durant la période d'étude.
- Déterminer la fréquence de la microdélétion du chromosome y chez des hommes reçus à l'INRSP pour spermogramme
- Orienter le personnel sanitaire afin d'envisager une analyse biomoléculaire chez l'homme infécond.
- Rechercher une similarité de la microdélétion retrouvée au MALI avec celle d'ailleurs.

# GENERALITES

## **2 GENERALITES**

### **2.1 Définition :**

La stérilité est difficile à démontrer autrement qu'en référence à un couple et non à un individu. La complexité du problème rend difficile cette définition. Il est habituel de différencier l'infécondité de la stérilité bien que ces deux états conduisent à la même situation : l'absence de progéniture.

Pour un groupe d'expert de l'OMS, l'infécondité comprend aussi bien l'incapacité de concevoir que celle d'amener le produit de conception jusqu'à la naissance vivante.

**PALMER et MEDELENAT** parlent d'infécondité confirmée après un délai de deux ans.

Se reproduire ; fonder une famille sont des besoins naturels qui canalisent une grande part de l'énergie vitale. L'impossibilité d'y parvenir peut provoquer une véritable crise existentielle.

“Pour les épidémiologistes un couple fécond est un couple qui a conçu et un couple infécond un couple qui n'a pas (encore) conçu. Un couple fertile est un couple apte à concevoir et infertile (ou encore stérile) un couple qui ne peut concevoir.

Pour le démographe, un couple stérile est un couple qui se trouve dans l'incapacité de procréer (c'est-à-dire d'obtenir une naissance vivante), incapacité qui resterait définitive en l'absence d'intervention médicale efficace .Un couple est réputé stérile s'il n'est pas parvenu à concevoir après un certain nombre de mois (6 à 36) avec des rapports sexuels non protégés... ; dans ce cas les démographes parlent d'infécondité (absence involontaire d'enfant)

Le délai d'appréciation de la stérilité est plus court pour les anglo-saxons. **NOVAK** l'admet pour un (1) an. **WHITELAW** pour six (6) mois.

Sans rentrer dans les détails des faits qui sous-tendent l'une ou l'autre conception nous retiendrons que : « la stérilité du couple est l'incapacité pour le couple de

procréer après un délai de deux (2) ans de rapports réguliers normaux sans contraception »

- **L'infécondité** :

C'est l'incapacité de concevoir une grossesse.

- **L'infertilité** :

Elle est synonyme d'infécondité. C'est l'impossibilité de se reproduire.

- **L'hypofertilité** :

C'est la difficulté à concevoir, se traduisant par un allongement du délai de conception.

- **La stérilité** :

La stérilité est l'absence de survenue d'une grossesse après deux ans de rapports sexuels réguliers sans contraception.

## **2.2 Rappel anatomique sur le système reproducteur mâle**

### **2.2.1 Embryologie du système reproducteur male:**

La différenciation anatomique du testicule démarre dès la 7<sup>ème</sup> semaine de la vie intra-utérine et exige pour cela la présence d'un gonosome Y portant le gène déterminant le testicule. Le testicule dérive de trois tissus embryonnaires :

- + L'épithélium cœlomique qui donne les cellules de SERTOLI ;
- + Le mésenchyme intra-embryonnaire qui donne les cellules interstitielles de LEYDG, particulièrement abondantes entre le 4<sup>ème</sup> et le 6<sup>ème</sup> mois ;
- + Les cellules germinales primordiales (gonocytes primordiaux) apparaissent à un stade précoce du développement et sont situées primitivement dans la paroi de la vésicule vitelline au voisinage de l'allantoïde. Elles migrent de façon active le long du mésentère dorsal de l'intestin postérieur en direction de l'ébauche gonadique.

A la 6<sup>ème</sup> semaine, elles pénètrent dans les crêtes génitales où elles stimulent l'histogenèse testiculaire avant de donner les cellules souches de la lignée germinale mâle.

Le testicule fœtale secrète une substance non stéroïde (l'inducteur) qui stimule la différenciation et la croissance du canal de Wolf (canal mesonephrotique) et inhibe le développement du canal de **Müller** (canal paramesonephrotique). Du fait de cette propriété inhibitrice, l'inducteur a été appelé << suppressor >>. De plus le testicule secrète des androgènes qui stimulent la fermeture de l'urètre pénien, le raphé des bourrelets scrotaux ainsi que le développement de la prostate et vésicules séminales. Des anomalies embryologiques peuvent entraîner des malformations épидидymo-déférentielles, cause de stérilité excrétoire.

La différenciation des organes génitaux externes est déterminée par la présence des androgènes. Le sinus uro-génital définitif ou ébauches des organes externes se constitue autour de la membrane cloacale. A la fin de la 3<sup>ème</sup> semaine intra embryonnaire, le mésenchyme forme avec la membrane cloacale les bourrelets cloacaux qui s'unissent en avant du tubercule génital. Au 2<sup>ème</sup> mois, le cloisonnement du cloaque divise la membrane cloacale en membrane anale (en arrière) et en membrane uro-génitale (en avant).

Les bourrelets cloacaux deviennent les bourrelets génitaux. Les organes génitaux externes masculins indifférenciés comportent :

- + Un tubercule génital qui donnera le gland de la verge ;
- + Les replis génitaux donneront le corps de la verge ou pénis ;
- + Les bourrelets génitaux vont se souder et donneront les bourses.

Enfin sous l'action de dihydrotestostérone hormone (DHT) :

- le tubercule génital s'allonge pour former le pénis ;
- les replis génitaux se fusionnent sur la ligne médiane (raphé médian) en formant l'urètre membraneux et pénien ;
- les bourrelets se soudent également sur la ligne médiane et donnent le scrotum ;
- le gland qui se terminera par un prépuce.

### **2.2.2 Anatomie du système reproducteur mâle :**

L'appareil reproducteur mâle comprend :

- + les gonades masculins ou testicules
- + les gonophores masculins ou voies spermatiques
- + les glandes annexes
- + les organes génitaux externes.

#### **➤ Les testicules :**

Les testicules sont situés dans les bourses, aux nombres de deux et constituent les organes producteurs de spermatozoïdes et sécrétoires d'hormones sexuels mâles. Chaque testicule a la forme d'un petit œuf aplati transversalement et dont le grand axe est oblique de haut en bas et d'avant en arrière. Le testicule pèse en moyenne 20g, mesure 4cm de long, 2,5cm d'épaisseur et 3cm de hauteur. La consistance est très ferme, comparée a celle du globe oculaire. Ils sont placés au dessous de la verge dans les bourses. Le testicule gauche descend généralement plus bas que le testicule droit.

Une coupe verticale du testicule menée suivant le grand axe montre que l'organe est entouré d'une membrane fibreuse appelée << albuginée >>. Cette membrane est résistante, inextensible et donne au testicule sa coloration blanche nacrée.

Les testicules comportent deux faces (face interne et face externe), deux bords (l'un postéro-supérieur et l'autre postéro -inférieur). L'albuginée s'épaissit vers la partie postéro-supérieure pour former le corps d'Highmore qui envoie les cloisons qui à leur tour divisent le testicule en lobules. Chaque lobule contient des tubes séminifères pelotonnés et des cellules interstitielles. Les enveloppes du testicule sont aux nombres de cinq superposées de la périphérie vers la profondeur :

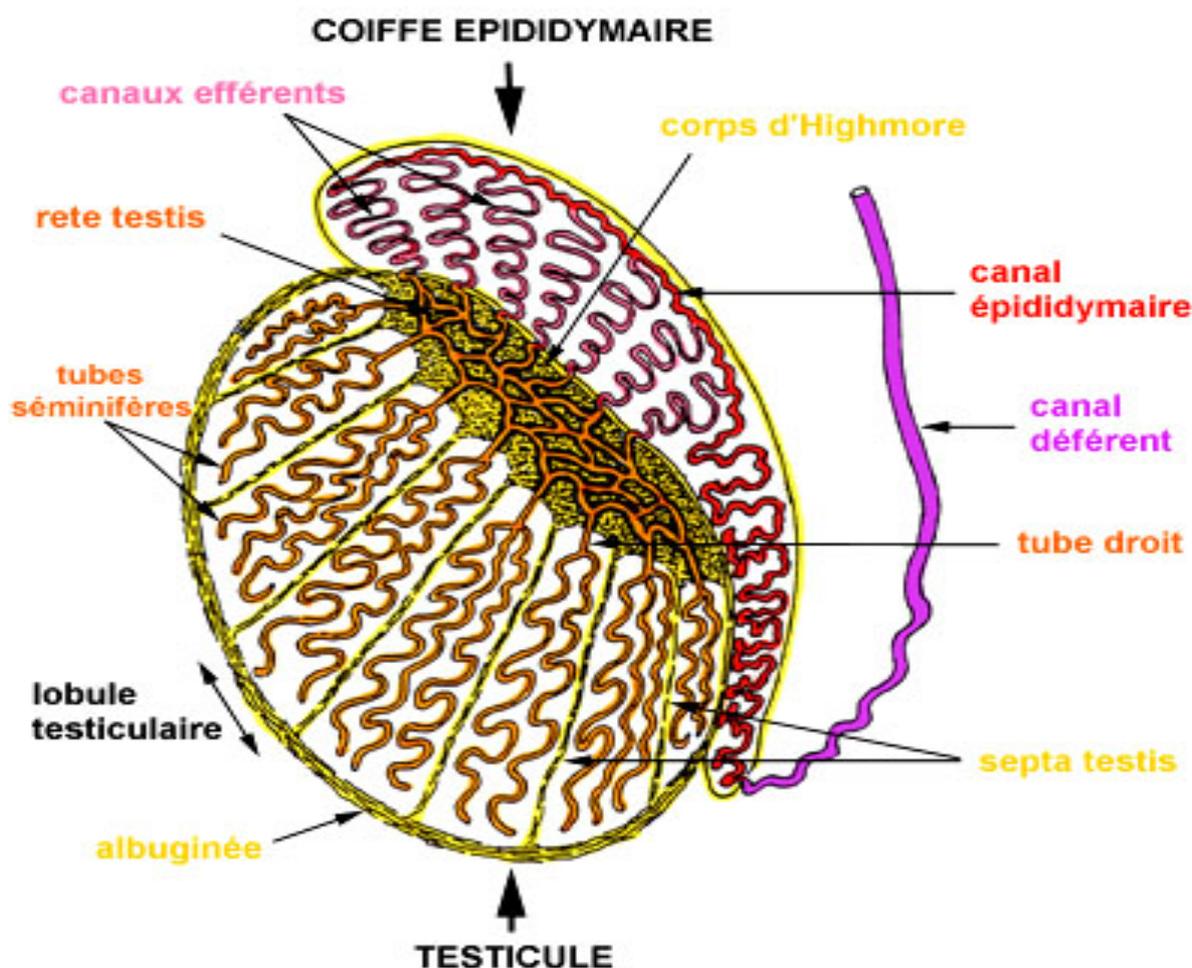
- la peau ou scrotum
- le dartos
- la tunique celluleuse sous cutanée
- la tunique fibreuse profonde

- la tunique vaginale testiculaire appelée la séreuse.

Le testicule est vascularisé par :

- l'artère spermatique qui est une branche de l'aorte
- les veines testiculaires antérieures qui drainent le testicule et la tête de l'épididyme ; les veines testiculaires postérieures drainent le corps et la queue de l'épididyme
- les lymphatiques suivent les vaisseaux spermatiques et se rendent dans les ganglions juxta-aortiques.

Les nerfs testiculaires suivent le plexus nerveux qui entoure l'artère spermatique.



**Figure 1** : Coupe sagittale du testicule (34)

[[http:// polycop santé. Univ-lyon1.fr](http://polycop.santé.Univ-lyon1.fr)]

### ➤ **Les voies spermatiques :**

On distingue deux catégories de voies spermatiques :

#### ✓ **Les voies spermatiques intra-testiculaires :**

Ce sont les tubes droits et le rete-testis.

- **Les tubes droits :**

Ce sont des conduits de 1cm de long, tapissés histologiquement d'un épithélium simple cubique ou aplati. Ce sont des canaux excréteurs de lobules. Les canalicules séminifères contenus dans chaque lobule du testicule se réunissent et forment un tube droit. Les tubes droits sont beaucoup plus nombreux que les lobules.

- **Le rete-testis :**

C'est un réseau de canalicules creusés dans le corps d'Highmore où se jettent les tubes droits. Il est recouvert d'un épithélium cubique simple.

Ces deux voies spermatiques apparaissent comme des voies excrétrices du sperme. Les spermatozoïdes observés à ces niveaux ne sont pas doués de mouvement propre. D'un point de vue médical, il peut exister de façon congénitale ou se produire de façon secondaire une oblitération de ces voies et il s'ensuit une azoospermie excrétrice qui peut être localisée seulement à un territoire du testicule.

#### ✓ **Les voies spermatiques extra-testiculaires :**

- **Les cônes efférents :**

Ils appartiennent à l'épididyme dont ils constituent le globus major, tapissés histologiquement d'un épithélium festonné reposant sur une membrane basale. Ils relient le rete-testis au canal épидидymaire.

- **L'épididyme :**

Est un organe allongé sur le bord postérieur du testicule dont il constitue le début de la voie excrétrice. Il comporte une tête antérieure renflée, un corps qui est médian et la queue postérieure qui se termine par le canal déférent. Long de 4 à 6 mm, il

commence au premier cône efférent et reçoit successivement tous les autres cônes de l'épididyme.

Le canal épидидymaire se pelotonne en une épaisse masse correspondant au corps de l'épididyme. Au delà, il reste flexueux et se termine par le canal déférent. Il est tapissé d'un épithélium régulier fait de cellules à stéréociles et de cellules basales qui reposent sur une membrane basale. Le canal épидидymaire n'est pas seulement une voie excrétrice du sperme ; c'est aussi une voie de sécrétion des cellules qui ont un triple rôle :

- Elles assurent le maintien de la vitalité des spermatozoïdes arrivés dans les voies excrétrices ;
- Elles confèrent la mobilité propre aux spermatozoïdes quand ils atteignent ce segment des voies excrétrices c'est à dire l'épididyme ;
- Elles rendent les spermatozoïdes inaptes à la fécondation par le phénomène dit << de capacitation >>.

La musculature propre de ce canal est le siège de concentration péristaltique contribuant à la progression des spermatozoïdes.

Les atteintes infectieuses ou inflammatoires chroniques de l'épididyme sont une cause importante d'infertilité.

• **Le canal déférent :**

Il fait suite à la queue de l'épididyme et se termine au point de jonction de la vésicule séminale et canal éjaculateur. C'est un élément du cordon spermatique du et mesure environ 40cm de long pour un diamètre de 2mm. Partant de l'épididyme, il traverse le canal inguinal et la fosse iliaque, il se recourbe vers le bas du fond vésical où il se continue par le canal éjaculateur. Il représente une dilatation allongée. L'ampoule du canal déférent ou ampoule différencielle est située au dessus du point d'abouchement des vésicules séminales dans le canal déférent. Ce canal n'est pas une simple voie excrétrice du sperme ; la présence de cellules de types glandulaires le rapproche du canal épидидymaire. Il est parcouru d'ondes

péristaltiques qui assurent la progression des sécrétions testiculo-épididymaire. Quand à l'ampoule du canal déférent, elle apparaît comme un réservoir à l'intérieur duquel s'accumule le sperme dans l'intervalle des éjaculations.

- **Le canal éjaculateur :**

Il est long de 2cm sur 1cm de diamètre, il s'étend du point d'abouchement de la vésicule séminale dans le canal déférent à l'urètre prostatique ; son calibre diminue progressivement de son origine à sa terminaison. C'est un simple conduit vecteur.

- **Les glandes annexes :**

Ils déversent leurs produits de sécrétion dans les voies excrétrices spermatiques. Ce sont les vésicules séminales, la prostate, et les glandes bulbo urétrales de Cowper.

- ✓ **Les vésicules séminales :**

Ce sont des organes à paroi bosselées, très irrégulières, de dimensions très variable suivant les individus (de 12 à 77mm de long sur 15 à 30mm de large). Elles sont constituées d'un ou plusieurs « tubes » fortement pelotonnés. Les vésicules séminales secrètent un liquide clair, alcalin et visqueux riche en lipides, protides, sels minéraux, acide citrique, fructose : c'est le plasma séminal qui contribue au développement de la mobilité propre des spermatozoïdes.

- ✓ **La prostate :**

Elle apparaît comme un organe musculo-glandulaire, impair et médian adhérent à la face inférieure de la vessie et entourant le carrefour uro-génital à l'abouchement des vésicules séminales dans les canaux déférents.

- ✓ **Les glandes de Cowper :**

Elles sont encore appelées glandes de **Mery-Cowper**. Elles sont constituées de deux petites masses glandulaires de la taille de petites noisettes situées à la jonction de l'urètre spongieux dans l'épaisseur de l'aponévrose pénienne moyenne. Elles possèdent un canal excréteur relativement long chez l'homme adulte, qui atteint 30 à

40mm de long et il s'ouvre sur la paroi postérieure de l'urètre pénien au niveau de la partie antérieure du cul de sac du bulbe.

➤ **Les organes génitaux externes :**

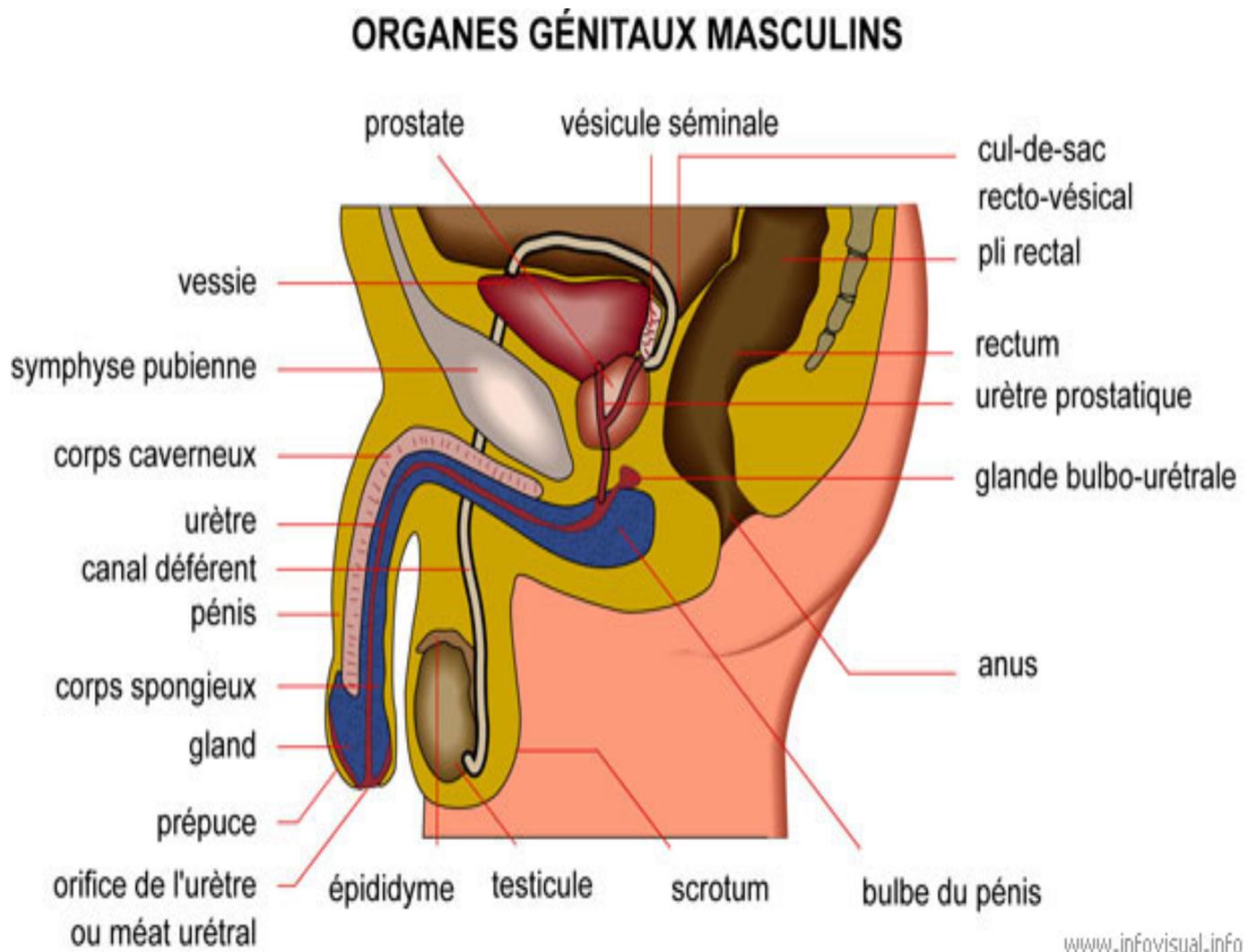
✓ **Le pénis :**

Est l'organe de la copulation et de la miction chez l'homme. Cette double fonction est assurée grâce au tissu érectile et à l'urètre. Il comprend trois parties : la racine, le corps et le gland. Il est constitué de deux corps caverneux et d'un corps spongieux.

La vascularisation artérielle est assurée par l'artère honteuse interne (qui est la branche de l'artère hypogastrique). Le drainage veineux est relativement complexe et se fait grâce à trois systèmes : le système veineux superficiel (correspond au territoire de l'artère dorsale de la verge), le réseau profond (intéresse seulement le drainage du sang des corps caverneux), le système vasculaire postérieur assuré par des veines caverneuses.

✓ **Le scrotum :**

Encore appelé la bourse, est l'enveloppe qui recouvre le testicule. Il a principalement deux rôles : le rôle de protection testiculaire et le rôle de maintenance d'une température ambiante au niveau des testicules.



**Figure 2 : Appareil génital masculin [25]**  
[[http:// polycop santé. Univ-lyon1.fr](http://polycop.santé.Univ-lyon1.fr)]

### 2.2.3 **Histologie du testicule adulte** :

Le testicule est formé de deux tissus très différents :

#### ➤ **Le testicule exocrine:**

Est représenté par les tubes séminifères qui sont le support de la production des spermatozoïdes. Ces tubes sont enveloppés par une membrane propre qui entoure l'épithélium séminal. Cet épithélium est hétérogène et comprend :

✓ **la lignée germinale** : correspondant à l'ensemble des éléments qui aboutissent aux spermatozoïdes par le processus de la spermatogenèse.

✓ **les cellules de SERTOLI** : sont situées entre les cellules de la lignée germinale et présentant en microscope optique :

- un noyau ovulaire différent des noyaux des cellules germinales ;
- un cytoplasme qui émet des prolongements entre les cellules de l'épithélium séminal et qui présente diverses inclusions dont les plus communes sont dites cristalloïdes de **Charcot- Bottchner**.

En microscopie électronique, la membrane cellulaire limite chaque cellule de SERTOLI. Les cellules de Sertoli permettent aux cellules germinales de migrer au fur et à mesure au cours de leur maturation, en direction de la lumière du tube séminifère.

#### ➤ **Le testicule endocrine :**

Il est représenté par les cellules interstitielles de **Leydig** dont l'ensemble constitue la <<glande interstitielle >> du testicule. Sur le plan histo-physiologique et biologique la glande interstitielle apparaît comme une glande endocrine. Ses élaborations hormonales multiples notamment sont sous la dépendance de la morphologie et le fonctionnement d'un certain nombre d'organe ou tissus.

Plusieurs de ces organes sensibles à l'action des hormones mâles (androgènes) apparaissent comme des << caractères sexuels secondaires >>. Les androgènes déterminent à un certain moment de la vie une transformation morphologique de

l'individu le faisant passer de l'impuberté à l'aspect du sujet adulte. La glande interstitielle élabore aussi des œstrogènes et d'autres facteurs dits << inhibine >>.

### ➤ La spermatogenèse :

La spermatogenèse est l'ensemble des phénomènes de division et de différenciation cellulaire, qui à partir des cellules germinales souches donnent naissance aux spermatozoïdes.

Elle a lieu dans le tube séminifère des testicules ou gonades mâles. Elle débute à la puberté et se poursuit jusqu'à l'âge avancé, mais peut diminuer à cet âge.

Le début de la spermatogenèse commence par une division hétéronyme, suite à laquelle les deux cellules filles (deuxième groupes des cellules de type A) restent liées les unes aux autres par un mince pont cytoplasmique. C'est à travers ce processus qu'une spermatogonie est engagée dans le processus de la spermatogenèse.

Les spermatogonies qui constituent les cellules germinales souches se différencient dès les premières semaines de la vie embryonnaire à partir des cellules germinales primordiales. Ces spermatogonies prolifèrent à l'intérieur des cordons sexuels pour donner des M-pro spermatogonie, présent à soixante trois jours de vie. Les M-pro spermatogonies sont remplacés par des pro-spermatogonies transitoires primaires puis secondaires qui donneront naissance à des spermatogonies adultes par division mitotique dès la fin du troisièmes mois de la vie intra-utérine.

Après une période de quiescence qui dure jusqu'à la puberté, les spermatogonies commencent à se multiplier et sont disposés à la périphérie des tubes séminifères entre les cellules de **SERTOLI**. Les étapes qui conduisent d'une spermatogonie à plusieurs spermatozoïdes durent soixante quatorze jours.

La spermatogenèse comprend trois phases distinctes :

✓ **La phase de multiplication ou multiplication spermatogoniale :**

C'est la première phase de la spermatogenèse. Au cours de cette phase les spermatogonies se multiplient par des mitoses somatiques normales. Elle dure vingt sept jours. Elle a une grande importance physiologique et répond à des objectifs multiples :

- d'une part, elle assure les phénomènes de différenciations progressives qui permettront de passer des spermatogonies souches aux spermatocytes de 1<sup>er</sup> ordre, cellule spécialisée ou va s'opérer la prophase méiotique ;
- d'autre part, elle accroît le potentiel d'efficacité des spermatogonies souches en augmentant le nombre de spermatocytes I formes a partir d'une cellule souche ;
- enfin elle permet le renouvellement des cellules souches elle-même.

Les spermatogonies sont les premières cellules de la ligne germinale. Elles sont situées à la périphérie de l'épithélium séminifère. Sur le plan morphologique, on reconnaît deux types de spermatogonies qui sont :

- les spermatogonies A ou <poussiéreuses> à noyau homogène et finement granuleux, sont deux sortes : les spermatogonies Ap (pale) à noyau clair et les spermatogonies Ad (dark) à noyau plus dense.
- les spermatogonies B ou <croustelleuses> à noyau pourvu de chromocentres.

✓ **La méiose ou phase de maturation :**

C'est la phase où s'effectue la réduction du nombre de chromosome de moitié. Elle commence après la division des spermatogonies B (c'est à dire les spermatogonies de deuxième division) qui donnera les spermatocytes de 1<sup>er</sup> ordre. Elle va permettre la transformation des spermatocytes I en spermatides (cellules haploïdes). Elle débute après la synthèse de l'ADN. La méiose se divise en deux étapes :

- **La mitose réductionnelle ou méiose I :**

Elle correspond à la réduction du matériel génétique de moitié et donne à partir d'un spermatocyte I (46 chromosomes et 2 chromatides) deux spermatocytes II (23 chromosomes et 2 chromatides). Les spermatocytes I nouvellement formés entament immédiatement la phase S (qui est la phase preleptotène de la méiose) où ils doublent leur contenu en ADN, quittent la zone basale et atteignent le milieu spécial de la zone adluminaire en rompant transitoirement des complexes jonctionnels (High Junction) des cellules de Sertoli. Après cette phase, des spermatocytes I entament encore la prophase méiotique et sont nettement visible au microscope optique. Cette prophase I peut être répartie en cinq stades :

- leptotène
- zygotène
- pachytène
- diplotène
- diacinèse

La métaphase I, anaphase I, télophase I suivent directement la prophase qui est une étape très longue.

- **La mitose équationnelle ou méiose II :**

C'est la phase où les spermatocytes II donnent les spermatides (23 chromosomes et un chromatide). Dans cette phase il n'y a ni duplication de l'ADN, ni recombinaison du matériel héréditaire. C'est pourquoi elle ne dure que cinq heures. Ainsi il est donc rare de trouver les spermatocytes II sur les coupes histologiques. Les chromatides des spermatides ne possèdent que la moitié du contenu en ADN.

Les anomalies de la répartition des chromosomes telles que leurs non disjonctions peuvent survenir au cours de la méiose.

La méiose présente de nombreuses anomalies ; c'est ainsi que 25% des cellules germinales dégénèrent entre le stade de spermatocyte I et stade de spermatide. Cette dégénérescence augmente avec l'âge. **(33)**

La méiose est chez l'homme le siège d'une importante activité de synthèse de l'ARN qui est essentielle à l'élaboration et à la transformation des constituants cellulaires indispensable à la formation des spermatozoïdes.

✓ **La spermiogenèse ou phase de différenciation :**

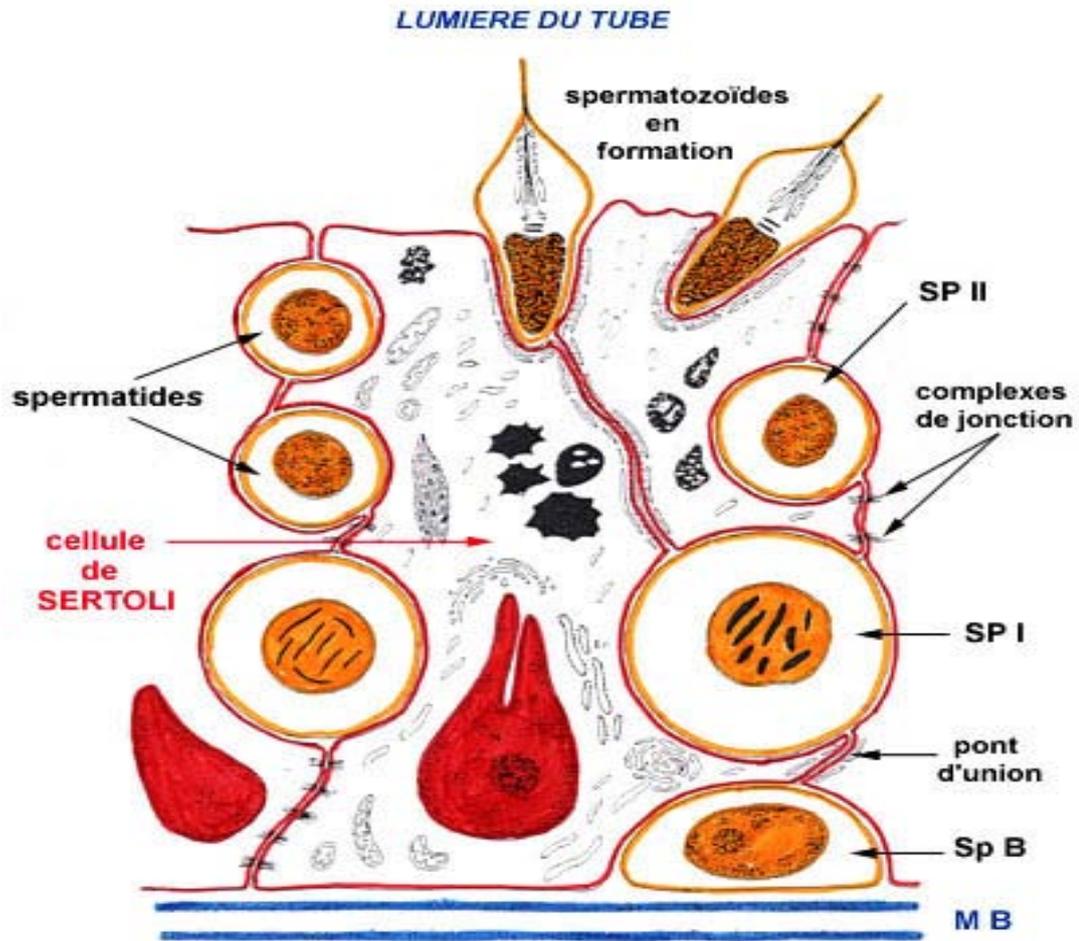
C'est la transformation sans mitose d'une spermatide en spermatozoïde. C'est une longue étape de la maturation marquée par une réorganisation de l'ADN (vecteur chimique des caractères héréditaires) d'une part et d'autre part d'une réorganisation du complexe cytoplasmique.

Au cours de ce processus, les spermatides subissent plusieurs changements comme :

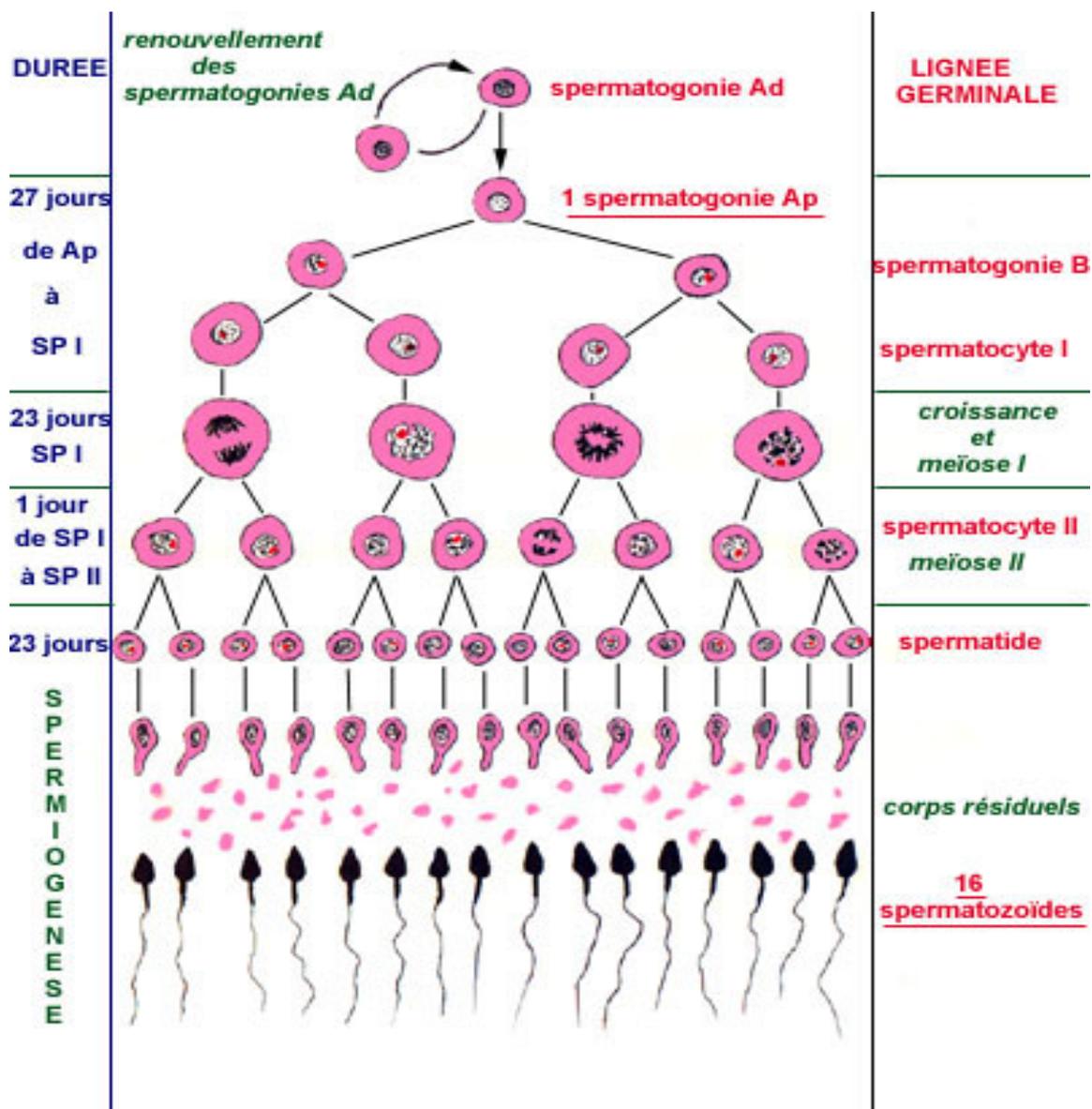
- la formation du flagelle qui permet au spermatozoïde de se déplacer ;
- développement de l'acrosome qui contient des enzymes protéolytiques (nécessaire aux spermatozoïdes lors de l'interaction avec l'ovocyte) ;
- la condensation des chromosomes et des protéines du noyau pour former la tête du spermatozoïde.

Après ces changements morphologiques des spermatides, ils quittent l'épithélium séminifère pour achever leur maturation et acquérir leur pouvoir fécondant dans l'épididyme. La spermiogenèse dure 23 jours.

L'ensemble des phases de multiplications, de maturation et de différenciation s'appelle le cycle spermatogénétique, qui dure 74 jours. C'est pourquoi il est recommandé de faire un espacement de trois mois entre deux spermogrammes chez le même sujet.



**Figure 3 : la paroi de la lumière du tube séminifère**  
[[http:// polycop santé. Univ-lyon1.fr](http://polycop.santé.Univ-lyon1.fr)]



**Figure 4 : la spermatogenèse**  
 [http:// polycop santé. Univ-lyon1.fr]

## ✓ Description des cellules de la spermatogenèse :

- **Les cellules germinales :**

Ce sont des cellules disposées à la périphérie des tubes séminifères migrant au fur et à mesure de leur maturation du pôle basal vers le pôle apical de l'épithélium séminifère.

- **Les spermatogonies ou cellules souches :**

Sont des cellules diploïdes qui se multiplient par mitose. Elles ont une forme polygonale volumineuse (10 à 15 microns), un noyau petit riche en chromatine, un cytoplasme très acidophile.

- **Les spermatocytes de 1<sup>er</sup> ordre :**

Résultent de la division des spermatogonies B. Ce sont des cellules plus volumineuses (18 à 20 microns) et arrondie avec un cytoplasme finement granuleux, et un noyau très volumineux.

- **Les spermatocytes de 2<sup>eme</sup> ordre :**

Ce sont des cellules petites (8 à 11 microns). Ils sont regroupés par paires. Leur noyau est plus petit, vésiculeux et arrondi. Ils apparaissent peu nombreux et se divisent rapidement.

- **Les spermatides :**

Cellules rondes, plus petites (6 à 7 microns) avec un noyau volumineux qui occupe la plus grande partie de la cellule.

- **Le spermatozoïde :**

C'est une cellule issue de la transformation des spermatides dont la complexité n'a pas été bien relevée que par le microscope électronique.

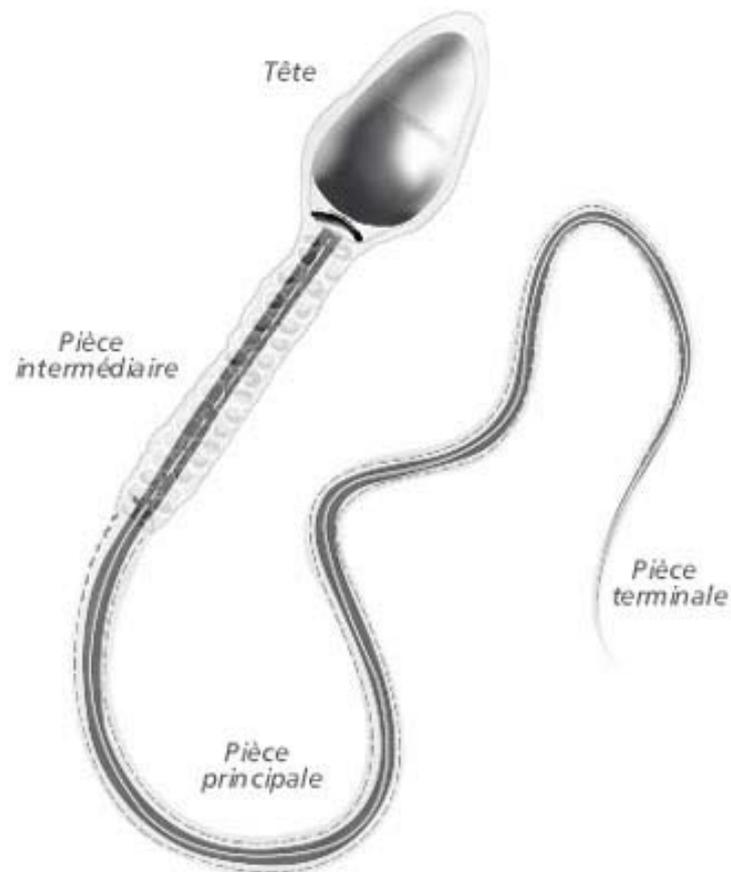
Le microscope optique distingue trois parties qui sont :

- + **La tête :** elle a un contour très régulier ovalaire mesurant 4 à 5 microns de long sur 2 microns d'épaisseur avec un grand axe mesurant 5

micromètre ( $\mu\text{m}$ ) et un petit axe de 3  $\mu\text{m}$  (avec un rapport de grand axe sur petit axe égale 1,66).

- + **La pièce intermédiaire** : peu visible en microscopie conventionnelle, mesure 1,5 à 2 fois la longueur de la tête. Elle a un diamètre de 0,6 à 0,8  $\mu\text{m}$ . Son axe est dans le prolongement du grand axe de la tête.
- + **Flagelle** : mesure environ 45  $\mu\text{m}$  avec un diamètre de 0,4 à 0,5  $\mu\text{m}$ . Il a un contour régulier et un aspect homogène. Le mouvement oscillatoire du flagelle est nécessaire pour le parcours du spermatozoïde vers l'ovocyte. Toute anomalie de ce mouvement entraîne un mouvement désordonné du spermatozoïde. Il faut noter que l'ensemble du flagelle jusqu'à la pièce terminale ne se situe pas toujours dans le même champ.





**Figure 6** : un spermatozoïde en microscopie optique. (Vue de face). [25]  
[[http:// polycop santé. Univ-lyon1.fr](http://polycop.santé.Univ-lyon1.fr)]

Le microscope électronique permet de détailler la complexité du spermatozoïde. Il distingue :

- **La tête :**

Une coupe sagittale de la tête montre un aspect en “flamme de bougie”. Elle est constituée d’un noyau, un acrosome et le tout est enveloppé par une mince couche hyaloplasmique et une membrane plasmique.

- **le noyau** : il occupe la majeure partie de la tête, avec dans sa partie postérieure une légère dépression appelée “fossette d’implantation”. Il est caractérisé par un aspect très dense et homogène. Il n’y a pas de nucléoles. Le noyau est entouré par enveloppe nucléaire de structure classique.

- **l’acrosome** : est une vésicule aplatie, recouvrant les 2/3 supérieurs du noyau. On y distingue deux segments : un segment principal coiffant le 1/3 supérieur et un segment équatorial entourant le 1/3 moyen. L’extrémité postérieure du segment équatorial correspond à une légère dépression appelée “l’anneau nucléaire” visible à la surface du spermatozoïde. La texture de l’acrosome est finement granuleuse et uniforme. Il contient de nombreuses enzymes hydrolytiques qui sont : glycuronidase, hyaluronidase, phosphatase acide, N-acétyl glycosaminidase. Ces enzymes interviendront dans la traversée des enveloppes de l’ovocyte.

- **le hyaloplasme** : est représenté par un espace sous acrosomial et un espace péri-acrosomial. Il ne contient aucun organite. La membrane plasmique est classique et sans particularité morphologique.

- **Le col :**

Il est la zone de jonction entre la tête et le flagelle. Dans le col on distingue :

- **l’appareil centriolaire** : il est représenté par le seul centriole qui est disposé parallèlement à l’enveloppe nucléaire dans la fossette d’implantation. Sa structure est classique avec neuf triplets de microtubules.

- **la pièce connective** : comporte une formation en entonnoir dont la base est du côté du noyau et dont la paroi est composée par l'association de neuf colonnes segmentées, formées chacune par l'empilement d'une douzaine de disques sombres. Elle se prolonge par des fibres denses du flagelle.

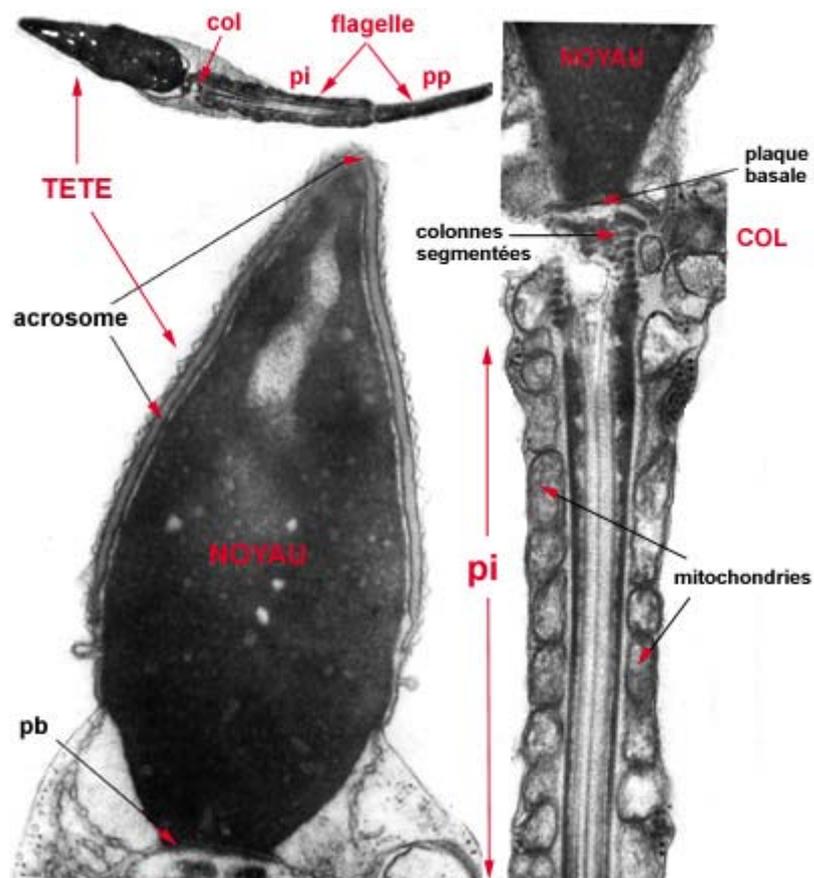
- **Le flagelle :**

A partir du col, on distingue sur sa longueur trois parties de diamètre décroissant : la pièce intermédiaire (5µm), la pièce principale (45µm) et la pièce terminale (5µm). Elles ont toutes en commun une structure axiale, l'axonème. Elles diffèrent par les structures concentriques.

- **l'axonème** : à une structure classique rencontrée dans les cils vibratiles avec neuf doublets de microtubules périphériques et un doublet central.

- **les structures concentriques** : elles diffèrent selon le segment considéré.

- + En arrière de chaque doublet une série de *neuf fibres denses* prolonge les colonnes segmentées du col. Elles sont présentes dans la pièce intermédiaire et dans la pièce principale. Elles sont absentes de la pièce terminale.
- + *Le manchon mitochondrial* formé d'une spirale d'une vingtaine de mitochondries mises bout à bout, entoure l'ensemble de l'axonème, de fibres denses dans la pièce intermédiaire.
- + Une *gaine fibreuse* formée par l'association d'anneaux semi-circulaires, entoure l'ensemble axonème-fibres denses dans la pièce principale seulement ; elle possède deux épaissements adhérents aux fibres denses 3 et 8, constituant ainsi des colonnes longitudinales, ce qui accentue la symétrie du flagelle.



**Figure 7 : un spermatozoïde en microscopie électronique [16]  
[http:// polycop santé. Univ-lyon1.fr]**

## **2.2.4 La physiologie du système reproducteur mâle :**

### **➤ La régulation hormonale de la spermatogenèse :**

L'installation de la spermatogenèse à la puberté et son maintien dépend d'un contrôle hormonal hypothalamus-hypophysaire.

#### **✓ Action des gonadotrophines :**

La FSH est l'hormone hypophysaire essentielle. Elle est responsable du déclenchement et du maintien de la spermatogenèse. Elle agit sur les tubes séminifères par l'intermédiaire des cellules de **SERTOLI** pour assurer le bon déroulement de la spermatogenèse. Elle agit aussi directement sur les multiplications goniales.

La LH joue aussi un rôle indirect. Elle agit sur les cellules de **LEYDIG** qui produisent la testostérone. Celle-ci, en synergie avec la FSH, entraîne la production par les cellules de **SERTOLI** d'une protéine de liaison appelées ABP (Androgen Binding Protein). La liaison de l'ABP aux androgènes permet le maintien d'une concentration élevée d'androgènes dans le tube séminifère, nécessaire à la poursuite de la méiose et de la spermiogenèse.

#### **✓ Contrôle de la sécrétion des gonadotrophines :**

Ce contrôle résulte de mécanismes complexes encore mal élucidés. Le contrôle principal est assuré par une neuro-hormone, la LH-RH ou Gn-RH (Realising-Hormone) d'origine hypothalamique de la sécrétion pulsatile et de demi-vie courte (4 minutes). La sécrétion de LH est contrôlée par le taux de testostérone et de dihydrotestostérone. La testostérone agit au niveau central en diminuant la fréquence des pulsations sécrétoires de LH-RH (feed back négatif). Elle exerce également un effet inhibiteur au niveau hypophysaire. En ce qui concerne la FSH, c'est une hormone d'origine tubulaire appelée <inhibine> qui est responsable de feed back négatif entre FSH et activité spermatogénétique.

### ➤ **Maturation des spermatozoïdes :**

A leur sortie des testicules, les spermatozoïdes ne sont pas féconds. Ils doivent subir un nombre de transformations qui les rendront aptes à pénétrer l'ovocyte et à contribuer au début du développement embryonnaire. Ce processus de maturation intervient à tous les niveaux de la voie séminale mais plus particulièrement dans le canal épидидymaire où ils acquièrent leur mobilité et leur aptitude à se fixer sur la zone pellucide.

### ➤ **Mouvement des spermatozoïdes:**

L'excrétion des spermatozoïdes n'est pas liée à leur mobilité. Dans les voies intra-testiculaire et les cônes efférents, la progression des spermatozoïdes encore immobiles à ce niveau est assurée par les cils de l'épithélium et le courant de pression intra-liminale. Le cheminement des spermatozoïdes se poursuit au niveau de l'épididyme grâce à un péristaltisme continu sur commande cholinergique. Le canal déférent à son tour, intervient mécaniquement par une activité contractile sous la commande adrénérgique qui s'exerce à la fois de façon permanente pendant le repos sexuel, entraînant le remplissage des vésicules séminales et quelques passages des spermatozoïdes vers l'urètre et de façon plus puissante au moment de l'éjaculation.

### ➤ **Influence de certains facteurs sur la spermatogenèse**

#### ✓ **Facteurs physiologiques :**

##### • **Nutrition :**

Le déroulement de la spermatogenèse humaine nécessite un rapport quantitatif et qualitatif convenable de protéines notamment certains acides aminés dont : l'arginine, les acides gras et les vitamines (A ; C ; E).

##### • **Vascularisation testiculaire :**

Le testicule est vascularisé par l'artère testiculaire ; il est sensible à l'ischémie.

- **L'âge :**

Après 35 - 40ans, la qualité des spermatozoïdes baisse.

La baisse du nombre des spermatozoïdes est due au phénomène de l'apoptose qui s'accroît avec l'âge avancé. La production des spermatozoïdes augmente jusqu'à l'âge de 20 ans et diminue ensuite progressivement. Elle est estimée à 250 millions/jour à 20 ans ; à 120 millions à 50 ans et à 50 millions à 70ans. Ces chiffres varient entre les individus. A 80 ans, on observe en même temps une baisse de la mobilité et du nombre des formes typiques.

✓ **Facteurs physiques :**

- **Température :**

Le testicule est très sensible aux variations de température. L'exposition de l'individu à des fortes chaleurs entraîne une oligospermie obtenue par des hyperthermies thérapeutiques. La température scrotale varie avec la température ambiante. Une augmentation de 1°C de la température ambiante entraîne une élévation de 0,1°C de la température scrotale. L'augmentation de la température scrotale varie de 1,7 à 2,2°C lorsque la personne conduit une voiture pendant plus de deux heures.

- **Radiations :**

On connaît très bien le rôle néfaste qu'entraîne l'irradiation testiculaire par certaines doses de rayons X ou de rayonnements gamma. Les lésions possibles peuvent aller depuis la destruction des spermatogonies jusqu'à l'apparition d'aberrations chromosomiques.

✓ **Facteurs exogènes :**

Il s'agit de stress et des conflits socioprofessionnels. Le stress peut altérer tous les paramètres du sperme.

### ✓ **Facteurs pharmacologiques :**

- *Certains antibactériens* (nitrofurantoïne, gentamicine) entraînent en général des dépressions spermatiques transitoires de types oligospermies et azoospermies.
- *Les gonadotrophines* mal utilisés inhibent la spermatogenèse en entraînant une oligospermies sévères ou une azoospermie.
- *Les tranquillisants, les anti-androgènes, les œstrogènes, les antihypertenseurs* interfèrent la fertilité soit en entraînant une castration physiologique ou soit en provoquant des troubles sexuels.
- *les antiulcéreux tels la Cimétidine* pourrait entraîner l'hyper-prolactinémie qui a des interférences sur la spermatogenèse.
- *Alcool, tabac, drogue* peuvent entraîner des troubles sexuels et une altération de la fertilité. Le tabac peut entraîner une tératospermie plus précisément une microcéphalie des spermatozoïdes.

### ➤ **Le sperme :**

#### ✓ **Définition :**

Le sperme est un liquide opaque, blanchâtre produit par l'éjaculation des différentes sécrétions du testicule, du tractus génital et des glandes annexes (Cowper, prostate, vésicule séminale). Il est composé de spermatozoïdes et du plasma séminal.

#### ✓ **Les différentes fractions du sperme :**

Lors de l'éjaculation, le sperme est projeté par cascade et il a été ainsi démontré qu'il existe un fractionnement de l'éjaculat. Celui-ci comprendrait :

- **Une fraction pré - spermatique :** (5 à 20% du volume total) le liquide est très fluide et comprend les sécrétions mélangées de glandes de Cowper et des glandes urétrales. Elle peut contenir jusqu'à 5% des spermatozoïdes.
- **Une fraction spermatique :** (30% à 50% du volume total) c'est la fraction principale de l'éjaculat contenant la grande majorité des spermatozoïdes (46 à

80 %). Les sécrétions proviennent de l'ampoule du canal déférent, de la prostate, des testicules et en partie des vésicules séminales.

- **Une fraction post-spermatique :** (13 à 32 % du volume total) elle renfermerait les sécrétions des vésicules séminales. Elle peut aussi contenir les spermatozoïdes dont un fort pourcentage serait mort ou altérée.

Toute fois, il est nécessaire de recueillir l'éjaculat total pour un bon examen du sperme.

#### ✓ **Le plasma séminal :**

Est obtenu après centrifugation du sperme. Il contient de nombreux constituants organiques, inorganique et de multiples enzymes. Ces différents éléments proviennent des sécrétions des cellules glandulaires du tractus génital mâle (à savoir la prostate, vésicules séminales, glandes de Cowper). Le plasma séminal a un rôle de dilution et de vecteur des spermatozoïdes, un effet stimulateur ou activateur de leur mobilité propre.

Il a aussi un important rôle nutritif : en l'absence d'oxygène, les spermatozoïdes utilisent le métabolisme glucidique comme principale source d'énergie. Le Zinc, l'acide citrique, phosphatases acides sont sécrétés par la prostate. Le fructose est sécrété par la vésicule séminale. La l-carnitine et l'alpha 1-4 glucosidase sont sécrétés par l'épididyme.

#### ✓ **Méthodes de recueil du sperme :**

On peut diviser l'étape pré analytique en trois parties qui sont :

- **La condition physique du patient :**

**L'interrogatoire préalable** permet de retrouver l'existence des facteurs externes et comportementaux qui peuvent être responsable de modifications transitoires de paramètres du sperme. Ces facteurs pourraient être :

- l'exposition aigue à la chaleur (fièvre, insolation ou sauna) peut entrainer les modifications de la mobilité.

- le stress peut modifier tous les paramètres du sperme.
- la consommation des substances toxiques peuvent avoir des effets sur le sperme.

**Le délai d'abstinence sexuelle** joue un rôle important sur les paramètres du sperme. Ce délai est de 3 à 5 jours selon l'OMS. Un allongement du délai d'abstinence a des conséquences sur le volume, la concentration, le nombre total des spermatozoïdes et sur la mobilité. Par contre le délai n'intervient pas pour la tératospermie.

- **La condition du prélèvement :**

Les échecs du prélèvement sont rares si certaines précautions sont respectées. Ces précautions sont :

**L'accueil du patient** est déterminant. Un bon accueil permet de réduire certains facteurs de variations, réduire l'anxiété et de répondre des éventuelles questions.

**Les locaux** n'ont pas besoin d'être spacieux mais il faut de quoi s'allonger et un lavabo pour le lavage des mains. Ces locaux sont contaminant et doivent être désinfectés entre deux patients.

**Les mesures d'hygiène** qui sont :

- faire uriner au préalable ;
- laver les mains avec un savon chirurgical ;
- laver la verge en rabattant le prépuce pour bien nettoyer le sillon balano-prépuce.

**Le mode du prélèvement** est en général la masturbation. A défaut de la masturbation, le coït interrompu est indiqué mais le sperme peut être pollué par des sécrétions vaginales.

**Le réceptacle** doit être stérile et adapté aux conditions du prélèvement.

**Le transport** du prélèvement au laboratoire doit se faire rapidement.

**La perte d'une partie d'éjaculat** est possible au moment du prélèvement donc il faudra interroger le patient sur le déroulement du prélèvement.

- **Les conditions d'évaluation des paramètres physico-chimiques du sperme :**

- *L'homogénéisation de l'éjaculat* est indispensable avant de débiter toute étude. Le sperme est hétérogène car les éjaculats sont expulsés les uns après les autres.
- *La liquéfaction* sera dépendante de la température. L'échantillon doit être mis à l'étuve à une température de 37°C.

- ✓ **Autres méthodes de recueil du sperme :**

Le sperme peut être recueilli par prélèvement au sein des organes qui le produisent. Cette méthode se fait chez les patients atteints d'une azoospermie et nécessite l'intervention du médecin. La méthode comporte :

- le prélèvement au niveau des canaux déférents ;
- le prélèvement au niveau de l'épididyme se fait soit par ponction transcutanée ; soit par microchirurgie connue sous le nom de MESA (Microchirurgical Epidymal Sperme Aspiration)
- soit par prélèvement chirurgical au niveau des testicules ou en effectuant une ou plusieurs micro incisions du testicule ou TESA (Testicular Sperm Aspiration),

## 2.2.5 Les anomalies du sperme :

- **Anomalies du nombre des spermatozoïdes**

- ✓ **Azoospermie :**

C'est l'absence de spermatozoïdes à l'éjaculation. Elle peut être sécrétoire ou excrétoire.

- **Azoospermie sécrétoire :**

Si l'anomalie est due à une absence totale de la spermatogenèse. L'absence de spermatogenèse peut être due soit à une affection testiculaire congénitale ou acquise ; soit à une insuffisance hypothalamo-hypophysaire acquise ou congénitale.

- **Azoospermie excrétoire :**

Si la spermatogenèse conservée mais les spermatozoïdes ne sont pas excrétés dans le sperme en raison de la présence d'un obstacle au niveau des voies excrétoires (épididyme, canaux déférents, canaux éjaculateurs).

- ✓ **Oligospermie :**

Quand la numération de spermatozoïdes est inférieure à 20 millions par millilitre (ml) ou 40 millions par éjaculat. Si la numération est inférieure à 5 millions par millilitre, on parle d'oligospermie sévère.

- ✓ **Polyzoospermie :**

Quand le nombre de spermatozoïdes est supérieur à 200 millions par millilitre, on parle de polyzoospermie.

- ✓ **Cryptozoospermie :**

C'est l'absence de spermatozoïdes observés à l'examen microscopique direct d'une goutte de sperme mais à l'opposée de l'azoospermie, une recherche approfondie permet d'en trouver quelques uns (moins de cent milles spermatozoïdes dans l'éjaculat).

- ✓ **Nécrozoospermie :**

Si le nombre de spermatozoïdes morts est supérieur 40% après une heure du prélèvement, on dit que c'est une nécrozoospermie.

- **Anomalie du volume du sperme :**

- ✓ **Aspermie :**

C'est l'absence d'éjaculation après un rapport sexuel ou une masturbation où le volume du sperme est inférieur à 0,5ml. Elle peut se traduire soit par une éjaculation rétrograde, soit par une anéjaculation.

✓ **Hypospermie :**

Le volume total du sperme est inférieur à 2ml. Elle peut évoquer un problème de recueil du sperme ou un déficit de sécrétion au niveau de glandes annexes.

✓ **Hyperspermie :**

Le volume total de l'éjaculat est supérieure à 6 ml. Elle évoque la présence des lésions infectieuses des glandes annexes ou a une abstinence sexuelle trop longue.

➤ **Anomalie du pH :**

Il doit être mesuré dans l'heure qui suit l'éjaculation. Il est mesuré à l'aide d'un papier indicateur sur lequel on dépose une goutte de sperme.

✓ **PH acide :**

Inférieur à 7,2 ; il est dû à un défaut de fonctionnement des vésicules séminales.

✓ **PH basique :**

Supérieur à 8 ; évoque le diagnostic d'une insuffisance prostatique ou d'une infection.

➤ **Anomalie de la mobilité :**

Elle est représentée par l'asthénospermie qui se caractérise par une chute de la mobilité des spermatozoïdes de 50% à la première heure selon l'OMS (48). L'asthénospermie pourrait être l'expression des anomalies du flagelle ou la conséquence d'une baisse de la vitalité des spermatozoïdes. Ces anomalies flagellaires pourraient être bien détectées en microscopie électronique.

➤ **Anomalie de la morphologie :**

La tératozoospermie est l'anomalie morphologique. On parle de la tératozoospermie : quand le nombre des spermatozoïdes typiques est inférieure à 14% selon KRUGER (41), à 30% selon DAVID (23) et à 50% selon l'OMS (48). Dans la littérature sur les études de la morphologie des spermatozoïdes on ne parle pas de tératozoospermie au singulier car il existe :

- **La tératospermie monomorphe** : une ou plusieurs anomalies est/sont présente(s) sur la totalité des spermatozoïdes observés (globozoospermies, syndrome des spermatozoïdes macrocéphales, syndrome des spermatozoïdes décapités ;
- **La tératospermie polymorphe** : les anomalies sont réparties sur les différentes régions des spermatozoïdes à savoir la tête, le collet, la pièce intermédiaire, le flagelle.

➤ **Infection du sperme :**

C'est la leucospermie. On parle de leucospermie quand le nombre de leucocytes est supérieur à un million par millilitre.

➤ **L'auto-immunisation anti-spermatozoïdes :**

Les spermatozoïdes peuvent provoquer dans certaines circonstances la production d'anticorps. Cette auto-immunisation peut être déclenchée par des processus traumatiques ou infectieux des organes génitaux ayant entraîné une réabsorption de cet antigène habituellement isolé de la circulation générale.

Les auto-anticorps dirigés contre les antigènes de surface des spermatozoïdes empêchent leur mobilité et réduisent leur capacité de pénétrer dans le mucus cervical. Ces auto-anticorps peuvent être recherchés directement sur les spermatozoïdes éjaculés et indirectement dans le plasma séminal ou dans le sérum du sujet.

➤ **Les anomalies chromosomiques :**

Les spermatozoïdes possèdent 23 chromosomes (23X), (23Y) mais il arrive que les spermatozoïdes aient un nombre anormal de chromosomes.

Les anomalies les plus souvent rencontrées sont :

✓ **Le syndrome de KLINEFELTER** : il réalise un caryotype de type (47XXY) et a été décrit en 1942 par **HARRY KLINEFELTER** d'où son appellation. Il reste la cause fréquente d'hypogonadisme chez l'homme. Les

hommes victimes du syndrome de **KLINEFELTER** ont tendance à avoir une taille supérieure à la moyenne avec des bras et jambes allongés de manière disproportionnée. L'examen clinique des patients post pubères révèle des testicules de petite taille et la plus part de ces hommes sont stériles à la suite d'une atrophie des tubes séminifères avec des concentrations de testostérones faibles. Une gynécomastie est observée chez un tiers des hommes atteints.

✓ **La microdeletion du chromosome Y** : les microdélétions du chromosome Y représentent une des causes génétiques les plus fréquentes de l'infertilité masculine. Cette cause concerne plus précisément les azoospermies ou oligozoospermies sévères d'origine sécrétoire. Ces microdélétions portent sur une partie du bras long du chromosome Y (Yq), appelée locus AZF (Azoospermia Factor).

Les travaux de **Vogt et al.** portant sur 370 hommes stériles, ont permis de dénombrer 3 régions différentes au sein du locus AZF, on distingue les sous régions AZFa, AZFb et AZFc sur lesquelles portent les microdélétions par ordre de fréquence croissant. Les délétions peuvent être situées sur une ou sur plusieurs régions.

L'étiologie de l'infertilité peut être identifiée dans 50-60 % des cas à la suite d'une série d'examens (examen clinique, spermogramme, examens chimiques et hormonaux). Quand l'origine du défaut de la spermatogenèse ne peut pas être reconnue, on parle d'infertilité " idiopathique ". Dans chaque région des gènes candidats ont été identifiés. C'est principalement sur le bras long du chromosome Y (Yq) que se trouvent les gènes nécessaires à la spermatogenèse, candidats pour être impliqués dans l'infertilité masculine d'origine génétique. En effet, dans les années 70, des réarrangements importants du chromosome Y ont été observés dans le caryotype d'hommes atteints d'azoospermie non obstructive.

Les délétions moléculaires de la région Yq11 (figure 1) sont constamment associées à un défaut de la spermatogenèse. Même si des cas de délétions de Yq ont été décrits

chez des patients fertiles, les délétions n'ont jamais été retrouvées chez des patients normo spermiques. Il faut considérer que " fertilité d'un couple " n'est pas un synonyme de normo spermie et que l'on peut concevoir un enfant même si le nombre des spermatozoïdes est faible. Il a pu être montré que les délétions dans les sous régions AZFa, b ou c s'accompagnent de profils histologiques différents :

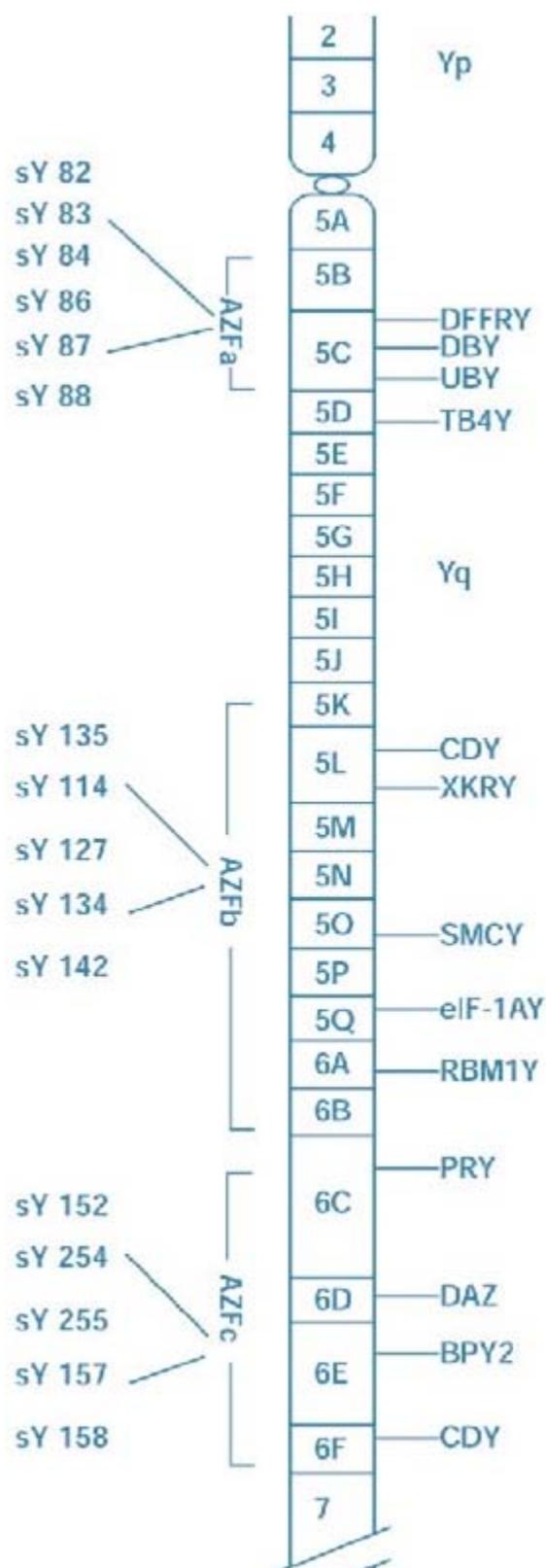
- a) la délétion de AZFa : absence totale des cellules de la lignée germinale (Sertoli cell only syndrome, de type I).
- b) la délétion de AZFb : arrêt de maturation de la spermatogenèse au niveau spermatocytaire (Spermatogenic Arrest).
- c) la délétion de AZFc : plusieurs tableaux sont possibles, allant de l'azoospermie avec présence de quelques cellules germinales à la biopsie testiculaire (Sertoli cell only syndrome, de type II) à une oligozoospermie.

Les chances de retrouver des spermatozoïdes à la biopsie testiculaire dans ce cas est d'environ 50%. Les délétions complètes des régions AZFa, AZFb, AZFb+c sont toujours associées à une azoospermie. En cas de délétions partielles, il est possible de retrouver une oligozoospermie sévère. Plusieurs autres facteurs étiologiques peuvent déterminer un défaut sévère de la spermatogenèse (tableau 1). La découverte d'une microdeletion de l'Y peut être alors considérée comme étant la cause de leur infertilité et permet aux cliniciens et aux patients d'éviter des bilans et des traitements médicaux ou chirurgicaux inutiles.

## 2.3 Etiologies

**Tableau 1 : Étiologies du défaut de la spermatogenèse.**  
**Normozoospermie:** spermatozoïdes > 20 millions/ml ; **Azoospermie :** absence de spermatozoïdes dans l'éjaculat ; **Oligozoospermie :** spermatozoïdes < 20 millions/ml ; **Oligozoospermie sévère :** spermatozoïdes < 5 millions/ml ; **Cryptozoospermie :** spermatozoïdes < 1 million/ml ; **Aspermie :** absence de sperme.

Etiologie	Phénotype
Pré-testiculaire	
<b>Endocrine</b> (insuffisance gonadotrope)	Azoospermie
- congénitale (syndrome de Kallman)	Azoo / Oligozoospermie
- acquise (tumeur, post-traumatique, selle turcique vide, iatrogène)	
<b>Troubles du coït</b>	Aspermie
- dysfonction érectile	Aspermie
- dysfonction éjaculatoire	
Post-testiculaire	
<b>Obstructive</b>	
- Epididymale (congénitale ou post-infectieuse)	Azoo / Cryptozoospermie
- Déférentielle (génétique ou post-vasectomie)	Azoo / Cryptozoospermie
<b>Infection des glandes accessoires</b>	Oligozoospermie
<b>Immunologique</b> (idiopathique ou secondaire)	Normospermie / Oligozoospermie
Testiculaire	
<b>Congénitale</b>	
- Anorchie	Azoospermie
- Cryptorchidisme	Azoo / Oligozoospermie
<b>Génétique</b>	
Anomalies chromosomiques	
- Klinefelter et ses variantes	Azoo / Oligozoospermie sévère
- Translocations, inversions	Azoo / Oligozoospermie
- Délétions du chromosome Y	Azoo / Oligozoospermie sévère
- Anomalies monogéniques	Azoo / Oligozoospermie
<b>Varicocèle</b>	Oligozoospermie
<b>Agents anti-spermatogéniques</b> (environnementaux, médicaments)	Oligozoo / Azoospermie
<b>Chimiothérapie, radiations ionisantes</b>	Azoo / Oligozoospermie sévère
<b>Torsion vasculaire, traumatismes, orchite</b>	Azoo / Oligozoospermie
<b>IDIOPATHIQUE</b>	Azoo / Oligozoospermie



**Figure 8 : Les différentes régions du chromosome Y et leurs marqueurs**

## **2.4 Les moyens d'exploration de la stérilité masculine :**

### **2.4.1- Le test post coïtal**

C'est l'examen de première intention dans l'exploration de la stérilité du couple. Ce test n'est pas réalisé systématiquement et n'a de signification qu'en cas de spermogramme normal.

C'est l'examen de la glaire cervicale après un rapport sexuel. Il apprécie le nombre de spermatozoïdes et leur mobilité dans la glaire cervicale optimale pré-ovulatoire.

Il permet d'apporter des informations sur le sperme de l'homme et la glaire de la femme enfin de limiter des investigations chez les deux partenaires.

Le test doit être réalisé :

- en période péri-ovulatoire (c'est à dire 1 à 2 jours avant l'ovulation) où la glaire en ce moment est abondante, transparente, filante, a un pH neutre.

- après une abstinence sexuelle de 2 à 3 jours.

- après un rapport sexuel dans un délai compris entre 4 à 24 heures ou de 8 à 12 heures selon les laboratoires.

Les prélèvements sont endocervical et exo-cervical.

Le mucus du canal endocervical sera aspiré par une seringue à l'insuline puis examiné entre lame et lamelle au microscope. L'examen au microscope du mucus détermine les différents types de mobilité des spermatozoïdes (progression linéaire rapide, progression linéaire lente ou non progressive, immobile), le nombre de spermatozoïdes, la survie des spermatozoïdes plusieurs heures après un rapport sexuel.

Le test est positif si la glaire est normale et s'il montre au moins 10 spermatozoïdes par champs à mobilité linéaire rapide et à morphologie normale. Ce résultat positif permet de limiter les investigations chez l'homme.

## **2.4.2 Le spermogramme**

Le spermogramme est l'étude des caractères physico- chimiques et quantitatif du sperme. C'est l'examen de base permettant d'apprécier les caractéristiques spermatiques, examen indispensable de première intention dans la stérilité masculine. Le spermogramme doit être fait avant tout traitement de la stérilité. Il doit être fait au moins quatre à cinq mois à distance de toute période infectieuse, fébrile, de toute maladie virale ou de toutes interventions chirurgicales même extra génital. Les méthodes de recueil et d'analyses doivent être réalisées conformément à la recommandation de l'OMS (48). L'examen comprend deux parties :

A l'examen macroscopique du sperme, on retrouve :

### **➤ Le volume de l'éjaculat :**

C'est un paramètre très important pour **S. HAMAMAH** et **C. BARTHELEMY** (35) et l'OMS (49) qui l'estiment entre 2 et 6 ml.

Le volume peut connaître certaines anomalies telles que :

*Aspermie ;*

*Hypospermie ;*

*Hyperspermie.*

### **➤ L'odeur :**

L'éjaculat a une odeur bien définie dite <<sui generis >> due à l'oxydation de la spermine. En cas d'infection ou pyospermie, l'odeur peut être fétide.

### **➤ L'aspect :**

Le sperme est opaque, blanchâtre ou jaune paille, lactescent, d'aspect floconneux. Un sperme brunâtre doit faire rechercher une hemospermie (la présence du sang dans le sperme).

### **➤ La viscosité ou temps de liquéfaction :**

Elle s'évalue après une aspiration du sperme dans une pipette, en notant la façon dont il s'écoule par simple gravité. Elle peut être :

- **Normale** : si la goutte s'étire à l'extrémité de la pipette.

- **Hyper visqueuse** : si la goutte reste suspendue à l'extrémité de la pipette.
- **Hypo visqueuse** : si la goutte se détache immédiatement de la pipette.

Le sperme de viscosité normale se coagule dès son émission et se liquéfie dans les dix à vingt minutes par mucolyse (à l'étuve à 37°C). Une viscosité trop forte du plasma séminal peut être un facteur de stérilité.

➤ **Le pH :**

Il doit être mesuré dans l'heure qui suit l'éjaculation. Il est mesuré à l'aide d'un papier indicateur sur lequel on dépose une goutte de sperme. Il est normal entre 7,2 et 8,0 (69). Un pH acide c'est à dire inférieur à 7,2 évoque une insuffisance ou une agénésie des canaux déférents et vésicules séminales. Un pH basique c'est à dire supérieur à 8,0 évoque une atteinte de la prostate.

L'examen microscopique est l'étude des spermatozoïdes contenus dans l'éjaculat frais. Il consiste à apprécier :

➤ **La vitalité des spermatozoïdes :**

Elle est vérifiée entre lame et lamelle après la coloration du frottis. La technique de coloration consiste à faire un mélange de 10 microlitre ( $\mu\text{l}$ ) du sperme, 10 microlitre du colorant d'éosine et 20 microlitre du colorant de nicosine. Le frottis est réalisé sur une lame à partir d'une goutte du mélange. La lecture du frottis séché se fait à l'objectif 100 à l'immersion. Selon l'OMS, elle doit être supérieure à 75% (48). Il peut arriver qu'il n'existe de spermatozoïdes vivants à l'éjaculation : c'est la nécrozoospermie faisant évoquer un problème infectieux ou oxydatif.

➤ **La mobilité des spermatozoïdes :**

La mobilité normale se traduit par un déplacement rapide et rectiligne des spermatozoïdes à travers les champs microscopiques où les spermatozoïdes semblent avoir un but. Les différents types de mouvements sont :

- **la normokinésie** : qualifie les spermatozoïdes à mobilité normale en intensité et en cinétique.

- *L'hypokinésie* : désigne les spermatozoïdes avec une mobilité très faible.
- *la dyskinésie* : désigne les spermatozoïdes à mouvement anormaux, irréguliers ou anarchiques.
- *L'akinetozoospermie* : désigne un arrêt du mouvement des spermatozoïdes qui sont par ailleurs vivants.

Le nombre de spermatozoïdes mobiles doit être supérieur à 50% à la première heure selon l'OMS (48) et inférieur à 50% à la quatrième heure après l'éjaculation. Il y a asthénospermie si la mobilité est inférieure 50%.

➤ **La numération des spermatozoïdes :**

Elle est appréciée par comptage dans un hémocytometre (cellules de **Thomas**, de **Malassez** ou autre) après immobilisation des spermatozoïdes dans une solution de Ringer formolée à 1%. Pour l'OMS, le nombre de spermatozoïdes se trouve entre 20 et 200 millions de spermatozoïdes /ml. Il peut exister certaines anomalies de la numération telles que :

- azoospermie ;*
- oligospermie ;*
- polyzoospermie ;*
- cryptozoospermie.*

**Tableau 2 : Les normes du spermogramme selon l'OMS (48) :**

<b>Paramètres</b>	<b>Valeurs</b>
Volume	2 – 6ml
Ph	7,2 – 8
Leucocytes	< 1.000.000/ml
Vitalité des spermatozoïdes	> 75%
Numération des spermatozoïdes	20 – 200.000.000/ml
Mobilité des spermatozoïdes	<b>1<sup>ère</sup> heure :</b> Mobilité totale > 50% Mobilité en trajet fléchant > 25% <b>3<sup>ème</sup> heure :</b> Chute de la mobilité < 50% par rapport aux chiffres de la première heure

## **2.5 Outils de biologie moléculaire**

### **2.5.1 Transport des échantillons au LBMA**

Les tubes de sang ont été rapidement transportés dans un sac étanche thermostable pour agents infectieux (Timber Cree K™) contenant de la glace. Le transport du sac s'est passé en moins d'une heure entre le service de cytogénétique de l'INRSP le centre de santé de référence de la commune II la clinique BAOBAB et le LBMA.

### **2.5.2 Critère d'acceptabilité de l'échantillon**

Les tubes de sang transportés au LBMA devaient répondre aux critères suivants avant d'être acceptée comme échantillon d'étude :

- la durée entre le prélèvement du sang et la récupération au LBMA ne doit pas dépasser six heures de temps.
- les échantillons ne doivent pas contenir d'hémolyses et de culots (caillots).

### **2.5.3 Bonne pratique du laboratoire**

Les précautions suivantes ont été observées pendant toutes les procédures :

- toutes les manipulations qui nécessitent une stérilité absolue ou pouvant créer une éclaboussure ou des aérosols ont été faites sous la hotte dans la salle de culture ;
- les équipements de protection individuels sont exigés (gants, blouse à usage unique, masque de protection, chaussures fermées) ;
- un stock d'ARV est nécessaire en cas d'accident au laboratoire.

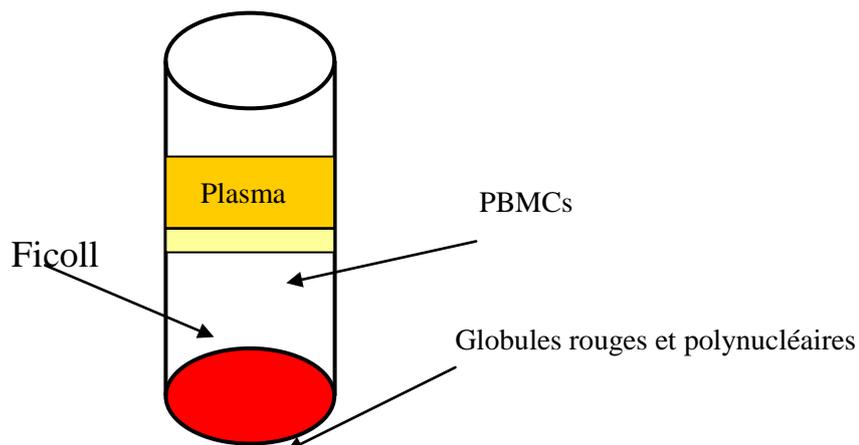
### **2.5.4 La Lymphoséparation**

C'est la séparation des populations cellulaires par centrifugation sur la base de leurs densités. Elle a été faite avec le ficoll, qui est un polymère de glucose épichlorohidrine permettant la séparation des cellules ayant différentes densités et de purifier les lymphocytes (**Janeway *et al.* 1999**)

Le volume utilisé était le même pour le sang que pour le ficoll : 5 ml / 5ml.

L'échantillon de sang a été déposé à la surface du ficoll à l'aide d'une pipette en évitant que les deux solutions ne se mélangent. Puis les deux solutions ont été centrifugées à 14 000 rpm pendant 20mn.

Après centrifugation, les globules rouges et les polynucléaires plus denses que le ficoll sédimentent au fond du tube, alors que les cellules mononuclées plus faibles forment un anneau surnageant au-dessus du ficoll.



**Figure 9 : Séparation lymphocytaire par le Ficoll**

Ensuite le surnageant a été délicatement récupéré dans des cryotubes différents à l'aide d'une pipette Pasteur.

Les cellules mononuclées ont été lavées 3 fois avec du PBS 1X (Phosphate, Buffer Saline, DPBS, Hyclone, Logan Utah) pour éliminer toute trace de la solution de Ficoll, de plasma, des autres cellules, des débris surtout des hémoglobines (molécules inhibitrices de la PCR).

Ces manipulations ont été effectuées sous une hotte dans le respect des bonnes pratiques de laboratoire.

### **2.5.5 Comptage des cellules mononuclées**

Le comptage des cellules mononuclées a été effectué dans un hématocytomètre (Hausser scientific, Horsham, PA, USA) à l'aide d'un microscope optique (Nikon Model Eclipse E 400, Japon). Le nombre de cellules a été déterminé par les cellules au trypan bleu.

La Procédure suivante a été adoptée :

- ajouter colorées 8 ml du PBS 1X au culot et mélanger en tapotant le fond du tube jusqu'à obtenir une suspension homogène ;
- prendre 20 $\mu$ l de cette suspension dans un tube ~~est~~ de 1,5ml puis ajouter un volume égal de trypan bleu dilué au 1/5, bien mélanger en pipetant plusieurs fois ;
- mettre 10 $\mu$ l de cette solution dans l'hématocytomètre ;

### **2.5.6 Extraction \ Purification d'ADN**

L'ADN (ou l'ARN) doit impérativement être purifié à partir de matériels biologiques dans ses conditions optimales de qualité et de quantité. Dans la pratique, les acides nucléiques sont souvent extraits du sang total. Le procédé classique est l'extraction par le couple phénol) chloroforme. Le phénol, est un excellent agent dénaturant des protéines et il permet de séparer efficacement les protéines et les acides nucléiques. Il est ensuite éliminé par extraction avec du chloroforme (non miscible avec l'eau). La séparation des phases aqueuses et organiques peut se faire par centrifugation. La phase aqueuse contient des acides nucléiques. Des traitements par des agents clivant les protéines (protéolyse) peuvent être nécessaires. Les acides nucléiques peuvent être facilement récupérés sous formes solide à la suite de précipitation de l'alcool éthylique ou par l'alcool isopropylique. De nombreux réactifs sont disponibles, prêts à l'emploi, ce qui permet de simplifier les opérations de purification. Il est possible extraire les acides nucléiques à partir d'échantillons biologiques variés : cultures cellulaires, tissus divers etc... Les méthodes extractions doivent bien entendu être adaptée aux quantités disponibles de matériel biologique.

## **2.5.7 Dosage et Conservation**

### **➤ Estimation des quantités d'ADN**

Cette estimation est disponible après extraction d'ADN à partir d'un matériel biologique. La méthode basée sur la spectrophotométrie reste la plus utilisée.

Le dosage s'effectue par spectrophotométrie dans l'ultraviolet à 260 nm. Il est indispensable de mesurer également l'absorption à 280 nm. Cette dernière longueur d'onde permet d'estimer la contamination éventuelle de l'extrait par des protéines. L'absorption se définit par l'unité de densité optique mesurée à 260 nm. Une unité de densité optique à 260 nm correspond à l'absorption d'une solution d'ADN double brin à la concentration de 50ug/ml ou à l'absorption d'une solution d'ADN simple brin à la concentration de 33ug/ml ou encore à de l'ARN à 40ug/ml.

### **➤ Conservation de l'ADN**

Le stockage des acides nucléiques se fait au froid

-Pour un stockage à court terme, l'ADN est gardé à +4°C

-Pour un stockage à long terme, l'ADN est placé à -20°C ou -80°C

## **2.5.8- Electrophorèse**

C'est une technique qui permet de séparer des molécules en fonction de leur taille et de leur charge en utilisant un courant électrique. On peut ainsi analyser et purifier dans un milieu gélifié (gel d'agarose, gel de polyacrylamide...) l'ADN, l'ARN, les protéines.

Migration électrophorétique des fragments d'ADN

Les fragments d'ADN après PCR ou digestion par les enzymes de restriction peuvent être séparés par électrophorèse sur un gel d'agarose. Dans ce type de gel les migrations des fragments d'ADN dépendent de la taille du fragment plus que de la charge de celui-ci. Plus le fragment a une taille élevée, moins la migration électrophorétique par rapport au puits d'inclusion sera importante. À l'opposé les fragments de petite taille auront une distance de migration la plus élevée.

La détermination précise des tailles des fragments séparés par électrophorèse est effectuée en faisant migrer des marqueurs de poids moléculaire en parallèle avec les échantillons à analyser. La détection de l'ADN sur ce type de gel est réalisée par exposition aux rayons UV après réaction avec un réactif spécifique (bromure d'éthidium par exemple, agent s'intercalant entre les brins d'ADN). L'électrophorèse des fragments d'ADN en gel d'agarose permet des séparations jusqu'à 20-25kb (20000-25000pb). Le tampon utilisé pour la migration électrophorétique a un pH basique (par exemple : 8,3 dans le cas du tampon appelé TBE = Tris-Borate-EDTA). Des fragments d'ADN de taille restreinte (inférieur à 1000 paires de bases) peuvent aussi être séparés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide.

### **2.5.9 Amplification in vitro du matériel génétique (PCR)**

#### **➤ Principe et concepts de base de la PCR**

La PCR est une méthode permettant la multiplication d'une courte séquence d'ADN (jusqu'à 2 ou 3Kb en routine) appelée séquence cible, à partir d'une infime quantité d'ADN génomique. Elle est même possible à partir de l'ADN génomique issu d'une cellule unique. Elle est réalisée dans un micro tube en quelques heures.

Le taux de multiplication (ou taux d'amplification) est tel que la réaction revient à rendre négligeable le reste du génome qui n'a pas été amplifié car le produit de PCR contient presque exclusivement des millions d'exemplaires de la séquence cible. Il est donc facilement analysable par exemple sur un gel d'électrophorèse en fluorescence UV sans avoir à rechercher spécifiquement la séquence cible par hybridation moléculaire comme c'était le cas auparavant (technique de Southern). La PCR est utilisée dans la très vaste majorité des diagnostics moléculaires.

#### **➤ La réaction de PCR**

La séquence cible est multipliée par synthèse successives à l'aide d'amorces oligonucléotidiques et d'une ADN polymérase thermostable. Chaque synthèse ou cycle de PCR est constituée de 3 étapes de trois plateaux de températures différents :

**Dénaturation** (autour de 95°C)

**Hybridation des amorces** (entre 50 et 60°C)

**Polymérisation** (autour de 72°C).

Chaque cycle dure quelques minutes. La séquence cible étant doublée à chaque cycle, le taux d'amplification (théorique) est de  $2^n$ , si bien qu'après une trentaine de cycles de PCR, le nombre de copies de la séquence cible est plusieurs dizaines de millions de fois supérieur à n'importe quelle autre séquence du génome. Cette surreprésentation la rend facilement analysable et manipulable.

La PCR est une technique incomparablement plus rapide que d'autres techniques telles que la méthode de **Southern** ou le clonage. Il faut deux ou trois heures pour réaliser une PCR.

**Le milieu réactionnel doit contenir :**

- ✓ l'ADN contenant la séquence à amplifier ; il peut s'agir de l'ADN génomique d'un patient pour lequel on cherche à réaliser le diagnostic moléculaire d'une maladie génétique, d'ADN plasmidique contenant une séquence d'intérêt etc....
- ✓ les deux amorces oligonucléotiques monobrins complémentaires
- ✓ chacune d'une des extrémités du fragment à amplifier 5'-3' et 3'-5'
- ✓ des désoxynucléotides libre dATP, dCTP, dGTP, dTTP qui sont incorporables pour former le brin d'ADN néo synthétisé.
- ✓ l'enzyme permettant la synthèse d'un néo à partir des amorces ; il s'agit d'une ADN polymérase thermostable, par exemple la Taq DNA polymérase issue du micro-organisme *Thermus Aquaticus*.
- ✓ du MgCl<sub>2</sub> et une solution donnant au milieu réaction un PH et une concentration saline optimale pour le fonctionnement de l'enzyme. Le tube contenant le milieu réactionnel est placé dans un appareil appelé <<thermocycleur>>, sorte de plaque chauffante programmable en temps et en température et disposant de délais de montée et de descente en température extrêmement courts. Il délivre à chaque instant au milieu réactionnel une température donnée permettant la

réalisation de l'une des trois étapes du cycle de PCR : dénaturation, hybridation ou synthèse.

### ➤ Les limites de la PCR

- ✓ La PCR suppose la synthèse chimique de deux oligonucleotides utilisés pour l'amorçage de la réaction. Il faut donc que la séquence nucléotidique du fragment à analyser soit connue au niveau de ces régions d'amorçage. Il est néanmoins possibles de contourner le problème en clonant le fragment dont la séquence dans un vecteur (plasmide, bactériophage...) afin d'utiliser la séquence (connue) du vecteur pour amorcer la réaction de PCR. L'avantage de cette méthode par rapport à la multiplication par clonage est sa simplicité et sa rapidité.
- ✓ La taille du fragment à amplifier ne peut pas dépasser quelques kilos bases. Au-delà, il se produit des phénomènes qui empêchent la réaction de se faire normalement : interruptions prématurées dues à la formation de structures secondaires, ré appariement des fragments néo synthétisés entre eux etc....
- ✓ Le taux d'amplification est théoriquement de  $2^n$  mais en pratique le rendement de la réaction n'est jamais de 100%.
- ✓ Au-delà d'un certain nombre de cycles, le taux d'amplification baisse progressivement pour tendre vers 1. Ceci est dû à une diminution de la concentration des désoxynucléotides et des oligonucleotides et à l'augmentation de la concentration du produit de PCR.

# METHODOLOGIE

### **3 METHODOLOGIE**

#### **3.1 Cadre et lieu d'étude :**

La présente étude s'est déroulée à cheval sur trois services :

le centre de santé de référence de la commune II

le service de cytogénétique de l'INRSP

le laboratoire de biologie moléculaire appliquée (LBMA) de la Faculté des Sciences et Techniques de l'université de Bamako.

Le centre de santé de référence de la commune II du district de Bamako ; dispensaire puis PMI (protection maternelle et infantile) jusqu'en 1998 ; il fut érigé centre de santé de référence de la commune II.

Deuxième niveau de la pyramide sanitaire au mali sur trois niveaux : les centres de santé communautaire (dont 5 en commune II : ASACOHI (Hippodrome)

ASACOME (Médine) ASACOBENKADI (Bakaribougou) ASACO NIARELA ABOSAC (Bozola) sont le 1<sup>ER</sup> niveau ; les centres de santé de référence puis les hôpitaux qui constituent le sommet de la pyramide.

Situation géographique et services :

La commune II couvre une superficie de 17Km soit environ 7% de la superficie totale du district de BAMAKO 267km<sup>2</sup>.

Elle est limitée :

- Au nord par le pied de la colline du point G.
- Au sud par le fleuve Niger.
- A l'est par le marigot de korofina.

A l'ouest par la route goudronnée Boulevard du peuple passant par L'IOTA traversant le grand marché jusqu' au pont des martyrs.

Elle compte 12 quartiers (Bagadagji, Bakaribougou, Bougouda, Bozola, hippodrome, Medina coura, Missira, Niarela, Quinzanbougou, TSF, Zone industrielle, Ngomi)

Le centre de santé de référence se trouve à Missira, il comporte plusieurs services :

- L'administration.
- Service d'oto-rhino-laryngologie.
- Service d'ophtalmologie.
- Service de médecine.
- Service d'odontostomatologie.
- Service de pédiatrie.
- Programme élargi de vaccination (PEV).
- Service social.
- Service de gynéco-obstétrique.

Description du cadre d'étude :

Le service de gynéco obstétrique occupe le rez de chaussée à l'étage se trouvent l'administration et d'autres services.

Il comporte :

- une salle d'accouchement avec trois tables d'accouchements.
- Une salle d'attente et des suites des couches immédiates avec trois lits.
- Une salle de garde pour les sages femmes.
- Une salle de garde pour les infirmières et aides-soignantes.
- Un bureau pour la sage femme maîtresse.
- Une toilette externe pour le personnel.
- Une unité de planning familial.
- Une unité prénatale.
- Une unité post natale.
- Une unité de PTME.
- Une salle d'échographie.
- Une unité de gynécologie et de grossesse à haut risque.
- Trois salles d'hospitalisation.
- Un bloc opératoire.

### **Le personnel comprend :**

Une spécialiste en gynéco obstétrique qui est le chef de service.

Des DES de gynéco obstétrique.

Des étudiants faisant fonction d'interne.

La sage femme maîtresse.

Les sages femmes

Des infirmières obstétriciennes.

Des aides soignantes.

Des manœuvres.

### **Fonctionnement :**

Le service dispose d'une salle d'accouchement qui fonctionne vingt quatre heures sur vingt quatre.

Les consultations gynécologiques et obstétricales (grossesse à risque) sont assurées par la gynécologue obstétricienne deux jours par semaines (lundi et le mercredi) et les autres jours par les DES de gynéco obstétrique, les internes et les sages femmes avec l'aide des infirmières et des aides soignantes.

Un staff se tient tous les jours ouvrables de la semaine pour discuter de la prise en charge de certaines pathologies fréquemment rencontrées et les dossiers des entrantes.

Une équipe de garde quotidienne travaille 24 heures sur 24. Elle est composée de deux DES, des internes, d'une sage femme, d'une infirmière obstétricienne, d'une aide soignante et d'un manœuvre.

### **Missions de L'INRSP :**

Au terme de l'ordonnance N°06-007/P-RM du 28 février 2006, les missions de l'INRSP se résument comme suit :

1. Promouvoir la recherche médicale et pharmaceutique en santé publique notamment dans les domaines des maladies infectieuses, néoplasiques et sociales, de la santé familiale, de l'éducation sanitaire, de l'hygiène

du milieu, de la biologie clinique appliquée à la nutrition et aux affections endémo-épidémiques, de la toxicologie médicale et expérimentale, de la bromatologie de la génétique, de la socio économie, de la médecine et de la pharmacopée traditionnelle.

2. Participer à la formation technique, au perfectionnement et à la spécialisation dans le domaine de sa compétence.
3. Assurer la référence dans le domaine de la biologie clinique.
4. Assurer la mise au point et la formulation des médicaments traditionnels améliorés.
5. Assurer la protection du patrimoine scientifique révélant de son domaine.
6. Promouvoir la coopération nationale et internationale dans le cadre des programmes et d'accords d'assistance mutuelle.
7. Gérer les structures de recherche qui lui sont confiées.

### **Les différents départements de L'INRSP :**

Il existe 5 départements :

- Département administratif et personnel
- zone hétéro-chromatine Département formation
- Département médecine traditionnelle
- Département de diagnostic et de recherche biomédicale divise en 7 services :
  - ✓ Service de biochimie
  - ✓ Service de parasitologie
  - ✓ Service d'hématologie
  - ✓ Service de bactériologie virologie
  - ✓ Service de sérologie

- ✓ Service d'anatomo-pathologie
- ✓ Service de cytogénétique et de biologie de la reproduction

### **Personnel du service de cytogénétique et de biologie de la reproduction :**

Il comprend :

- Un chef de service : médecin biologiste
- Un biologiste de la reproduction
- Une assistante médicale
- Une technicienne supérieure de la santé
  
- Un manœuvre.

### **Laboratoire de biologie moléculaire appliquée de la (LBMA)**

Le LBMA est situé sur la colline de Badalabougou en commune V du district de Bamako dans l'enceinte de la Faculté des sciences et techniques FAST

#### **Le personnel :**

Le LBMA comprend plusieurs unités : l'unité de parasitologie, l'unité de virologie et l'unité de biotechnologie végétale. Le laboratoire est sous la responsabilité d'un spécialiste en parasitologie moléculaire, il est le chercheur principal et supervise toutes les activités menées au laboratoire. Il est assisté par :

- des pharmaciens biologistes responsables des différentes unités et de l'encadrement des travaux pratiques pour les étudiants de la FAST et des thésards de la faculté de médecine Pharmacie et d'odontostomatologie(FMPOS) ;
- des techniciens diplômés d'état, chargés des analyses biologiques ;
- une secrétaire de direction.

## **Le local :**

Le LBMA est composé de trois bâtiments :

- un bâtiment au sud abritant la salle de biotechnologie, la salle de culture cellulaire et la salle de génomique fonctionnelle.
- deux bâtiments au nord, le premier est destiné à la parasitologie et biologie clinique, et le second pour la virologie.

## **3.2 Type et Période d'étude :**

IL s'agit d'une étude prospective qui s'est déroulée du 14 Février 2007 au 09 Février 2009.

Choix des patients : des patients azoospermes ou oligospermes sévères.

Un prélèvement sanguin fut effectué sur chaque patient, environ 10 ml de sang veineux fut recueilli sur un tube contenant un anticoagulant citrate sodium (Bectom Dickinson) soit au centre de santé de référence de la commune II soit au service de cytogénétique de l'INRSP ; puis acheminé au laboratoire de biologie moléculaire appliquée de la FAST dans un bac thermo dans les 6 heures.

Lymphoséparation: les globules blancs seront séparés du reste des éléments sanguins par centrifugation en présence du Ficoll. Ces cellules seront ainsi lavées et prêtes pour extraction.

Extraction d'ADN : le kit Purgène (centra) sera utilisé pour extraire l'ADN.

Polymérase Chain réaction : elle permettra d'amplifier le séquences étiquetées pour les analyses de microdélétions .Au total 12 marqueurs seront utilisés pour couvrir les sous- régions AZF , AZFB, et AZFC une paire de marqueur pour la région hétéro chromatinienne en dehors de la région AZF sera utilisée. Le marqueur sY14 spécifique au chromosome Y sera utilisé comme contrôle positif.

Un dosage hormonal sera effectué chez deux (02) de nos sujets, la FSH, LH, la testostérone et la prolactine.

### **3.3 Population d'étude**

#### **3.3.1 Description et critères d'inclusion**

Notre étude a porté sur des échantillons d'ADN issus des sujets ci-dessous caractérisés :

Etaient inclus dans notre étude les sujets à leur deuxième ou troisième spermogramme dont le résultat a conclut :

- une azoospermie
- une oligozoospermie sévère.

Les effectifs des deux populations d'étude étaient les suivants :

- 17 sujets azoospermes
- 1 sujet oligosperme sévère c'est-à-dire la numération des spermatozoïdes inférieure à 5 millions par millilitre.

#### **3.3.2 Critères de non inclusion**

Les patients avec un spermogramme normal et ceux présentant un taux spermatozoïdes supérieur ou égal à cinq (5) millions par millilitre (ml).

#### **3.3.3 Limites de l'étude**

L'examen clinique des patients prélevé

Absence de dosage hormonal chez tous les patients de l'étude.

#### **3.3.4 Considérations éthiques**

la conservation du secret médical

le consentement éclairé du patient à toujours été recherché avant l'interrogatoire

### **3.4 Méthodes de l'étude**

#### **3.4.1 Marqueurs moléculaires utilisés**

##### **➤ Synthèse ou cycle de PCR**

Les marqueurs moléculaires sont des oligonucleotides de synthèse utilisés comme amorces dans la réaction de polymérisation en chaine(PCR).

Les amorces sont conçues de sorte à pouvoir s'hybrider complémentirement en 5' 3'et en 3'5' à des séquences spécifiques du gène étudié délimitant ainsi la portion à amplifier. Dans cette étude ; les amorces utilisées isolent les sous régions AZFa ; AZFc et la région hétéro chromatinienne du bras long du chromosome Y.

**Tableau 3: Les sequences des amorces utilisés**

<u>Sequences</u>	<u>Taille</u>
sY14 Aller 5' GAATATTCCCGCTCTCCGGA 3' Retour 5' GCTGGTGCTCCATTCTTGAG 3'	472
sY82 Aller 5' ATCCTGCCCTTCTGAATCTC 3' Retour 5' CAGTGTCCACTGATGGATGA 3'	264
sY84 Aller 5' AGAAGGGTCTGAAAGCAGGT 3' Retour 5' GCCTACTACCTGGAGGCTTC 3'	320
sY86 Aller 5' GTGACACACAGACTATGCTTC 3' Retour 5' ACACACAGAGGGACAACCCT 3'	326
sY254 Aller 5' GGGTGTTACCAGAAGGCAA 3' Retour 5' GAACCGTATCTACCAAAGCAGC 3'	350
sY255 Aller 5' GTTACAGGATTCGGCGTGAT 3' Retour 5' CTCGTCATGTGCAGCCAC 3'	126
sY283 Aller 5' CAGTGATACTCGCACTTGTGTA 3' Retour 5' GTTATTTGAAAAGCTACACGGG 3'	497
sY158 Aller 5' CTCAGAAGTCCTCCTAATAGTTCC 3' Retour 5' ACAGTGGTTTGTAGCGGGTA 3'	231
sY160 Aller 5' TACGGGTCTCGAATGGAATA 3' Retour 5' TCATTGCATTCTTTCCATT 3'	236

**La taille de l'ADN attendue après amplification est indiquée pour chaque paire de séquences**

### ➤ Dilution des amorces

Les amorces sont livrées sous forme lyophilisée ; d'où la nécessité d'une dilution afin d'obtenir des concentrations optimales pour la PCR.

La dilution des amorces s'est donc faite par ajout d'un volume adéquat d'eau ultra pure de sorte à obtenir une molarité finale de 50mM. (Tab. ...)

### 3.4.2 Matériel biologique

#### ➤ Isolement des cellules mononuclées du sang périphérique

A partir de prélèvement de sang total périphérique sur anticoagulant (citrate de sodium), les cellules mononuclées du sang périphérique (PBMCs) ont été isolées par gradient de ficoll (sodium diatrizoate polysucrose, Lymphoprep ). Les gradients de ficoll sont utilisés pour séparer les cellules ayant différentes densités et en particulier pour purifier les lymphocytes et les monocytes. Après centrifugation les globules rouges et les polynucléaires plus denses que le ficoll, sédiment au fond du tube alors que les cellules mononuclées forment un anneau surnageant le ficoll. Les PBMCs sont délicatement recueillies et lavées au PBS 1X (*Phosphate Buffered Saline 1X, 7.4, GIBCO*) afin d'éliminer les plaquettes et les résidus de plasma.

#### ➤ Extraction et quantification de l'ADN génomique :

L'extraction de l'ADN génomique fut effectuée à partir de cellules mononuclées du sang périphérique. Le kit GenElute Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit (*Sigma, St Louis, Mo*) fut utilisé. Après extraction, l'ADN fut quantifié par spectrophotométrie (*BIOphotometer, eppendorff*) et stocké –

20°C jusqu'au moment de la PCR. Le stockage de longue durée a été fait à -80°C.

### **3.4.3- Amplification des sous régions AZF**

#### **➤ Les conditions de la PCR**

##### **✓ Les amorces**

Les amorces utilisées avaient respectivement pour séquences  
[5' GGG TGT TAC CAG AAG GCA 3'] Pour l'amorce aller  
[5' GAA CCG TAT CTA CCA AAG 3'] Pour l'amorce retour

##### **✓ Le mélange réactionnel**

Pour chaque échantillon les proportions des réactifs constituant le mélange réactionnel de 25µl de volume final sont résumés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 4 : Réactifs de la PCR.**

<i>Réactifs</i>	<i>Concentration initiale</i>	<i>Volume en <math>\mu</math>l</i>	<i>Concentration finale</i>
<b>Eau sterile</b>	-	7,5	-
<b>Tampon</b>	10X	1,2	1X
<b>Mgcl<sub>2</sub></b>	25mM	0,72	1,5mM
<b>dNTPs</b>	10mM	0,72	0.6mM
<b>Amorce5'</b>	50 $\mu$ M	0,12	0.5 $\mu$ m
<b>Amorce3'</b>	50 $\mu$ M	0,12	0.5 $\mu$ m
<b>Taq polymérase</b>	5U	0.12	0.05U
<b>DNA</b>		1,5	-----
<b>Volume final</b>		12 $\mu$ l	

DNTPs= dATP, dTTP, dGTP et dCTP

### ➤ Le programme d'amplification

Le programme d'amplification comporterait une dénaturation initiale à 94°C pendant 2min, une dénaturation à 94°C pendant 30 secondes, l'hybridation des amorces à 58°C pendant 40 sec et une élongation à 72°C pendant 1min. Ce cycle fut accomplit 35 fois suivi d'une phase dite « extra time » de 72°C pendant 10 min. La machine PCR utilisée était du type *PTC-200 DNA Engine Cycler (MJ Research)*.

**Tableau 5 : Programme du cycle thermique utilisé au cours de la PCR**

<b>Etapes d'un cycle</b>	<b>Température (°C)</b>	<b>Durée</b>
Pré dénaturation	94	2 minutes
Dénaturation de l'ADN	94	30 secondes
Hybridation de l'amorce avec	58	35 40 secondes
Extension de l'ADN	72	1 minute
Extra temps	72	10 minutes

De la phase de dénaturation à la phase d'élongation (extension) le thermocycleur fait un cycle, répété 35 fois avant de passer à l'extra temps, puis conserve les produits à 4°C.

### ➤ **Electrophorèse et estimation de la taille des produits PCR**

Après la PCR, les amplicons ont subi une électrophorèse sur gel d'agarose 2% contenant du bromure d'éthidium à 0,3µl /ml. 15µl des produits amplifiés furent logés dans les puits du gel, préalablement mélangés à 3µl de tampon de chargement communément appelé DYE (bleu de bromophénol 0,25% Sucrose 40% et eau distillée). Le *marqueur* moléculaire de taille V ou VI (*Boehringer Mannheim, Indianapolis, IN*) fut également logé dans le gel parallèlement aux amplicons. L'électrophorèse fut faite à 150 V pendant 45 min dans du TBE 0.5X comme tampon de migration. Le dispositif était composé d'une cuve d'électrophorèse (*Wilde mini sub CellGT, Biorad*) relié à un générateur (*Power Pac 200, Biorad*). Le gel fut enfin révélé sous lumière Ultra Violette puis photographié et analysé grâce à un dispositif composé d'une chambre à UV surmontée d'une *camera* numérique, le tout relié à un ordinateur contenant le logiciel de capture d'images et d'estimation de la taille des fragments d'ADN (*Kodak EDAS 290 1D version 3.5.4*).

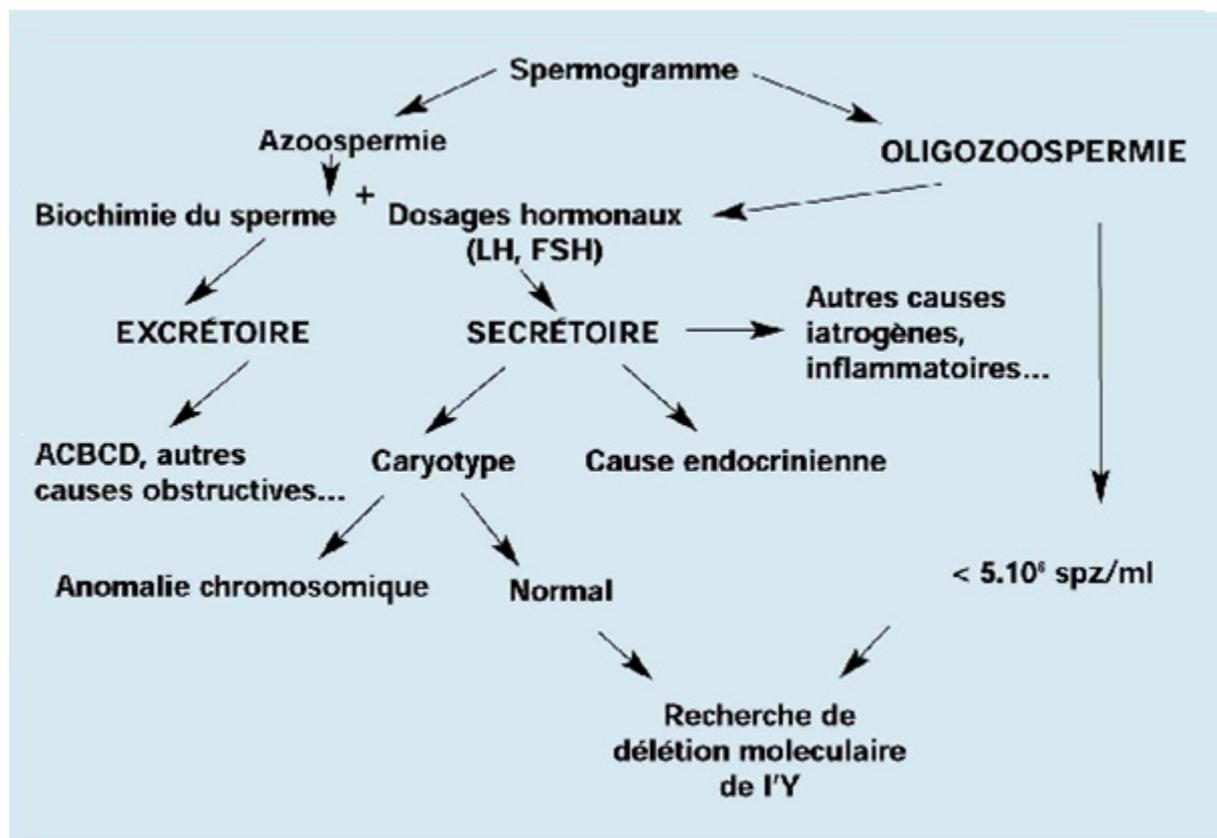
### **3.4.4 Exploration de microdeletion**

#### ➤ **Tests diagnostique**

La recherche de microdélétions du chromosome Y est envisagée devant la découverte d'une oligozoospermie sévère ou d'une azoospermie sur le spermogramme effectué dans le cadre d'un bilan d'infertilité.

Les délétions sont détectées à partir de l'ADN lymphocytaire du sang périphérique par la technique PCR en utilisant des séquences anonymes spécifiques du chromosome Y (Séquence Tagged Sites, STSs) ou des amorces spécifiques des gènes candidats.

Il n'existe pas de signes cliniques visibles ou d'autres symptômes chez les hommes porteurs de délétions du chromosome Y, en dehors de l'infertilité.



**Figure 10** : indications de la recherche de microdeletion de l'Y chez l'homme infertile.

➤ **Mode de transmission**

Le mode de transmission est lié au chromosome Y (ne se transmet qu'aux garçons), avec une pénétrance variable (le pourcentage d'expressivité de la maladie est variable). Les délétions héritées du père sont des cas rares à cause de l'infertilité qu'elles provoquent et la faible chance de conception spontanée. Il s'agit le plus souvent de délétions « de novo ».

### ➤ **Conseil génétique**

Lorsque des spermatozoïdes matures sont retrouvés dans le sperme ou dans le testicule (par biopsie testiculaire) il est possible d'avoir recours aux techniques de procréation médicalement assistée de type ICSI (Intracytoplasmic Sperm Injection) avec sperme éjaculé ou avec sperme testiculaire (TESE, Testicular Sperm Exctraction). Si l'enfant à naître est un garçon, il peut hériter les délétions du chromosome Y et présenter également une infertilité une fois arrivé à l'âge adulte. Le couple doit bénéficier d'une consultation de conseil génétique avant d'être inclus dans un protocole d'assistance médicale à la procréation par ICSI. Certains points seront alors évoqués :

- Peu de recul afin d'identifier les risques encourus de ces techniques dans ce contexte.
- Risque de stérilité pour les enfants de sexe masculin.
- Nécessité d'un suivi de ces enfants après la naissance.
- Intérêt d'une congélation préventive du sperme de fils d'un homme porteur de délétions du chromosome Y après la puberté afin de préserver ses possibilités de concevoir.

En l'absence de spermatozoïdes retrouvés, le couple peu avoir recours à une insémination artificielle ou à une fécondation in vitro avec sperme de donneur.

# RESULTATS ET COMMENTAIRES

#### 4 RESULTATS ET COMMENTAIRES :

Cette étude a porté sur 18 sujets males qui ont accepté d'être examiné sur le plan clinique, biologique et dont une partie du chromosome a été soumise à une analyse moléculaire par la PCR.

**Tableau 6 :** Répartition des patients selon l'âge

<i>Age (années)</i>	<i>Effectifs</i>	<i>Pourcentage %</i>
<b>20 – 29</b>	<b>4</b>	<b>22,23</b>
30 – 39	10	55,55
40 – 49	3	16,67
50 – 59	1	
Total	18	100

La tranche d'âge la plus représentée était comprise entre 30-39 ans soit 55,55% avec un âge moyen de 36,5 ans et des extrêmes d'âge de 20 et 59 ans.

**Tableau 7 :** Répartition des patients selon l'ethnie

<i>Ethnie</i>	<i>Effectifs</i>	<i>Pourcentage %</i>
<b>Bambara</b>	<b>9</b>	<b>50</b>
Soninké	1	5,55
Peulh	4	22,22
Dogon	1	5,55
Kassonké	1	5,55
Bozo	1	5,55
Senoufo	1	5,55
Total	18	100

50% des patients étaient Bambara, suivi des peulh avec 22,22%.

**Tableau 8** : Répartition des patients selon la profession

<i>Profession</i>	<i>Effectifs</i>	<i>Pourcentage</i>
<b>Cultivateur</b>	<b>6</b>	<b>33,33</b>
Commerçant	4	22,22
Chauffeur	2	11,11
Douanier	1	5,55
Gendarme	1	5,55
Ouvrier	2	11,11
comptable_Aide	1	5,55
Eleveur	1	5,55
Total	18	100

33,33% des patients étaient cultivateurs.

**Tableau 9** : Répartition des patients selon la résidence

<i>Résidence</i>	<i>Effectifs</i>	<i>Pourcentage</i>
<b>Bamako</b>	<b>14</b>	<b>77,77</b>
Hors de Bamako	4	22,23
Total	18	100

4% des patients résidaient hors de Bamako.

**Tableau 10** : Répartition des patients selon les habitudes de vies

<i>Habitudes de vie</i>	<i>Effectifs</i>	<i>Pourcentage</i>
Absence de comportement à risque	7	38,88
Tabac	1	5,55
Alcool	1	5,55
Exposition à la chaleur	<b>9</b>	<b>50</b>
Total	18	100

50% de nos patients présentaient une exposition des testicules à la chaleur.

**Tableau 11** : Répartition des patients selon les antécédents infectieux

<i>Antécédents</i>	<i>Effectifs</i>	<i>Pourcentage</i>
Sans antécédent	9	50
<b>Bilharziose</b>	<b>4</b>	<b>22,22</b>
MST	5	27,78
Total	18	100

50% de nos patients n'avaient pas d'antécédents infectieux.

**Tableau 12** : Répartition des patients selon le volume du sperme

<i>Volume</i>	<i>Effectifs</i>	<i>Pourcentage</i>
< 2 ml	4	22,22
<b>2 – 6 ml</b>	<b>13</b>	<b>72,23</b>
> 6 ml	1	5,55
Total	18	100

72,23% de nos patients avaient un volume normal, compris entre 2 – 6 ml.

**Tableau 13** : Répartition des patients selon la viscosité du sperme

<i>Viscosité</i>	<i>Effectifs</i>	<i>Pourcentage %</i>
Normale	16	88,89
Elevée	2	11,11
Total	18	100

On a retrouvé une viscosité normale chez environ 89% de nos sujets.

**Tableau 14** : Répartition des patients selon la numération des spermatozoïdes

<i>Numération</i>	<i>Effectifs</i>	<i>Pourcentage</i>
Nulle (0)	17	94,45
<b>&lt; 5 millions</b>	<b>1</b>	<b>5,55</b>
Total	18	100

Parmi les 18 patients, seul un était oligosperme sévère.

**Tableau 15** : Amplification par PCR de la sous-région AZFa pour la recherche de microdeletion chez les 18 sujets.

		<i>Echantillons</i>																	
<i>Amorces</i>		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
sY82		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
sY84		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
sY86		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

L'amplification de la zone AZfa par 3 paires d'amorce (sY82, sY84, sY86) n'a pas montré de microdeletion perceptible sur le gel d'agarose chez les 18 sujets examines.

**Tableau 16 :** Amplification de la partie subtélomérique de la zone Yp servant de contrôle positif de PCR chez les 18 sujets.

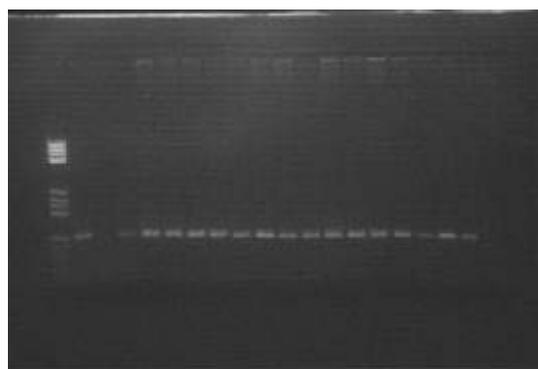
<i>Echantillons</i>																		
Amorces	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8
sY14	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tous les 18 sujets ont présenté des bandes après amplification par PCR avec la paire d’amorces sY14 utilisée comme contrôle.

**Tableau 17 :** Amplification par PCR de la sous région AZFc pour la recherche de microdélétions chez les 18 sujets.

<i>Echantillons</i>																		
Amorces	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
sY154	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
sY254	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
sY255	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
sY283	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Sur les 18 sujets testés pour la microdeletion dans la zone AZFc, seul le sujet No 2 n’a présenté aucune bande avec les paires d’amorces utilisées pour amplifier par la PCR cette zone.



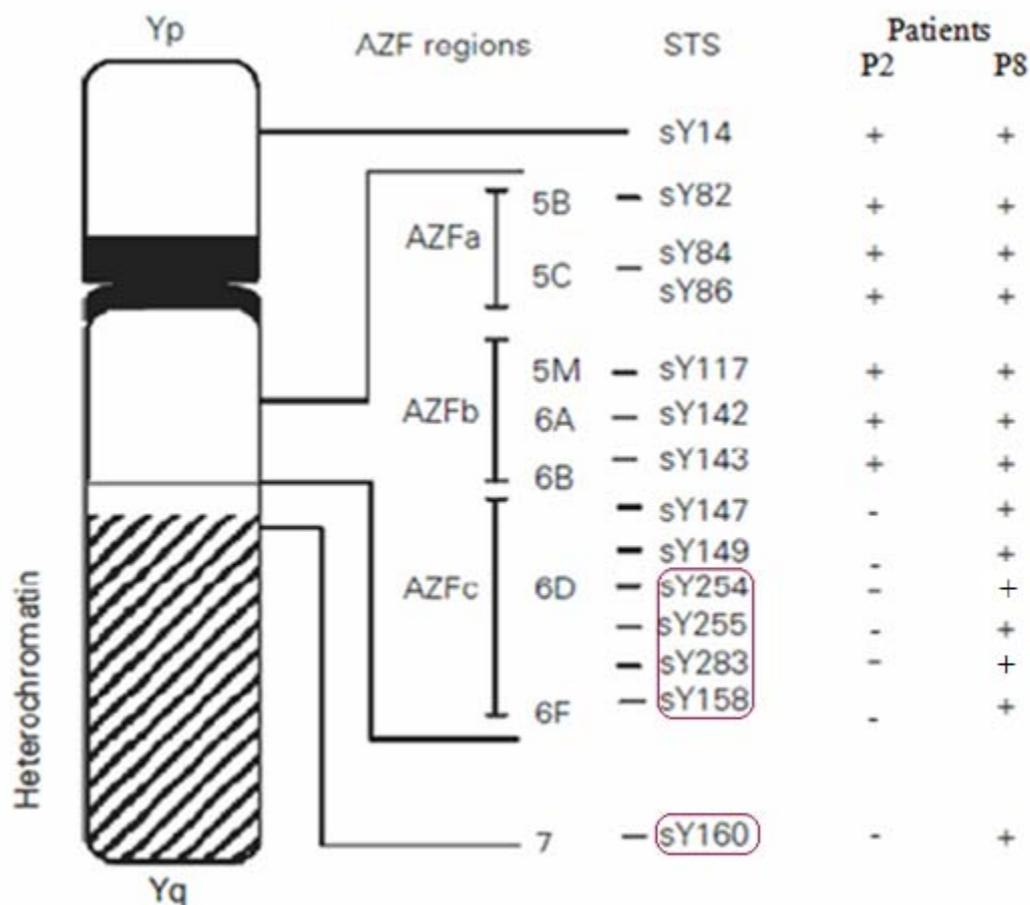
azoo amorce 255

**Figure 11 :** Gel montrant l’amplification de l’ADN des 18 sujets par le marqueur sY255, le sujet 2 (puits N° 3) n’a pas eu de produit d’amplification par PCR indiquant une microdeletion.

**Tableau 18 :** Amplification de la zone hétéro chromatinienne au niveau de la partie Yq du chromosome des 18 sujets.

<i>Echantillons</i>	
Amorces	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18
sY160	+ - + + + + + + + + + + + + + + +

Seul le sujet No 2 n’a pas présenté de bande avec la paire d’amorces sY160 pour amplifier par PCR la zone hétéro-chromatinienne.



**Figure 12** : diagramme schématisique du chromosome Y humain, y compris les régions AZF (AZFa, AZFb, et AZFc) et les intervalles de délétions 5,6 et 7 définis selon **Vogt et al.** La liste des amorces dépistées par PCR et leur localisation le long du chromosome Y est montrée. La présence(+) où l'absence(-) de l'amplification observée chez le patient 2 est aussi montré.

Nous avons fait le dosage de la FSH, LH, testostérone et la prolactine chez deux patients :

le patient présentant une microdélétion : parce que il est le a révélé une PCR positive et l'oligosperme sévère : parce qu'il est le seul oligosperme sévère de notre étude.

**Tableau 19** : Valeur hormonale chez nos sujets 2 et 8

Hormone	FSH	LH	Testostérone	Prolactine
Valeurs usuelles	(1,7 à 12,0) UI/ml	(1,1 à 7,0) UI/ml	(3,00-10,60) ng/ml	(1,5à19,0) ng/ml
Sujets				
P2	19,9	5,89	6,36	8,27
P8	8,7	4,70	8,74	8,51

Nous avons retrouvé chez le P2 un taux de FSH supérieur à la normale (19,9UI/ml) tandis que chez le sujet P8 le niveau est normal (8,7UI/ml).

## 5 DISCUSSION

### Caractéristiques des patients :

#### 1. Ages :

La tranche d'âge la plus représentée était les adultes jeunes de 30-39 ans avec une fréquence de 55,55 % et un âge moyen de 36,5 ans avec des extrêmes d'âge allant de 20 à 59 ans. Ces résultats sont similaires à ceux de **COULIBALY** (1997);

#### **KAHAM**

(2005), **SANOGO** (2001) qui ont trouvé respectivement des fréquences de l'ordre 45,45%, 50%, 50%. **Nagvenkar et coll.** a retrouvé le même âge moyen chez les 88 sujets indiens males et infertiles (2005). L'âge jeune de la majorité de nos patients pourrait être en rapport avec l'âge jeune de la population

Africaine en général, au Mali en particulier. En effet, selon le recensement général à caractère administratif de 2006, 70 % de la population malienne a moins de 35 ans. Ce taux s'expliquerait par le fait que les mariages se font en milieu urbain en général entre 30-39 ans surtout en milieu intellectuel.

D'autre part on suppose que les jeunes mariés qui n'arrivent pas

à procréer se confient plus volontiers aux médecins. Ceci pourrait s'expliquer, par le fait que les jeunes souhaitent avoir des enfants plutôt pour les accompagner le plus longtemps possible.

Ces extrêmes d'âge se rapprochent de ceux de certains auteurs :

**COULIBALY** (21-68 ans) **KAHAM** (20-70 ans); **KONE** (23-62 ans)

Il est remarquable de constater que les consultations sont rares entre 20-29 ans et après 59 ans (surtout concernant l'infertilité masculine).

#### 2. Ethnie :

L'ethnie Bambara était la plus représentée avec un taux de 27 %.

Ce taux se rapproche de celui rapporté par : **KAHAM** (25 %) et de **TOURE A** (29%)

Il faut noter la présence de presque toutes les ethnies du pays et la forte prévalence des bambaras pourrait s'expliquer par le fait que c'est l'ethnie majoritaire aussi bien au Mali que dans le district de Bamako.

### **3. Profession :**

Nous avons constaté que 33,33 % de nos patients étaient des cultivateurs. Ce taux se rapproche de ceux de certains auteurs :

Cette prédominance des cultivateurs 33,33 % s'expliquerait par le fait que la majorité de nos patients sont venus de la campagne ou notre attention est attirée sur l'utilisation des pesticides ainsi que pour l'exposition des testicules à la chaleur, le réchauffement des testicules et le déficit circulatoire sanguin lié à la position assise prolongée peuvent avoir une incidence réelle sur la qualité de la spermatogenèse surtout chez les chauffeurs.

### **4. Résidence :**

La plupart de nos patients résidaient à Bamako avec 77,77%.

Ce taux se rapproche de celui rapporté par certains auteurs :

**DOLO** (1997) ; **KOKAINA** (1998) et **OUATTARA** (2009) avec respectivement comme fréquence 80,8% ; 84% ; 85,5%.

Ce résultat de la forte résidence à Bamako pourrait s'expliquer par le fait que Bamako est la capitale ou se trouve concentrer la majorité des spécialistes pouvant faire face aux problèmes d'infertilité masculine mais aussi la majorité de la population qui a à leur disposition des laboratoires spécialisés. L'INRSP est le seul centre de référence publique pour la pratique des tests cytospermiologiques se trouvant à Bamako.

## 5. Habitude de vie :

Il ressort dans notre étude que 50% de nos avaient une exposition des testicules à la chaleur tandis que 38,88 % ne présentaient pas de comportement à risque.

## 6. Antécédents infectieux :

Au cours de notre étude, la majorité de nos patients étaient sans antécédents infectieux soit 50 %. Nous avons retrouvé aussi que les MST étaient considérables avec 27,78 %. Ce taux est supérieur à celui observé par Ouattara qui a trouvé 17 %.

## 7. Résultat du spermogramme :

### 7.1 Volume

Au cours de notre étude la majorité de nos patients avait un volume normal compris entre 2 – 6 ml avec 72,23 % et le reste des patients avaient un volume inférieur à 2 ml soit 22,22% de notre population d'étude. Ceci pourrait s'expliquer par un dysfonctionnement de la prostate et des vésicules séminales :

- Soit par une abstinence très courte.
- Soit par un problème de recueil incomplet du sperme.
- Soit par l'obstruction des canaux éjaculateurs
- Soit une éjaculation rétrograde partielle (dans la vessie).
- Soit l'hypogonadisme caractérisée par un déficit en testostérone entraîne une azoospermie avec hypospermie ou aspermie.
- Soit par la fréquence des rapports sexuels rapprochés

Seulement 5,55 % de nos patients avaient un volume supérieur à 6ml. Nous pouvons dire que ceci pourrait être en rapport avec le dépassement du délai d'abstinence supérieur à 5 jours, d'atteinte infectieuse des glandes annexes (vésicules séminales) ou, la prise de certains médicaments traditionnels. Donc 27,77 % des patients avaient présenté un volume anormal de sperme. Ce taux est comparable à ceux de

**COULIBALY** (2000), **SAMAKE** (2007) et Ouattara (2009) avec comme fréquences respectives 22,75 % ; 42 % ; 26 %

## **7.2 Viscosité :**

La majorité de nos patients avait présenté une viscosité normale du sperme avec 88,89 %. Ce taux est comparable à celui retrouvé par Samaké (2007) et de Ouattara soit respectivement 86% et 89%.

## **7.3 Numération :**

Les azoospermes étaient les plus représentés avec 94,45% pour seulement 5,55% d'oligoasthénospermies sévères.

## **8. Résultat de la PCR :**

Au total 18 sujets ont été inclus dans cette étude pilote tous suivis au service de reproduction Humaine de l'INRSP pour infertilité masculine. Ainsi 18 échantillons d'ADN provenant de ces sujets ont été testés pour délétion de gènes présents dans la zone chromosomique dite de Facteur d'azoospermie qui est divisé en 3 sous-régions qui sont AZFa, AZFb et AZFc situées Entre les parties proximale et distale du chromosome Yq. Au total, 9 paires de marqueurs Moléculaires ont été utilisés pour cribler les 2 sous-régions (AZFa et AZFc) la région hétéro- Chromatinienne mais aussi la partie subtélomérique de la zone Yp (sY14) servant de gène contrôle pour la qualité de la technique de PCR.

Au cours de notre étude nous avons identifié 17 sujets infertiles azoospermiques et un sujet oligospermique sévère. Sur ces 18 sujets un seul sujet a présenté une microdeletion indiquée par l'échec de l'amplification avec les marqueurs de la zone AZFc (sY154, sY254, sY283). Pour prouver cela, nous avons fait 3 amplifications successives qui ont toutes abouties à un échec. Ce taux de microdeletion était donc de 5,55% (1/18), cette valeur est supérieure à celle obtenue par **Sao PEDRO et coll.** (2003) qui ont utilisé les mêmes marqueurs que nous, de l'ordre de 3,33% (2/60),

mais ne s'écarte pas trop du taux de microdeletion observe chez les japonais infertiles qui était de 6,2% (**Khaile et Coll.**, 2004). C'est la première fois au Mali qu'on trouve une relation entre l'infertilité et la délétion dans la zone AZFc. La prévalence de microdeletion obtenue avec cet échantillon de 18 sujets se retrouve dans la fourchette de 1 à 35% établie par plusieurs études (Bonduelle et Coll., 1987; Simoni et Coll., 1999; **Choi et Coll.**, 2004 ; **Peter lin et Coll.**, 2000; **Foresta & Ferlin**, 2001). Cependant, **Khaile et Coll.** (2004) ne retrouvent pas de délétion chez les africains infertiles au cours de leur étude.

En plus, nous n'avons pas pu amplifier la zone hétéro chromatiniene qui se trouve en dehors de les régions AZF chez le sujet n°2 qui a présenté des délétions dans la zone AZFc, ce même résultat a été retrouvé chez les deux patients brésiliens de l'étude de **Sao PEDRO et Coll.** (2003) qui ont présenté eux aussi des délétions dans la zone AZFc (sY147, sY254, sY283). Nous n'avons pas utilise des marqueurs de la zone AZFb, mais les études qui ont été menées trouvent la plupart des délétions dans les zones AZFc, AZFa rarement dans la zone AZFb (**Sao PEDRO et Coll.**, 2003; Khaile et Coll., 2004).

Le dosage des hormones FSH, LH et testostérone a montré que le sujet n°2 ne présentait pas une azoospermie obstructive.

Nous pouvons donc suggérer que cette azoospermie non obstructive était liée à ces microdélétions qui apparaissent assez larges telles qu'observées dans la zone AZFc. En considérant ensemble toutes les données, nous pouvons suggérer que les microdélétions peuvent être associées à l'azoospermie mais d'autres facteurs interviendraient notamment les maladies inflammatoires surtout des testicules et de la prostate (**Yeboah et Coll.**, 1992) et les aberrations chromosomiques (**Nagvenkar et Coll.** 2005).

# CONCLUSION

## **CONCLUSION**

De cette étude, il ressort que :

- la microdeletion serait associée à un cas d'azoospermie au niveau de la sous région AZFc. Toutefois nous n'avons pas observé de microdeletion avec les autres 16 cas d'azoospermies.
- d'autres facteurs peuvent être associés à l'azoospermie notamment les maladies inflammatoires.
- Avec ce petit échantillon, la prévalence de la microdélétion serait de 5,55%. Une étude à grande échelle permettrait d'établir une prévalence plus précise.

# RECOMMANDATIONS

## **RECOMMANDATIONS**

Au terme de notre étude nous formulons les recommandations suivantes:

- **Aux autorités politico administratives et sanitaires**
  - L'équipement et la dotation des laboratoires de cytogénétiques et de biologie moléculaire appliquée en matériels et en personnels qualifiés.
  - Mettre en place un centre spécialisé pour la prise en charge thérapeutique des cas nécessitant un traitement
- **Au service de gynéco-obstétrique du CS Réf de la commune II**
  - Examen clinique de tous les sujets de l'échantillon
  - Mise en place d'une unité pour la prise en charge des conjoints de femmes consultantes pour stérilité du couple.
- **Au service de cytogénétique l'INRSP**
  - Augmenter la taille des échantillons pour les études ultérieures.
  - Réaliser le caryotype chez les sujets
  - Faire les dosages hormonaux (FSH, LH, Testostérone, prolactine) chez tous les sujets.
- **Au Laboratoire de Biologie moléculaire appliquée (LBMA)**
  - Mettre en place un système de financement pour les frais de synthèse des amorces et réactif.
  - Renforcer le système de commande des amorces et réactif ainsi que leur rapidité d'acheminement.
  - Réaliser un séquençage automatique direct.
- **Aux populations**
  - Sensibiliser les conjoints pour une meilleure observance des prescriptions faites dans l'exploration de la stérilité du couple.

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- 1) SãoPedro SL, Fraietta R, Spaine D, Porto CS, Srougi M, Cedenho AP, and Avellar MCW. 2003. **Prevalence of Y chromosome deletions in a Brazilian population of nonobstructive azoospermic and severely oligozoospermic men.** *Brazilian J. Med. and Biol. Res* ; 36: 787-793
- 2) **ALEXANDRE C** :Diagnostic et traitement des stérilités masculines. Immex Avril 1979.
- 3) Kihaille PE, Yasui A, and Shuto Y. 2005.**Prospective assessment of Y-chromosome microdeletions and reproductive outcomes among infertile couples of Japanese and African origin.** *Journal of Experimental & Clinical Assisted Reproduction*, 2:91743-1050-2-9
- 4) Nagvenkar+\*P,Desai\*K, Hinduja+\*I & Zaveri\*K. 2005.Chromosomal studies in infertile men with oligozoospermia & non-obstructive azoospermia .*Indian J Med Res* 122, July 2005, pp 34-42.
- 5) Premi S, Srivastava J, Chandy SP, Ali S.2009.[Unique signatures of natural background radiation on human Y chromosomes from Kerala, India](#);4(2):e4541.
- 6)Ng PP, Tang MH, Lau ET, Ng LK, Ng EH, Tam PC, Yeung WS, Ho PC.2009.[Chromosomal anomalies and Y-microdeletions among Chinese subfertile men in Hong Kong.](#) *Med J.Feb*;15(1):31-8.
- 7) **AUROUX M.**Infection uro-génitale et fertilité masculine.*J.Gynéco-obst. Biol. Reprod.* 1988, 17, P-869-875.
- 8) Lu HY, Cui YX, Shi YC, Xia XY, Shao Y, Yang B, Yao B, Ge YF, Huang YF.2008.[\[Observation of spermatogenic cells for infertile patients with Y-chromosomal microdeletion\]](#).*Nov*;14(11):998-1002.
- 9) Lu C, Zhang J, Li Y, Xia Y, Zhang F, Wu B, Wu W, Ji G, Gu A, Wang S, Jin L, Wang X.2009.[The b2/b3 subdeletion shows higher risk of spermatogenic failure and higher frequency of complete AZFc deletion than the gr/gr subdeletion in a Chinese population.](#)*Hum Mol Genet.* Mar 15;18(6):1122-30.
- 10) **BONGSO .TA., MOKSCNGH LIM .Mn., TEO. HL et al.** 1989.Effect of sperm mobility on human in vitro fertilization. *Archives of andrology*, 22: 185-190.
- 11) Xia XY, Yang B, Cui YX, Huang YF.2008.[\[Genetic causes of male infertility\]](#)*Sep*;14(9):837-41.

- 12) Zhu YJ, Liu SY, Wang H, Wei P, Ding XP.2008.[The prevalence of azoospermia factor microdeletion on the Y chromosome of Chinese infertile men detected by multi-analyte suspension array technology.](#)Asian J Androl. Nov;10(6):873-81.
- 13) Balkan M, Tekes S, Gedik A.2008.[Cytogenetic and Y chromosome microdeletion screening studies in infertile males with Oligozoospermia and Azoospermia in Southeast Turkey.](#)J Assist Reprod Genet. Nov-Dec;25(11-12):559-65.
- 14) CABROL C., KALHE W., LEONHARDT H., PLATZER W.Anatomie 2 viscères H. LEONHARDT. Edition française. 1979, p : 264-281.
- 15) Karaer A, Karaer K, Ozaksit G, Ceylaner S, Percin EF.2008.[Y chromosome azoospermia factor region microdeletions and recurrent pregnancy loss.](#) Am J Obstet Gynecol. Dec;199(6):662.e1-5.
- 16) CLAUDE HUMEAU., FRANCOISE ARNAL.Reproduction et Développement. 3<sup>ème</sup> Édition, Sauramps médical, 2007. p : 47-122. ISBN 2 84023557.
- 17) Bu Y, Huang H, Wu HP, Zhang XD, Zhou GH, Cui YX, Yao B, Lu HY, Xiang JY .2008.[\[Direct multiplex-PCR from whole blood for rapid detection of Y chromosome microdeletions\]](#) .Aug;25(4):406-9.
- 18) Cinar C, Yazici C, Ergünsu S, Beyazyürek C, Javadova D, Sağlam Y, Tarcan T, Güney AI.2008.[Genetic diagnosis in infertile men with numerical and constitutional sperm abnormalities.](#) Genet Test. Jun;12(2):195-202.
- 19) COHEN J.1980.Acquisitions thérapeutiques récentes dans les anomalies de la spermatogenèse et leur traitement. Médecine d’Afrique Noire.
- 20) Mitra A, Dada R, Kumar R, Gupta NP, Kucheria K, Gupta SK.2008.[Screening for Y-chromosome microdeletions in infertile Indian males: utility of simplified multiplex PCR.](#)Indian J Med Res. Feb;127(2):124-32.
- 21) Ge YS, Zhou YL, Wu HN.2008.[\[Molecular cytogenetic studies of 25 males with azoospermia\].](#) Apr;25(2):190-4.
- 22) CZYBA J.C., GIROD C., LAURENT J L.Le sperme. CML, 47, 11, p: 1289-1306.
- 23) DAVID G., BISSON JP., CZYGLIK F et al. 1975.Anomalie morphologique des spermatozoïdes humains. 1) Proposition pour un système de classification. J. Gyn. Obstet. Biol. Reprod., 4, suppl. I : 17-36.

- 24) Costa P, Gonçalves R, Ferrás C, Fernandes S, Fernandes AT, Sousa M, Barros A.2008.[Identification of new breakpoints in AZFb and AZFc.](#)  
Mol Hum Reprod. Apr;14(4):251-8.
- 25) DELAMARE J., DELAMARE F., GELS-MAL VILLEE., DELAMARE L. 2002. Dictionnaire des termes de médecine, 27eme Edition. Edition Maloine; Paris: 412;430;432;435;750.
- 26) Wang WP, Cui YX.2007.[\[Clinical significance and relevant laboratory techniques of detecting azoospermia factors of the Y chromosome\]](#)  
Dec;13(12):1117-20..
- 27) Sadeghi-Nejad H, Farrokhi F.2007.[Genetics of azoospermia: current knowledge, clinical implications, and future directions. Part II: Y chromosome microdeletions.](#)  
Urol J. Fall;4(4):192-206.
- 28) DOLO TIDIANE.1997.Etude de la stérilité conjugale dans le service de gynécologie et d'obstétrique du CHU du Point G.Thèse Med. Bamako, N°17.
- 29) Liu SY, Ding XP, Wei X, Wei P, Pan HR.2008.[\[Detection of Y chromosome microdeletions in AZF region by liquid chip technology\]](#)Feb;25(1):86-8.
- 30) Foote et al, 1992, Voltrath et al, 1992.
- 31) Hwang SH, Lee SM, Seo EJ, Choi KU, Park HJ, Park NC, Choi J, Lee EY.2007.[\[A case of male infertility with a reciprocal translocation t\(X;14\)\(p11.4;p12\)\]](#)Korean J Lab Med.Apr;27(2):139-42
- 32) FERNANDEZ H., VILLE Y. 1989.Prévention de la stérilité. Gynécologie-obstétrique Biol. Reprod. P-271-278.
- 33) GENEVIÉVE GRIZARD., CLÈMENTI JIMÉNEZ.1997.“ Les examens du sperme dans l'exploration de la fertilité masculine. Progrès en Urologie (1997), 7, 496-504.
- 34) Choe JH, Kim JW, Lee JS, Seo JT.2007.[Routine screening for classical azoospermia factor deletions of the Y chromosome in azoospermic patients with Klinefelter syndrome.](#)Asian J Androl. 2007 Nov;9(6):815-20.
- 35) HAMAMAH S., BARTHELEMY C.1997.Spermogramme et tests de fécondance : intérêt et limites .Article professionnel ; page 1-6.

- 36) Liu YF, Ou JP, Zhou CQ, Wang Q, Wang ZL .2007.[\[Screening for the microdeletions of azoospermia factor on the Y chromosome in male infertile patients from Guangzhou\]](#).Oct;24(5):564-6.
- 37) Ristanovic M, Bunjevacki V, Tulic C, Novakovic I, Nikolic A.2007.[Molecular analysis of Y chromosome microdeletions in idiopathic cases of male infertility in Serbia](#).Genetika. Jun;43(6):850-4.
- 38) Dada R, Kumar R, Shamsi MB, Sidhu T, Mitra A, Singh S, Kumar RSharma RS, Gupta SK, Gupta NP.2007.[Azoospermia factor deletions in varicocele cases with severe oligozoospermia](#). Indian J Med Sci. Sep;61(9):505-10.
- 39) Ozdemir O, Gul E, Kilicarslan H, Gokce G, Beyaztas FY, Ayan S, Sezgin I.2007.[SRY and AZF gene variation in male infertility: a cytogenetic and molecular approach](#). Int Urol Nephrol. 39(4):1183-9.
- 40) Mohammed F, Al-Yatama F, Al-Bader M, Tayel SM, Gouda S, Naguib KK. 2007.[Primary male infertility in Kuwait: a cytogenetic and molecular study of 289 infertile Kuwaiti patients](#). Andrologia. Jun;39(3):87-92.
- 41) KRUGER TF., ACOSTA AA., SIMMONS KF., et al.1987.A new method of evaluating sperm morphology avec predictive value for IVF. Urology, 30:284.
- 42) Meza-Vázquez HE, Rosas-Vargas H, Vite-Velázquez EJ, De Alba-Mayans AG.2007.[\[Case report. Patient with varicocele & oligozoospermia with Y chromosome microdeletion: AZFb+c\]](#)Actas Urol Esp. Mar;31(3):285-8.
- 43) LANGMAN J: (1984).Développement normal et pathologique. Embryologie médicale, Edition Masson P : 242-250.
- 44) Omrani MD, Samadzade S, Bagheri M, Attar K.2006.[Y chromosome microdeletions in idiopathic infertile men from west azarbaijan](#). Urol J. Winter;3(1):38-43.
- 45) Dinić J, Kusić J, Nikolić A, Divac A, Ristanović M, Radojković D.2007.[Analysis of Y chromosome microdeletions and CFTR gene mutations as genetic markers of infertility in Serbian men](#).Vojnosanit Pregl.Apr;64(4):253-6.
- 46) Ge Q, Liu Z, Bai Y, Zhang D, Yu P, Lu Z.2007.[Emulsion PCR-based method to detect Y chromosome microdeletions](#).Anal Biochem. Aug 15;367(2):173-8
  
- 47) Hung AJ, King P, Schlegel PN.2007.[Uniform testicular maturation arrest: a unique subset of men with nonobstructive azoospermia](#).J Urol. Aug;178(2):608-12; discussion 612.
- 48) OMS.1993.Manuel pour analyse du sperme humain et l'interaction des spermatozoïdes avec le mucus vaginal Editions INSERM, Paris .

- 49) Hu LP, Liu NH, Pan Q, Liang DS, Long ZG, Hu H, Zhu HY, Dai HP, Cai F, Wu LQ, Xia K, Xia JH 2007. [[Azoospermia factor microdeletion on Y chromosome in patients with idiopathic azoospermia or severe oligozoospermia](#)]. Apr;32(2):241-5.
- 50) PETER J.1991.Fécondation. L'obstétrique actuelle.Edit. Printed in France PSR, P-13-20.
- 51) Lardone MC, Parodi DA, Ebensperger M, Peñaloza P, Cornejo V, Valdevenito R, Pommer R, Castro A.2007.[AZFc partial deletions in Chilean men with severe spermatogenic failure](#).Fertil Steril. Nov;88(5):1318-26.
- 52) Hadjkacem-Loukil L, Ayadi I, Bahloul A, Ayadi H, Ammar-Keskes L.2007.[Tag STS in the AZF region associated with azoospermia in a Tunisian population](#).J Androl. Sep-Oct;28(5):652-8.
- 53) ROUVIERE H., DELMAS A.1992.Anatomie humaine, description topographique et fonctionnelle.Tome 2-Tronc.13eme édition, Paris, Milan, Barcelone, Bonn. Masson, p:564-596.
- 54) Mantas D, Angelopoulou R, Msaouel P, Plastira K.2007.[Evaluation of sperm chromatin quality and screening of Y chromosome microdeletions in Greek males with severe oligozoospermia](#).Arch Androl. Jan-Feb;53(1):5-8.
- 55) SANOGO CHAKA.2001.Stérilité masculine au service d'Urologie de l'Hôpital National du Point G à propos de 22 cas. Thèse Med, Bamako ; N°107.
- 56) SCHLOSSER J., NAKIB I., CARRE-PIGEON F., STAERMAN F.2006.Assessment of male infertility.Elsevier Masson SAS. Annale d'urologie N°40; page 349-354.
- 57) Fernández-Salgado E, Alvarez-Nava F, Borjas-Fajardo L, Osuna J, Gómez R, Zabala W, Zambrano M, Portillo-M MG 2006.[Molecular analysis of microdeletions of the Y chromosome in Venezuelan males with idiopathic infertility](#).Invest Clin. Dec;47(4):395-403.
- 58) Arredi B, Ferlin A, Speltra E, Bedin C, Zuccarello D, Ganz F, Marchina E, Stuppia L, Krausz C, Foresta C.2007.[Y-chromosome haplogroups and susceptibility to azoospermia factor c microdeletion in an Italian population](#). J Med Genet. Mar;44(3):205-8
- 59) Samli H, Murat Samli M, Solak M.2006.[Natural transmission of AZFb Y-chromosomal microdeletion from father to his three sons](#).Arch Androl. Nov-Dec;52(6):423-6.
- 60) Chernykh VB, Chukhrova AL, Beskorovaïnaia TS, Grishina EM, Sorokina TM, Shileïko LV, Gogolevskiï PA, Kalugina AS, Morina GV, Togobetskiï AS,

Tanevskiï VE, Zdanovskiï VM, Gogolevskaia IK, Kramerov DA, Poliakov AV, Kurilo LF.2006.[\[Types of Y chromosome deletions and their frequency in infertile men\]](#)Genetika. Aug;42(8):1130-6.

□

61)[http://fr.f277.mail.yahoo.com/ym/ShowLetter?MsgId=5597\\_5644...](http://fr.f277.mail.yahoo.com/ym/ShowLetter?MsgId=5597_5644...)Sperme et Spermocytogramme.

□

62) Ravel C, Chantot-Bastaraud S, McElreavey K, Siffroi JP.2006.[\[Molecular anomalies of the Y chromosome: Consequences on male fertility\]](#)

Gynecol Obstet Fertil. Oct;34(10):885-93.

□

63) Radpour R, Gourabi H, Gilani MA, Dizaj AV, Rezaee M, Mollamohamadi S.2006.[\[Two novel missense and one novel nonsense CFTR mutations in Iranian males with congenital bilateral absence of the vas deferens.\]](#)

Mol Hum Reprod. Nov;12(11):717-21.

□

64) Xia XY, Cui YX, Pan LJ, Hao LJ, Jin BF, Wu YM, Huang YF, Wang XL.2006.[\[Analysis of an AZFc deletion family with natural transmission\]](#) Aug;12(8):720-2.

□

65) Collodel G, Moretti E, Capitani S, Piomboni P, Anichini C, Estenoz M, Baccetti B.2006.[\[TEM, FISH and molecular studies in infertile men with pericentric inversion of chromosome 9.\]](#)Andrologia. Aug;38(4):122-7.

□

66) Plaseski T, Novevski P, Kocevaska B, Dimitrovski C, Efremov GD, Plaseska-Karanfilska D.2006.[\[AZF deletions in infertile men from the Republic of Macedonia.\]](#)Prilozi. Jul;27(1):5-16.

□

67) Song NH, Wu HF, Zhang W, Hua LX, Zhou ZM, Feng NH, Zhang J, Qiao D, Zhang JX.[\[Detection of Y chromosome microdeletions in patients with severe oligozoospermia and azoospermia.\]](#) May30; 86 (20):1376-80.

□

68) Krausz C, Degl'Innocenti S.2006.[\[Y chromosome and male infertility: update, 2006.\]](#)Sep 1;11:3049-61.

□

69) OMS Présentation de l'infertilité. Serono 2003-2004, P 1-2.

□

70) Carvalho CM, Zuccherato LW, Bastos-Rodrigues L, Santos FR, Pena SD.2006.[\[No association found between gr/gr deletions and infertility in Brazilian males.\]](#)Mol Hum Reprod.Apr;12(4):269-73

□

71) Zhu XB, Guo AL, Cao XR, Liu Y, Sun XX, Yao JE, Wang Y, Wang YX, Li Z.2006.[\[Screening for Y chromosomal microdeletions in AZF region with modified multiplex PCR.\]](#)Mar;12(3):199-201, 206.

□

72) Fukushima M, Koh E, Choi J, Maeda Y, Namiki M, Yoshida A.2006.[\[Reevaluation of azoospermic factor c microdeletions using sequence-tagged\]](#)

[site markers with confirmed physical positions from the GenBank database.](#)Fertil Steril. Apr;85(4):965-71.

- 73) Abdelmoula NB, Sallemi A, Chakroun N, Keskes L, Amouri A, Rebai T.2006.[Evaluation of DAZ microdeletions in 34 infertile men.](#)Arch Androl. May-Jun;52(3):175-8.
- 74) Hadj-Kacem L, Hadj-Kacem H, Ayadi H, Ammar-Keskes L, Chakroun-Fki N, Rebai T, Bahloul A, Mhiri MN.2006.[Screening of Y chromosome microdeletions in Tunisian infertile men.](#) Arch Androl. May-Jun;52(3):169-74.
- 75) Lee SH, Ahn SY, Lee KW, Kwack K, Jun HS, Cha KY.2006.[Intracytoplasmic sperm injection may lead to vertical transmission, expansion, and de novo occurrence of Y-chromosome microdeletions in male fetuses.](#) Fertil Steril.May;85(5):1512-5.
- 76) Zhou-Cun A, Yang Y, Zhang SZ, Zhang W, Lin L.2006.[Chromosomal abnormality and Y chromosome microdeletion in Chinese patients with azoospermia or severe oligozoospermia.](#) Feb;33(2):111-6.
- 77) Jia YF, Wu AH, Qiu Y, Qu JY, Song CZ .2006.[\[Azoospermia factor microdeletions in idiopathic azoospermia and severe oligozoospermia\]](#) Feb;12(2):108-11.
- 78) Dada R, Gupta NP, Kucheria K.2006.[Cytogenetic and molecular analysis of male infertility: Y chromosome deletion during nonobstructive azoospermia and severe oligozoospermia.](#)Cell Biochem Biophys;44(1):171-7.
- 79) Hellani A, Al-Hassan S, Iqbal MA, Coskun S.2006.[Y chromosome microdeletions in infertile men with idiopathic oligo- or azoospermia.](#) J Exp Clin Assist Reprod. Jan 30;3:1.
- 80) Mitra A, Dada R, Kumar R, Gupta NP, Kucheria K, Gupta SK.2006.[Y chromosome microdeletions in azoospermic patients with Klinefelter's syndrome.](#)Asian J Androl. Jan;8(1):81-8.
- 81) Fernando L, Gromoll J, Weerasooriya TR, Nieschlag E, Simoni M.2006.[Y-chromosomal microdeletions and partial deletions of the Azoospermia Factor c \(AZFc\) region in normozoospermic, severe oligozoospermic and azoospermic men in Sri Lanka.](#) Asian J Androl. Jan;8(1):39-44.
- 82) Isidoro-García M, González-Sarmiento R, Cordero M, García-Macías C, Corrales-Hernández JJ, Miralles-García JM.2005.[\[Study of AZF regions of Y chromosome in males with idiopathic infertility. Analysis of two methods of molecular diagnosis\]](#)Med Clin (Barc). Nov 26;125(19):731-3.

- 83) Sills ES, Kim JJ, Witt MA, Palermo GD.2005.[Non-obstructive azoospermia and maturation arrest with complex translocation 46,XY t\(9;13;14\)\(p22;q21.2;p13\) is consistent with the Luciani-Guo hypothesis of latent aberrant autosomal regions and infertility](#).Cell Chromosome. Sep 14;4:2.
- 84) Stipoljev F, Vujisić S, Parazajder J, Hafner D, Jezek D, Sertić J.2006.[Cytogenetic analysis of azoospermic patients: karyotype comparison of peripheral blood lymphocytes and testicular tissue](#).Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. Feb 1;124(2):197-203.
- 85) Song NH, Wu HF, Zhang W, Zhuo ZM, Qian LX, Hua LX, Guo L, Feng NH.2005.[Screening for Y chromosome microdeletions in idiopathic and nonidiopathic infertile men with varicocele and cryptorchidism](#).Chin Med J (Engl). Sep 5;118(17):1462-7.
- 86) Nagvenkar P, Desai K, Hinduja I, Zaveri K.2005.[Chromosomal studies in infertile men with oligozoospermia & non-obstructive azoospermia](#).  
Indian J Med Res. Jul;122(1):34-42.
- 87) Lin YW, Thi DA, Kuo PL, Hsu CC, Huang BD, Yu YH, Vogt PH, Krause W, Ferlin A, Foresta C, Bienvenu T, Schempp W, Yen PH.2005.[Polymorphisms associated with the DAZ genes on the human Y chromosome](#).Genomics.Oct;86(4):431-8.
- 88) Tunç L, Alkibay T, Küpeli B, Tokgöz H, Bozkirli I, Yücel C.[Power Doppler ultrasound mapping in nonobstructive azoospermic patients prior to testicular sperm extraction](#).Arch Androl. 2005 Jul-Aug;51(4):277-83. Erratum in: Arch Androl. 2006 Jan-Feb;52(1):79. Aygün, C .
- 89) Kihaille PE, Yasui A, Shuto Y.2005.[Prospective assessment of Y-chromosome microdeletions and reproductive outcomes among infertile couples of Japanese and African origin](#).J Exp Clin Assist Reprod. Jun 29;2:9.
- 90) De Palma A, Burrello N, Barone N, D'Agata R, Vicari E, Calogero AE.2005.[Patients with abnormal sperm parameters have an increased sex chromosome aneuploidy rate in peripheral leukocytes](#).Hum Reprod. Aug;20(8):2153-6. Epub 2005 May 5.
- 91) Wang LQ, Huang HF, Jin F, Qian YL, Cheng Q.[High frequency of Y chromosome microdeletions in idiopathic azoospermic men with high follicle-stimulating hormone levels](#).
- 92) Cui XF, Xing JP, Sun JH, Zhang Z, Wang XY.2005.[\[Analysis of Yq microdeletions in idiopathic infertile males with azoospermia and oligospermia in Shaanxi Province\]](#). Mar;11(3):185-8. Chinese.

- **93)** Stouffs K, Lissens W, Tournaye H, Van Steirteghem A, Liebaers I.2005.[The choice and outcome of the fertility treatment of 38 couples in whom the male partner has a Yq microdeletion.](#)Hum Reprod. Jul;20(7):1887-96. Epub 2005 Mar 24.
- **94)** Vogt PH.2005.[Azoospermia factor \(AZF\) in Yq11: towards a molecular understanding of its function for human male fertility and spermatogenesis.](#)Reprod Biomed Online. Jan;10(1):81-93.
- **95)** Lutke Holzik MF, Storm K, Sijmons RH, D'hollander M, Arts EG, Verstraaten ML, Sleijfer DT, Hoekstra HJ.2005.[Absence of constitutional Y chromosome AZF deletions in patients with testicular germ cell tumors.](#)Urology. Jan;65(1):196-201.
- **96)** Castro A, Zambrano N, Kaune H, Madariaga M, López P, Mericq V.2004.[YqTER deletion causes arrest of spermatogenesis in early puberty.](#)J Pediatr Endocrinol Metab. Dec;17(12):1675-8.
- **97)** Chiang HS, Yeh SD, Wu CC, Huang BC, Tsai HJ, Fang CL.2004.[Clinical and pathological correlation of the microdeletion of Y chromosome for the 30 patients with azoospermia and severe oligoasthenospermia.](#)Asian J Androl. Dec;6(4):369-75.
- **98)** Fedder J, Crüger D, Oestergaard B, Petersen GB.2004.[Etiology of azoospermia in 100 consecutive nonvasectomized men.](#)Fertil Steril. Nov;82(5):1463-5.
- **99)** Thonneau et al, 1991, Abma et al, 1997
- **100)** Hucklenbroich K, Gromoll J, Heinrich M, Hohoff C, Nieschlag E, Simoni M.2005.[Partial deletions in the AZFc region of the Y chromosome occur in men with impaired as well as normal spermatogenesis.](#)Hum Reprod. Jan;20(1):191-7. Epub 2004 Oct 21.
- **101)** Dhillon VS, Husain SA.2003.[Cytogenetic and molecular analysis of the Y chromosome: absence of a significant relationship between CAG repeat length in exon 1 of the androgen receptor gene and infertility in Indian men.](#)Int J Androl. Oct;26(5):286-95.
- **102:** Cruger DG, Agerholm I, Byriel L, Fedder J, Bruun-Petersen G.2003.[Genetic analysis of males from intracytoplasmic sperm injection couples.](#)Clin Genet. Sep;64(3):198-203.

- **103)** Frydelund-Larsen L, Vogt PH, Leffers H, Schadwinkel A, Daugaard G, Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E.2003.[No AZF deletion in 160 patients with testicular germ cell neoplasia](#). Mol Hum Reprod. Sep;9(9):517-21.
- **104)** Kolárová J, Vrtěl R, Vodicka R, Capková P, Santavý J.2003.[\[Microdeletion of the azoospermia factor as one of the causes of male infertility\]](#) ;142(4):211-5. Review. Czech.
- **105)** Thangaraj K, Gupta NJ, Pavani K, Reddy AG, Subramainan S, Rani DS, Ghosh B, Chakravarty B, Singh L.2003.[Y chromosome deletions in azoospermic men in India](#).J Androl. Jul-Aug;24(4):588-97.
- **106)** Réseau GENET d'enseignement en Génétique  
Les outils de génétique moléculaire  
[http://genet.univ-tours.fr/fichiers\\_de\\_base/gen001300.HTM](http://genet.univ-tours.fr/fichiers_de_base/gen001300.HTM)
- **107)** Raicu F, Popa L, Apostol P, Cimponeriu D, Dan L, Ilinca E, Dracea LL, Marinescu B, Gavrilă L.2003.[Screening for microdeletions in human Y chromosome--AZF candidate genes and male infertility](#).J Cell Mol Med. Jan-Mar;7(1):43-8.
- **108)** Vogt PH, Fernandes S.2003.[Polymorphic DAZ gene family in polymorphic structure of AZFc locus: Artwork or functional for human spermatogenesis?](#)  
APMIS. Jan;111(1):115-26; discussion 126-7.
- **109)** Tse JY, Wong EY, Cheung AN, O WS, Tam PC, Yeung WS.2003.[Specific expression of VCY2 in human male germ cells and its involvement in the pathogenesis of male infertility](#). Biol Reprod. Sep;69(3):746-51. Epub 2003 Apr 30.
- **110)** Kurinczuk JJ.2003.[Safety issues in assisted reproduction technology. From theory to reality--just what are the data telling us about ICSI offspring health and future fertility and should we be concerned?](#)Hum Reprod.May;18(5):925-31. Review.
- **111)** Dada R, Gupta NP, Kucheria K.2003.[Molecular screening for Yq microdeletion in men with idiopathic oligozoospermia and azoospermia](#). J Biosci. Mar;28(2):163-8.
- **112)** Calleja Macías IE, Martínez Garza SG, Gallegos Rivas MC, Ortíz López R, Gómez Guerra L, Barrera Saldaña HA, Gutiérrez Gutiérrez AM.2003.[\[Y chromosome micro-deletion identification in infertile males\]](#).Ginecol Obstet Mex. Jan;71:25-31.
- **113)** Feng HL.2003.[Molecular biology of male infertility](#).Arch Androl. Jan-Feb;49(1):19-27.

- **114)** Bor P, Hindkjaer J, Kølvrå S, Ingerslev HJ.2003.[A new approach for screening for Y microdeletions: capillary electrophoresis combined with fluorescent multiplex PCR.](#)J Assist Reprod Genet. Jan;20(1):46-51.
- **115)** García Rodríguez J, Martín Benito JL, Rodríguez Martínez JJ, Jalón Monzón A, Rodríguez Faba O, Fernández Gómez JM, Regadera Sejas J.2002.[\[Infertility caused by AZF microdeletions. A new case of azoospermia\].](#)Actas Urol Esp. Nov-Dec;26(10):801-3.
- **116)** Lee S, Kim NK, Kim HJ, Lee SH, Jeong HJ, Cha KY.2003.[Genetic analysis of three polymorphic sites of the luteinizing hormone beta-subunit gene in infertile Korean men with nonobstructive azoospermia.](#)Fertil Steril. Mar;79(3):517-21.
- **117)** Quilter CR, Svennevik EC, Serhal P, Ralph D, Bahadur G, Stanhope R, Sütterlin M, Delhanty JD, Taylor KE.2003. [Cytogenetic and Y chromosome microdeletion screening of a random group of infertile males.](#)  
Fertil Steril. Feb;79(2):301-7.
- **118)** Ferlin A, Moro E, Rossi A, Dallapiccola B, Foresta C.2003.[The human Y chromosome's azoospermia factor b \(AZFb\) region: sequence, structure, and deletion analysis in infertile men.](#)J Med Genet. Jan;40(1):18-24.
- **119)** Babu SR, Swarna M, Padmavathi P, Reddy PP.2002.[PCR analysis of Yq microdeletions in infertile males, a study from South India.](#)Asian J Androl. Dec;4(4):265-8.
- **120)** Dada R, Gupta NP, Kucheria K.2002.[AZF microdeletions associated with idiopathic and non-idiopathic cases with cryptorchidism and varicocele.](#)  
Asian J Androl. Dec;4(4):259-63.

# ANNEXES

## **FICHE SIGNALÉTIQUE DE LA THESE**

**Nom** : DOUMBIA

**Prénoms** : Cheick Hamala

**Titre de la thèse** : Mise en évidence par PCR des microdélétions du chromosome Y chez des personnes azoospermiques au MALI

**Année** : 2009 – 2010

**Pays** : MALI

**Lieu de dépôt** : Bibliothèque de la Faculté de Médecine Pharmacie et d'Odontostomatologie(FMPOS). Université de Bamako

**Secteur d'intérêt** : Génétique de la stérilité masculine, biologie moléculaire, santé publique

**Résumé** : Nous avons déterminé la prévalence des microdélétions sur le chromosome Y dans une population de 18 Maliens azoospermie et oligospermie sévère. Le dépistage par PCR de ces microdélétions se fait à partir de l'ADN du sang périphérique due à la localisation à ce niveau de 14 sous régions AZF.

Dans l'ensemble des 1 sur 18 patients infertiles testés (5,55%) a montré une délétion du chromosome Y. un d'entre eux était oligozoospermique sévère. Le seul patient ayant présenté une microdélétions concernait la sous région AZFc.

Nos données s'ajoutent à celle de la littérature par montrer que les microdélétions sur le chromosome Y peuvent être une cause d'infertilité masculine idiopathique.

# SERMENT D'HIPPOCRATE

## SERMENT D'HIPPOCRATE

*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 seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.*

*Je ne permettrai pas que des 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 mes maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.*

*Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.*

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

**JE LE JURE.**