

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université Frères Mentouri
Constantine

1

Université des Frères Mentouri Constantine 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biochimie-Biologie Cellulaire et Moléculaire

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم الكيمياء الحيوية - البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Mémoire présentée en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Physiologie Cellulaire et PhysioPathologie (PCPP)*

Intitulé :

Azoospermie Non Obstructive : Facteurs Prédicatifs De L'injection Intra-Cytoplasmique Des Spermatozoïdes (ICSI)

Présenté et soutenu par : Milat Housseem Eddine

le 10 / 07 / 2019

Jury d'évaluation :

- ✚ **Président** : Pr.Rouabah. A Université Frères Mentouri Constantine 1
- ✚ **Encadrants** : Pr.Rouabah. L Université Frères Mentouri Constantine 1
Dr.Zoghmar. A Clinique IBN ROCHD
- ✚ **Examinatrice** : Dr.Ounis. L Université Frères Mentouri Constantine 1

Année universitaire 2018-2019

Remerciements

C'est avec respect que je m'adresse mes remerciements les plus sincères à l'égard de mon encadreur chef de filière Mme. ROUABAH. L (professeur à l'université Constantine 1) Honorable maitre et mon maitre de toujours qui sans relâche m'a guidé, encouragé et conseillé, j'ai eu la chance de bénéficier votre enseignement. De même, je compose mes remerciements à mon 2ème encadreur Mr. Zoughmar. A (docteur au service de reproduction, IBN ROCHD), qui m'avez fait l'honneur d'accepter de m'encadrer. Votre simplicité. Votre contact facile, votre disponibilité, votre patience.

Mes sincères remerciements et ma gratitude vont aussi à Mr. ROUABAH. A (président de jury) (professeur à l'université Constantine 1), pour avoir accepté de juger ce travail et d'en présider le jury. J'adresse mes vifs remerciements au Dr. Benbouhedja le directeur de la clinique Ibn Rochd qui m'a autorisé à réaliser ce travail au sein de la clinique, je le remercie pour l'intérêt réservé à la recherche, Au DR. OUNIS. L pour avoir accepté d'examiner ce travail. J'aimerais exprimer toute ma gratitude à Mr. DJOUDI. B (docteur à l'université Constantine 1) et au Dr. hachemi. M, pour leur serviabilité et leur générosité. De même, je remercie tous les Profs de notre spécialité PCPP ainsi que toutes personnes qui ont participés de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Dédicace

A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai Pu, Réaliser ce travail que je dédie :

♥ Ma mère ♥

♥ Mon père ♥

♥ Ma sœur ♥

♥ Tous les membres de ma famille, petits et grands ♥

♥ Tous mes Chères Amis ♥

♥ Et tout le groupe de PCPP ♥

Résumé

Introduction :

La première opération réussie de récupération des spermatozoïdes en combinaison avec l'injection de sperme intracytoplasmique (ICSI) a été rapportée en 1994. L'utilisation des spermatozoïdes récupérés chirurgicalement du testicule ou épидидyme avec l'ICSI est devenue possible pour les patients atteints d'azoospermie.

Objectif :

Etudier les facteurs qui pourraient être des prédicteurs de succès de l'ICSI chez les patients atteints d'azoospermie non obstructive (Âge, taux de FSH, de LH, de testostérone, volume testiculaire, présence de varicocèle, histologie testiculaire et l'utilisation de la pentoxifylline).

Matériel et méthodes :

Il s'agit d'une étude rétrospective menée sur 138 patients qui ont tous fait une ICSI avec des spermatozoïdes issus d'une biopsie testiculaire (TESE) pour une assistance médicale à la procréation (PMA). Les critères étudiés sont : l'âge, taux de FSH, de LH, de testostérone, volume testiculaire, présence de varicocèle, le diagnostic histologique et les facteurs des femmes des patients.

L'étude de la relation entre les facteurs prédictifs et le résultat d'ICSI est faite par une analyse statistique par SPSS.

Résultat :

Les facteurs masculins n'ont aucun impact sur les résultats de l'ICSI sauf l'utilisation de la pentoxifylline et les facteurs féminins qui ont une relation significative avec les résultats d'ICSI.

Discussion – conclusion :

Une fois les spermatozoïdes sont trouvés à partir d'une biopsie testiculaire, cela suffit pour faire une ICSI. Il faut juste vérifier que les spermatozoïdes sont vivants avec la pentoxifylline avant l'injection.

Mots clés :

Infertilité masculin, Azoospermie non obstructive, injection intracytoplasmique de spermatozoïdes, ICSI, pentoxifylline.

Abstract

Introduction:

The first successful surgical sperm retrieval in combination with intracytoplasmic sperm injection (ICSI) was reported in 1994. The use of surgically retrieved sperm from the testis or epididymis with ICSI has now made it possible for patients with non-obstructive azoospermia.

Objective:

To assess the effect of: male age, (FSH, LH and testosterone) level, testicular histopathology and the use of pentoxifylline also female factors on the intracytoplasmic sperm injection (ICSI) cycle outcome in men with azoospermia.

Materials and methods:

We did a retrospective study of 136 patients who have all had an ICSI with testicular biopsy (TESE) spermatozoa for medically assisted procreation (MAP). The criteria studied are: age, FSH level, LH, testosterone, testicular volume, presence of varicocele, histological diagnosis and women's factors of patients.

The study of the relationship between the predictive factors and the ICSI result is made by a varied and multi-varied Pearson analysis.

Result:

Male factors have no impact on the results of ICSI except the use of pentoxifylline and female factors that have a significant relationship with ICSI outcomes.

Discussion – conclusion:

Once the sperm found from a testicular biopsy, that's enough to make an ICSI. Just check that sperm are alive with pentoxifylline before injection.

Keywords:

Male infertility, Non-obstructive azoospermia, intracytoplasmic sperm injection (ICSI), pentoxifylline.

المخلص

المقدمة :

تم الإبلاغ عن أول عملية ناجحة لاسترجاع الحيوانات المنوية بالاقتران مع حقن الحيوانات المنوية داخل السيتوبلازم (ICSI) في عام 1994. إن استخدام الحيوانات المنوية المستعادة جراحياً من الخصية أو البربخ مع الحقن المجهري أصبح ممكن الآن للمرضى الذين يعانون من فقد النطاف.

الهدف :

درس العوامل التي يمكن أن تكون تنبؤات لنجاح الحقن المجهري في المرضى الذين يعانون من نقص تنسج الدم غير الانسدادى (العمر، مستوى هرمون FSH، حجم الخصية، وجود دوالي الخصية، الأنسجة الخصية واستخدام البنتوكسيفيلين).

عينة الدراسة :

هذه دراسة بأثر رجعي على 136 مريضاً عانوا جميعاً من الحقن المجهري مع الحيوانات المنوية من خزعة الخصية للمساعدة الطبية في الإنجاب. المعايير التي تمت دراستها هي: العمر، ومستوى FSH، LH، التستوستيرون، حجم الخصية، وجود دوالي الخصية، التشخيص النسيجي وعوامل المرأة للمرضى. يتم إجراء دراسة للعلاقة بين العوامل التنبؤية ونتيجة ICSI من خلال تحليل بيرسون متنوع ومتعددة.

النتائج :

لا تؤثر العوامل الذكورية على نتائج الحقن المجهري إلا باستخدام البنتوكسيفيلين والعوامل الأنثوية التي لها علاقة كبيرة بنتائج الحقن المجهري.

الخاتمة:

بمجرد العثور على الحيوانات المنوية من خزعة الخصية، هذا يكفي لصنع الحقن المجهري. فقط يجب التأكد من أن الحيوانات المنوية حية مع البنتوكسيفيلين قبل الحقن.

الكلمات المفتاحية:

العقم عند الذكور، نقص النطاف غير الانسدادى، حقن الحيوانات المنوية داخل الخلايا. البنتوكسيفيلين،

Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

Partie I : synthèse bibliographique

Chapitre I : Anatomie et histo-physiologie de l'appareil génital masculin

I. L'appareil de reproduction masculin.....	2
I.1. Les testicules.....	2
I.1.1. Les tubules séminifères.....	3
I.1.2. Le tissu interstitiel.....	3
II. La spermatogénèse.....	4
II.1. La phase proliférative.....	4
II.2. La phase de maturation nucléaire ou méiotique.....	5
II.3. La spermiogénèse.....	5
II.3.1. La biogenèse de l'acrosome.....	6
II.3.2. L'hyper compaction de la chromatine.....	6
II.3.3. La formation du flagelle.....	7
II.3.4. L'élimination du reste cytoplasmique.....	7
II.4. Le contrôle neuroendocrinien de la spermatogénèse.....	7

Chapitre II : Infertilité masculine se traduisant par

une Azoospermie non-obstructive

I. Définition d'infertilité.....	9
II. Epidémiologie.....	9
III. Infertilité masculine.....	9
IV. Les étiologies de l'infertilité masculine.....	9

IV.1. Les anomalies du volume.....	9
IV.1.1. L'Aspermie.....	9
IV.1.2. L'Hypospermie.....	9
IV.1.3. L'Hyperspermie.....	10
IV.2. Anomalie de la mobilité.....	10
IV.3. Les anomalies du nombre des spermatozoïdes.....	10
IV.3.1. L'azoospermie.....	10
IV.3.2. La cryptozoospermie.....	10
IV.3.3. L'Oligozoospermie.....	10
IV.3.4. La Polyzoospermie.....	10
IV.4. Anomalie de la vitalité.....	10
IV.5. Anomalie de la morphologie.....	11
V. l'Azoospermie.....	11
V.1. L'azoospermie obstructive.....	11
V.1.1. Définition.....	11
V.1.2. Étiologie d'azoospermie obstructive.....	11
V.1.2.1. Les infections Uro-génitale.....	11
V.1.2.2. Agénésie bilatérales des canaux déférents (ABCD).....	12
V.1.2.3. Le syndrome de Young.....	12
V.2. Azoospermie non- obstructive.....	12
V.2.1. Définition.....	12
V.2.2. Les différentes étiologies d'azoospermie non-obstructive.....	12
V.2.2.1. Les causes pré-testiculaires.....	12
V.2.2.2. Les causes testiculaires.....	12

V.2.2.2.1. Les facteurs non génétiques.....	12
V.2.2.2.2. Les facteurs génétiques.....	13
VI. Prise en charge des patients atteints d’Azoospermie-non-obstructive.....	14
VI.1. Examen clinique.....	14
VI.2. Analyse du sperme.....	15
VI.3. Dosage des bio-marqueurs séminaux.....	35
VI.4. Exploration hormonale de l’axe gonadotrope.....	15
VI.5. Bilan radiologique.....	16
VI.6. Investigations génétiques.....	16
VI.7. Extraction chirurgicale des spermatozoïdes.....	17
VII. Perspective thérapeutique.....	18
VII.1. Insémination artificielle.....	18
VII.2. Fécondation in vitro (FIV).....	18
VII.3. FIV avec micro-injection intracytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI).....	18

Partie II : Partie Pratique

Chapitre III : Matériel et Méthodes

I. Présentation de la population cible.....	19
I.1. Le groupe d’étude.....	19
I.2. Critères d’inclusion des patients.....	19
I.3. Critères d’exclusion des patients.....	19
II. Techniques d’examens du sperme.....	19
II.1. Le spermogramme.....	19
II.1.1. Définition.....	19
II.1.2. Méthodologie.....	19

II.1.2.1. Prélèvement.....	19
II.2.1.2. Liquéfaction.....	20
II.2.1.3. Examen macroscopique.....	20
II.2.1.4. Examen microscopique.....	21
III. Technique de l'ICSI.....	22
III.1 Le recueil des gamètes.....	22
III.1.1 Le recueil des spermatozoïdes.....	22
III.1.2. Recueil des ovocytes.....	23
III.1.2.1. Stimulation et ponction.....	23
III.1.2.2 Traitement ovocyte.....	23
III.2. Fécondation in vitro.....	24
III.3. Culture Embryonnaire.....	25
IV. Phase lutéale et test de grossesse.....	26

Chapitre IV : résultats et interprétations

I. Etude descriptive.....	27
II. Etude statistique.....	55

Chapitre V : Discussion

Discussion.....	63
Conclusion.....	67
Perspectives et Recommandations.....	68

<i>Références</i>	69
--------------------------	----

ANNEXES

Liste des abréviations

ABCD : Agénésie bilatérale congénitale des canaux différentiels

ABP : AndrogenBindingprotein

ADM : Arrêt de maturation

ADN : Acide désoxyribonucléique

AMH : Hormone Anti Mûllérienne

ANO : Azoospermie non obstructive

AO : Azoospermie obstructive

AZF : Azoospermia factor

BHT : Barrière hémato-testiculaire

CFA : Compte des follicules antraux

CFTR: Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator

Cm : Centimètre

FIV : Fécondation in vitro

FSH : L'hormonefolliculo-stimulante

G0 : Ground zero

GnRH : Gonadotrophine Releasing Hormone

HcG : Hormone chorionique gonadotrope

IA : Insémination artificielle

ICSI : Intra CytoplasmicSperm Injection

IIC : Insémination intra-cervicale

IIU : Insémination intra-utérine

LH : Hormone lutéinisante

Mb : Mégabase

MESA : Microsurgicalepididymalsperm aspiration

min : Minute

ml : Millilitre

OMS : Organisation mondiale de la santé

OS : Oligozoospermie sévère

PESA : Percutaneousepididymalsperm aspiration

PH : Potentiel hydrogène

PMA : Procréation médicalement assistée

PVP : Polyvinylpyrrolidone

SCO : Sertoli Cells Only Syndrom

TESA : Percutaneous testicular sperm aspiration

TESE : Testicule Sperme Extraction

TNP : Protéines de transition nucléaire

UI : Unité international

µl : Microlitre

µm : Micromètre

% : pour cent

Liste des figures

- Figure. 1** : Anatomie du testicule
- Figure. 2** : Description générale de la spermatogenèse
- Figure. 3** : Développement des cellules germinales en post-natal chez l'humain
- Figure. 4** : Principales modifications structurales lors de la spermiogénèse
- Figure. 5** : Remplacement des histones par les protamines et hypercompaction de la chromatine spermatique
- Figure. 6** : Régulation hormonale de spermatogenèse
- Figure. 7** : Représentation schématique du chromosome Y et de la région AZF ainsi que des trois sous régions AZF a, b, c et des principaux gènes compris dans chacune des sous-régions
- Figure. 8** : Les étapes de l'examen de la mobilité
- Figure. 9** : Microscope avec l'équipement de micromanipulation et les micro-injecteurs
- Figure. 10** : Vue supérieure proche d'une partie de microscope montrant la plaque métallique électriquement chauffée sur laquelle la boîte contenant les gamètes est placée
- Figure. 11** : Injection d'un seul spermatozoïde mobile dans le cytoplasme ovocytaire (ICSI)
- Figure. 12** : Répartition des patients selon les tranches d'âge
- Figure. 13** : Répartition des patients selon le taux de FSH
- Figure. 14** : Répartition des patients selon le volume testiculaire
- Figure. 15** : Répartition des patients selon la quantité des spermatozoïdes
- Figure. 16** : Répartition des patients selon l'utilisation de la pentoxifylline
- Figure. 17** : Répartition des patients selon le diagnostic histologique
- Figure. 18** : Répartition des patients selon les résultats d'ICSI
- Figure. 19** : Répartition des patients selon les tranches d'âge et les résultats d'ICSI
- Figure. 20** : Répartition des patients selon le taux de FSH et les résultats d'ICSI
- Figure. 21** : Répartition des patients selon le volume testiculaire et les résultats d'ICSI
- Figure. 22** : Répartition des patients selon la varicocèle et les résultats d'ICSI
- Figure. 23** : Répartition des patients selon la quantité des spermatozoïdes et les résultats d'ICSI

- Figure. 24** : Répartition des patients selon le type histologique et les résultats d'ICSI
- Figure. 25** : Répartition des patients selon la pentoxifylline et les résultats d'ICSI
- Figure. 26** : Répartition des femmes des patients selon les tranches d'âge et les résultats d'ICSI
- Figure. 27** : Répartition des femmes des patients selon le nombre des ovocytes matures et les résultats d'ICSI
- Figure. 28** : Répartition des patients selon le nombre des embryons obtenus et les résultats d'ICSI
- Figure. 29** : Répartition des patients selon le nombre des embryons transférés et les résultats d'ICSI
- Figure. 30** : Répartition des patients selon la qualité embryonnaire et les résultats d'ICSI
- Figure. 31** : Répartition des patients selon le taux de FSH, le type histologique et les résultats d'ICSI
- Figure. 32** : Répartition des patients selon la pentoxifylline, le type histologique et les résultats d'ICSI
- Figure. 33** : Répartition des patients selon le nombre des ovocytes matures, la pentoxifylline et les résultats d'ICSI
- Figure. 34** : Répartition des patients selon le taux de FSH, le nombre d'embryons transférés et les résultats d'ICSI
- Figure. 35** : Répartition des patients selon le nombre des embryons transférés, le type histologique et les résultats d'ICSI
- Figure. 36** : Répartition des patients selon le taux de FSH, la qualité embryonnaire et les résultats d'ICSI
- Figure. 37** : Répartition des patients selon la qualité embryonnaire, le type histologique et les résultats d'ICSI

Liste des tableaux

- Tableau. 1** : Limites inférieures de référence des paramètres du sperme humain
- Tableau. 2** : statistiques descriptives des patients selon l'Age
- Tableau. 3** : Répartition des patients selon le taux de FSH
- Tableau. 4** : Répartition des patients selon le taux de LH
- Tableau. 5** : Répartition des patients selon le taux de Testostérone
- Tableau. 6** : Répartition des patients selon la présence de varicocèle
- Tableau. 7** : Répartition des patients selon la quantité des spermatozoïdes
- Tableau. 8** : Répartition des patients selon l'utilisation de la pentoxifylline
- Tableau. 9** : Répartition des patients selon le diagnostic histologique
- Tableau. 10** : statistiques descriptives des patients selon l'Age des femmes
- Tableau. 11** : Répartition selon l'âge des femmes des patients
- Tableau. 12** : Répartition des patients selon le nombre des ovocytes matures des femmes
- Tableau. 13** : Etude descriptive des patients selon le nombre des embryons obtenus
- Tableau. 14** : Répartition des patients selon le nombre des embryons obtenus
- Tableau. 15** : Répartition des patients selon le nombre des embryons transférés
- Tableau. 16** : Répartition des patients selon la qualité embryonnaire
- Tableau. 17** : Répartition des patients selon les résultats d'ICSI
- Tableau. 18** : Répartition des patients selon les tranches d'âge et les résultats d'ICSI
- Tableau. 19** : Répartition des patients selon le taux de FSH et les résultats d'ICSI
- Tableau. 20** : Répartition des patients selon le volume testiculaire et les résultats d'ICSI
- Tableau. 21** : Répartition des patients selon la varicocèle et les résultats d'ICSI
- Tableau. 22** : Répartition des patients selon la quantité des spermatozoïdes et les résultats d'ICSI
- Tableau. 23** : Répartition des patients selon le type histologique et les résultats d'ICSI
- Tableau. 24** : Répartition des patients selon la pentoxifylline et les résultats d'ICSI
- Tableau. 25** : Répartition des patients selon l'âge de leurs femmes et les résultats d'ICSI

- Tableau. 26** : Répartition des patients selon le nombre des ovocytes matures de leurs femmes et les résultats d'ICSI
- Tableau. 27** : Répartition des patients selon le nombre des embryons obtenus et les résultats d'ICSI
- Tableau. 28** : Répartition des patients selon le nombre des embryons transférés et les résultats d'ICSI
- Tableau. 29** : Répartition des patients selon la qualité embryonnaire et les résultats d'ICSI
- Tableau. 30** : Répartition des patients selon le taux de FSH, type histologique et les résultats d'ICSI
- Tableau. 31** : Répartition des patients selon l'âge, la pentoxifylline et les résultats d'ICSI
- Tableau. 32** : Répartition des patients selon le diagnostic histologique, la pentoxifylline et les résultats d'ICSI
- Tableau. 33** : Répartition des patients selon la pentoxifylline, les ovocytes matures de leurs partenaires et les résultats d'ICSI
- Tableau. 34** : Répartition des patients selon le taux de FSH, le nombre des embryons transférés et les résultats d'ICSI
- Tableau. 35** : Répartition des patients selon le type histologique, le nombre des embryons transférés et les résultats d'ICSI
- Tableau. 36** : Répartition des patients selon le taux de FSH, la qualité embryonnaire et les résultats d'ICSI
- Tableau. 37** : Répartition des patients selon le type histologique, la qualité embryonnaire et les résultats d'ICSI
- Tableau. 38** : Le nombre des embryons obtenus par rapport au nombre des ovocytes matures
- Tableau. 39** : Le nombre des embryons obtenus par rapport au nombre des zygotes non segmentés
- Tableau. 40** : Corrélation entre l'Age et l'ICSI
- Tableau. 41** : Corrélation entre le taux de FSH et l'ICSI
- Tableau. 42** : Corrélation entre le taux de LH et l'ICSI
- Tableau. 43** : Corrélation entre le taux de testostérone et l'ICSI
- Tableau. 44** : Corrélation entre le volume testiculaire et l'ICSI
- Tableau. 45** : Corrélation entre la varicocèle et l'ICSI
- Tableau. 46** : Corrélation entre la quantité des spermatozoïdes et l'ICSI

- Tableau. 47** : Corrélation entre la pentoxifylline et l'ICSI
- Tableau. 48** : Corrélation entre le type histologique et l'ICSI
- Tableau. 49** : Corrélation entre l'âge des femmes et l'ICSI
- Tableau. 50** : Corrélation entre le nombre des ovocytes recueillis et l'ICSI
- Tableau. 51** : Corrélation entre le nombre des ovocytes matures et l'ICSI
- Tableau. 52** : Corrélation entre le nombre des embryons obtenus et l'ICSI
- Tableau. 53** : Corrélation entre le nombre des embryons transférés et l'ICSI
- Tableau. 54** : Corrélation entre la qualité embryonnaire et l'ICSI
- Tableau. 55** : Corrélation entre les facteurs féminins et l'ICSI
- Tableau. 56** : le coefficient de régression entre les facteurs féminins et l'ICSI
- Tableau. 57** : Signification particulière entre chaque facteur et l'ICSI
- Tableau. 58** : Corrélation entre les facteurs masculins et l'ICSI
- Tableau. 59** : le coefficient de régression entre les facteurs masculins et l'ICSI
- Tableau. 60** : Signification particulière entre chaque facteur et l'ICSI

Introduction :

La stérilité de l'homme est une découverte ressentie. Autrefois, seule la femme était impliquée dans l'infertilité du couple. En effet, la stérilité de l'homme était exclusivement liée à l'impuissance. Il est admis que tout homme capable d'un coït suivi d'éjaculation ne peut pas être infécond. Le mari est donc amené à la bigamie à la recherche d'une descendance. Actuellement de plus en plus les hommes intellectuels commencent à prendre conscience qu'un homme viril peut être stérile. Selon OMS, on parle de stérilité lorsqu'un couple reste sans enfant après douze mois des rapports sexuels réguliers et non protégés.

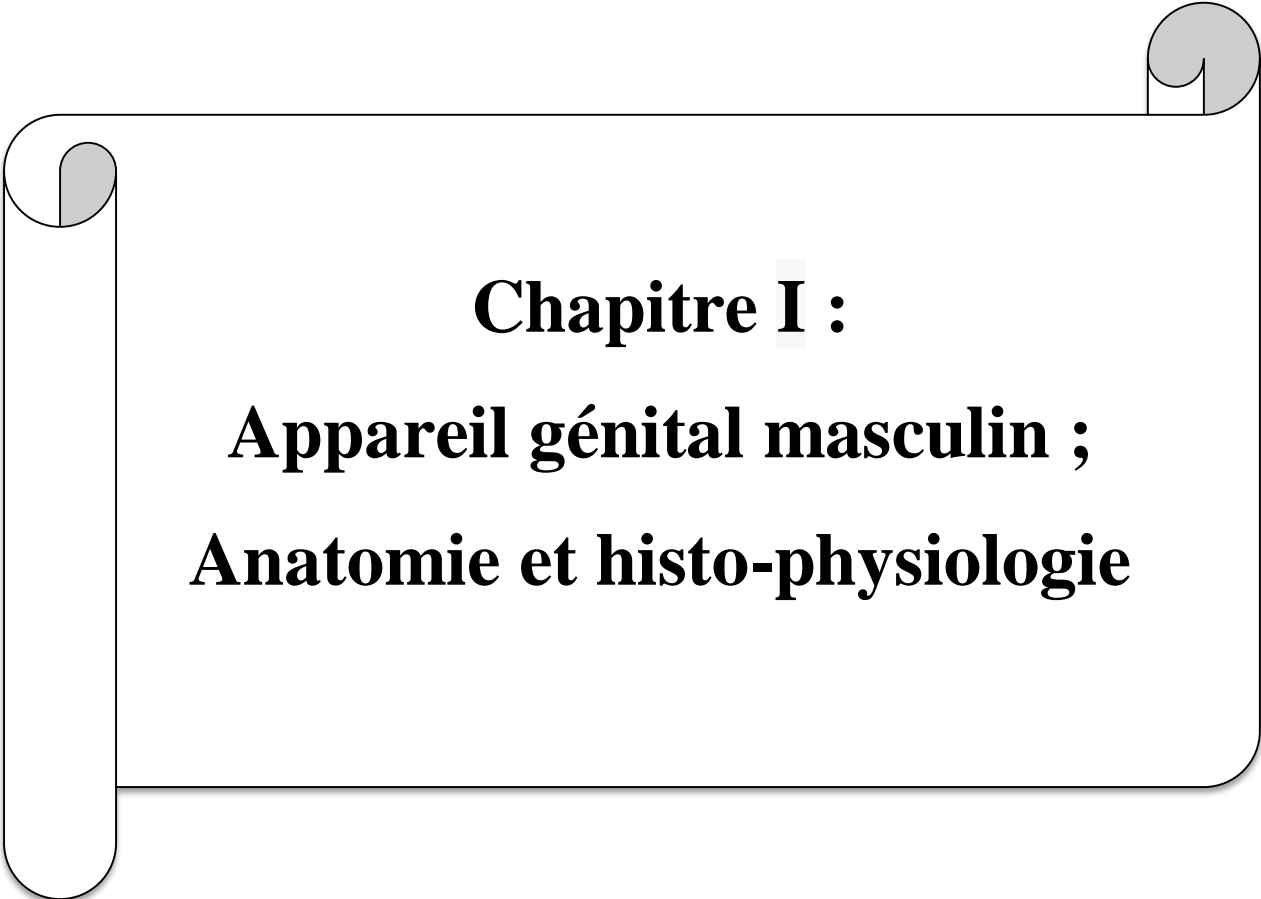
L'extraction des spermatozoïdes testiculaire (TESE) a été utilisée en association avec l'injection intra cytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI) pour réaliser la fécondation (Craft *et al.*, 1997) et la grossesse (Hirsh, 1993) chez les hommes atteints d'azoospermie non obstructive. Cependant, le diagnostic de la biopsie montre que les spermatozoïdes n'ont pas été trouvés chez environ 50% des patients atteints d'une azoospermie non-obstructive (Schlegel, 2004). En conséquence, la stimulation ovarienne simultanée pour les procédures ICSI échoue souvent car l'injection ne peut pas être complétée en raison d'une TESE non productive.

Divers facteurs peuvent influencer le résultat de l'ICSI chez les patients azoospermiques. Ceux-ci incluent des paramètres liés au partenaire masculin comme l'âge, la FSH sérique et l'histologie testiculaire qui peuvent refléter sur la qualité de la chirurgie de récupération des spermatozoïdes. La qualité et la viabilité des cellules de sperme injectées peuvent également être liées à l'étiologie de l'azoospermie non obstructif exprimant le stade de développement du spermatozoïde (Bachtell *et al.*, 1999). Les paramètres déterminés par le partenaire féminin tels que l'âge et le réservoir ovarien peuvent également avoir un effet significatif contribuant au succès de l'ICSI chez ces patients (Silber *et al.*, 1997).

Dans cette étude, nous visons à examiner les paramètres variables qui pourraient être des prédicteurs de succès de l'ICSI chez les patients atteints d'une azoospermie non obstructive : Âge du partenaire masculin, taux de FSH, de LH, de testostérone, volume testiculaire, présence de varicocèle, histologie testiculaire ainsi que l'utilisation de la pentoxifylline. L'âge et le réservoir ovarien de leurs partenaires aussi ont été analysés. Les résultats pourraient contribuer à la capacité d'informer les patients et d'établir une gestion clinique politique dans des tels cas.

A decorative graphic of a scroll with a grey shadow, framing the title text. The scroll is positioned horizontally across the middle of the page, with its ends curling upwards.

Synthèse Bibliographique

A decorative graphic of a scroll with a grey shadow, positioned horizontally across the upper middle of the page. The scroll is unrolled, with its ends curling upwards. The text is centered within the unrolled portion of the scroll.

Chapitre I :
Appareil génital masculin ;
Anatomie et histo-physiologie

I. L'appareil de reproduction masculin :

L'appareil de reproduction masculin assure la production de spermatozoïdes, leur nutrition, leur stockage, leur transport et leur expulsion. Il assure également une fonction endocrine par la synthèse et la sécrétion de stéroïdes androgènes (Kherraf, 2017). L'appareil génital masculin comprend :

Les deux testicules :

Les testicules sont responsables de la production des spermatozoïdes et la sécrétion des androgènes. La première fonction est dite exocrine, la deuxième est dite endocrine.

Le tractus génital :

Le tractus génital est formé des voies spermatiques intra-testiculaires : le tube droit et rete-testis, et des voies extra-testiculaires, système de canaux pairs : les canaux ou cônes efférents, le canal épидидymaire, le canal déférent, le canal éjaculateur, assurant le transport des spermatozoïdes.

Les glandes annexes :

Les glandes annexes comprennent les vésicules séminales, la prostate les glandes bulbo-urétrales, ces glandes exocrines sécrètent le liquide de transport et de nutrition des spermatozoïdes constituant avec ces derniers le sperme.

Le tractus uro-génital :

Le tractus uro-génital est représenté par l'urètre prostatique, membraneux et pénien, s'ouvrant à l'extérieur par le méat urinaire, ce dernier assure l'évacuation des urines lors de la miction et celle du sperme lors de l'éjaculation.

I.1. Les testicules :

Les testicules sont deux organes symétriques, Chaque testicule correspond à une masse ovoïde dont les dimensions sont d'environ 5 cm de long, 3 cm de large, et 2,5 cm d'épaisseur, pesant en moyenne 20 grammes. Ils sont logés dans le scrotum et entourés par une enveloppe rigide nommée l'albuginée ou tunica-albuginea.

Le parenchyme est divisé en 200 à 300 lobules, séparés par des invaginations de la tunica-albuginea. La partie supérieure de cette tunique présente un épaississement triangulaire (corps de Highmore) qui contient les canaux du rete-testis. C'est au niveau de cette dernière structure que converge l'ensemble des tubules séminifères du parenchyme testiculaire (Kherraf, 2017).

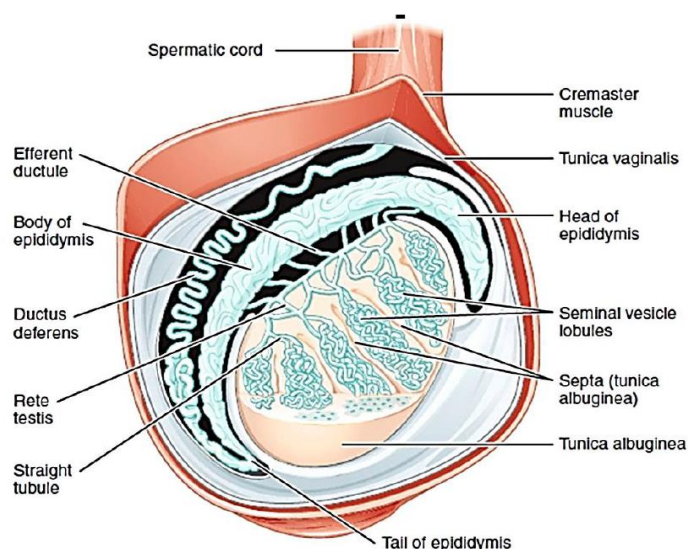


Figure. 1 : Anatomie du testicule Depuis Kherraf (2017).

I.1.1. Les tubules séminifères :

L'épithélium séminifère, siège de la spermatogénèse apparaît sous une forme stratifié, constitué par les cellules de la lignée germinales et les cellules de sertoli (Gao *et al.*, 2016). Ces dernières sont considérées comme des cellules nourricières du compartiment germinales, jouant un rôle dans les divisions cellulaires et participant également à la stéroïdogénèse (Namwanje et Brown, 2016).

Les cellules de Sertoli sont reliées aux cellules germinales par l'intermédiaire de jonctions adhérentes de type desmosome et de jonctions communicantes de type gap. Les cellules de Sertoli établissent aussi entre elles des jonctions serrées étanches (zonulaoccludens) (Stanton, 2016). Ces jonctions continues participent à l'élaboration de la barrière hémato-testiculaire (BHT), en subdivisant l'épithélium séminifère en deux compartiments : le compartiment basal et le compartiment ad-luminal.

I.1.2. Le tissu interstitiel :

Le tissu interstitiel est un tissu qui occupe l'espace compris entre les tubes séminifères, il est composé d'un tissu conjonctif lâche, riche en vaisseaux sanguins et lymphatiques, au sein duquel sont répartis des petits amas de cellules dite cellules de Leydig qui ont pour principale fonction la synthèse et la sécrétion des androgènes, principalement de la testostérone.

II. La spermatogénèse :

La spermatogénèse est un processus biologique complexe. Il consiste en la production continue des gamètes mâles haploïdes dites les spermatozoïdes à partir des cellules souches germinales diploïdes nommées les spermatogonies (Griswold, 2016).

La spermatogénèse est un mécanisme long qui commence à la puberté et se poursuit pendant toute la vie, elle se déroule dans les testicules, nécessite une température de 32°C à 35°C et dure environ 74 jours (Figure 2)(Neto *et al.*, 2016).

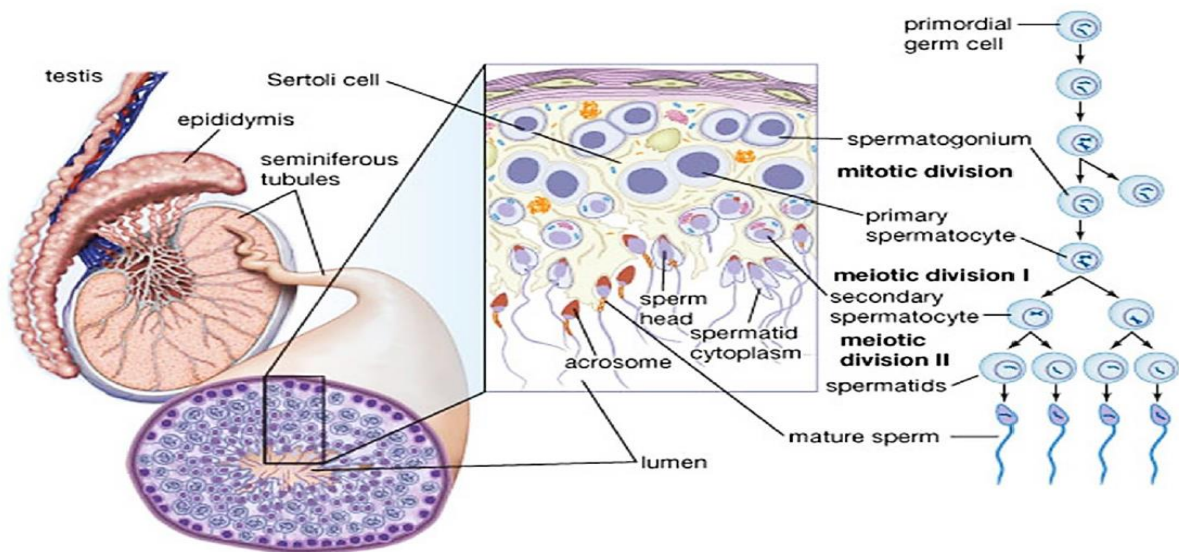


Figure. 2 : Description générale de la spermatogénèse (Kherraf, 2017).

II.1. La phase proliférative :

Au cours de l'organogénèse du testicule, les gonocytes, cellules dérivées des cellules germinales primordiales, entrent en phase G0 et restent quiescentes jusqu'à 6 à 12 mois après la naissance avant d'entamer leur différenciation en spermatogonies (Figure 3)(Mechlin et Kogan, 2014).

Les spermatogonies sont des cellules progénitrices diploïdes de toutes les autres cellules germinales. Elles ont une double responsabilité : celle de la production des gamètes via le processus de méiose et celle d'auto-renouvellement via les divisions mitotiques pour assurer la production continue des spermatozoïdes. Les spermatogonies sont divisées en 3 sous-types : Spermatogonies Ad (dark), Spermatogonies Ap (pale) et Spermatogonies B. Au cours de cette phase, les cellules de type Ad rentrent en division pour donner des spermatogonies Ap, les spermatogonies de type Ap vont se diviser à leur tour pour donner les cellules de type Ap afin renouveler le stock des spermatogonies et des spermatogonies de type B (Boitani *et al.*, 2016).

Les spermatogonies B se divisent par mitose puis augmentent de taille pour devenir des spermatocytes primaires. Ces cellules vont traverser la barrière hémato-testiculaire pour accéder au compartiment ad-luminal où elles vont devenir immunologiquement isolées et entamer la première division méiotique (Lam et Keeney, 2015).

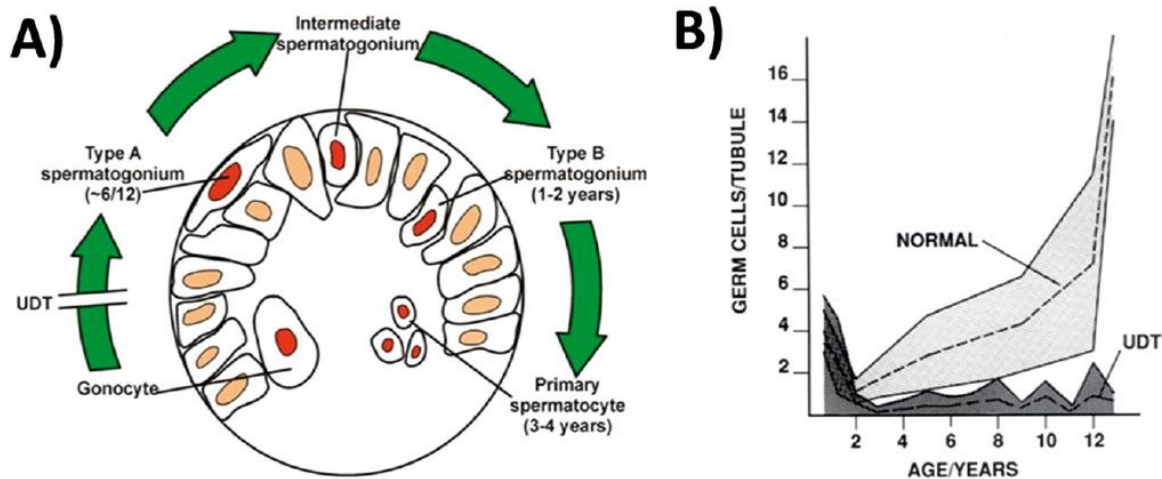


Figure. 3 : Développement des cellules germinales en post-natal chez l'humain

(Hutson *et al.*, 2013).

II.2. La phase de maturation nucléaire ou méiotique :

La phase de maturation met en jeu le spermatocyte I qui est issu de la division des spermatogonies B. Les spermatocytes I, cellules diploïdes ayant $2n$ chromosomes subissent la première division cellulaire réductionnelle et donne deux cellules haploïdes mais à $2n$ ADN appelé spermatocyte II. Ce spermatocyte II subit la deuxième méiose équationnelle pour donner une cellule haploïde à n chromosomes et n ADN : le spermatide (Kherraf, 2017).

II.3. La spermiogénèse :

Les spermatides ronds ne se divisent plus mais se différencient en spermatozoïdes. Ils subissent 3 modifications majeures (la biogenèse de l'acrosome, l'hypercompaction de la chromatine et la formation du flagelle) pour aboutir à des cellules mobiles très spécialisées qui sont les spermatozoïdes (Ramalho-Santos *et al.*, 2002). Cette phase dure chez l'homme environ 23 jours (Figure 4).

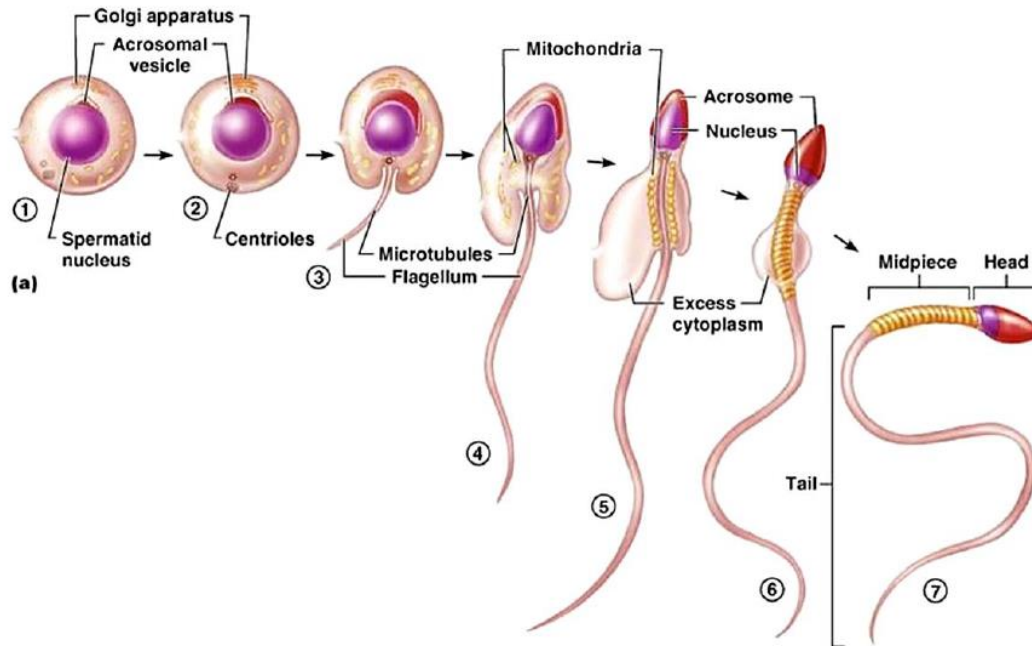


Figure. 4 : Principales modifications structurales lors de la spermiogénèse (Kherraf, 2017).

II.3.1. La biogenèse de l'acrosome :

L'acrosome est une vésicule géante apparentée à la famille des lysosomes. Elle recouvre jusqu'à deux tiers de la surface du noyau. L'acrosome a un pH acide et contient de nombreuses enzymes protéolytiques comme la proacrosine. Ces dernières tiennent un rôle lors de la fécondation (Mao et Yang, 2013). La biogenèse de l'acrosome passe par 4 phases principales : la phase de Golgi, la phase de la coiffe, la phase de l'acrosome et la phase de maturation (Alvarez *et al.*, 2012).

Durant la phase de Golgi, des vésicules proacrosomales bourgeonnent à partir des saccules de la face trans de l'appareil de Golgi orientée vers le noyau. Ces vésicules fusionnent entre elles sur l'acroplaxome pour former la vésicule acrosomale (Kierszenbaum *et al.*, 2003). Durant la phase de la coiffe, la vésicule acrosomale commence à s'étaler sur le noyau formant une coiffe céphalique. L'acrosome ainsi formé, acquiert sa forme définitive spécifique de chaque espèce à la fin de la phase de maturation (Kherraf, 2017).

II.3.2. L'hyper compaction de la chromatine :

Le noyau spermatique, pour sa maturation, va subir une restructuration globale de son génome. Cette restructuration inclue une condensation progressive de la chromatine avec remplacement des histones classiques riches en lysine, par des protéines nucléaires plus basiques : les protéines de transition, TNP1 et TNP2. Ces dernières sont par la suite remplacées par d'autres protéines nucléaires ; les protamines pour favoriser la compaction de la chromatine et la stabilisation des

complexes protamines-ADN (Figure 5)(Bao et Bedford, 2016). Ce réarrangement de la chromatine est nécessaire pour protéger le matériel génétique du gamète mâle contre les agressions physiques et chimiques durant son transit dans les voies génitales mâles et femelles. La réduction de la taille du noyau qui résulte de la condensation de sa chromatine rend le spermatozoïde plus hydrodynamique et favorise sa mobilité (Kherraf, 2017).

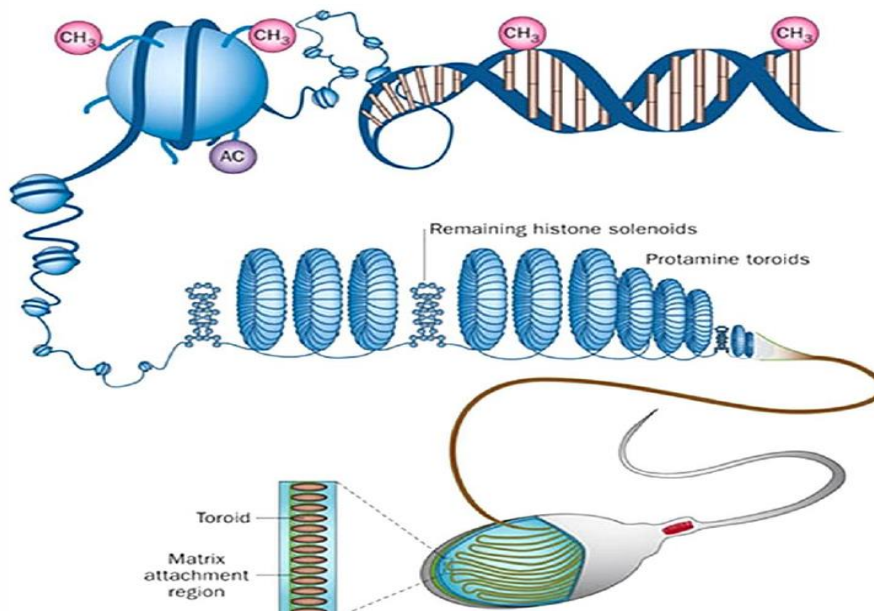


Figure. 5 : Remplacement des histones par les protamines et hypercompaction de la chromatine spermatique (Schagdarsurengin *et al.*, 2012).

II.3.3. La formation du flagelle :

Le flagelle est responsable de la mobilité du spermatozoïde, il commence à se développer à un stade précoce de la spermiogénèse. L'élongation de cet organe se fait à partir du centriole distal du centrosome qui va migrer vers le pôle postérieur de la cellule. Le flagelle est subdivisé en 3 parties : la pièce intermédiaire, la pièce principale et la pièce terminale (Kherraf, 2017). L'axonème considéré comme la partie motrice généralement elle parcourt toute la longueur du flagelle sa dimension est de 50 µm chez l'homme (Linck *et al.*, 2016).

II.3.4. L'élimination du reste cytoplasmique :

Les organites cellulaires à l'exception des mitochondries, assurant l'énergie nécessaire pour le mouvement du flagelle spermatique, sont éliminés dans une vésicule appelée corps résiduel (Rolland *et al.*, 2009).

II.4. Le control neuroendocrinien de la spermatogénèse :

Le maintien et le bon déroulement spermatogénèse est sous le contrôle l'axe hypothalamo-hypophysaire. Les cellules nerveuses de l'hypothalamus sécrètent de façon pulsatile une gonadolibérine la GnRH (Gonadotrophine Releasing Hormone). La GnRH se fixe sur des récepteurs

spécifiques au niveau de l'anté-hypophyse et induit la synthèse de deux hormones gonadotropes ou gonadotrophines, la FSH (Follicule Stimulating Hormone) et la LH (Luteinizing Hormone), qui sont sécrétées de manière continue et régulière. Elles ont comme cellules cibles des cellules du testicule.

La LH a des récepteurs sur les cellules de Leydig et induit la synthèse d'hormones stéroïdes, les androgènes, en particulier la testostérone qui jouent un rôle lors de la spermatogénèse et dans l'apparition des caractères sexuels secondaires.

La FSH a des récepteurs sur la cellule de Sertoli et régule la sécrétion de nombreux facteurs qui jouent un rôle important dans la spermatogénèse comme la protéine transporteuse de testostérone ; l'ABP (Androgen Binding Protein) ou encore l'AMH ou Hormone Anti Mûllérienne qui est sécrétée lors de l'embryogénèse du testicule fœtal et l'inhibine, qui joue un rôle dans le rétro contrôle négatif de la spermatogénèse.

A tous ces étages les sécrétions endocrines sont contrôlées par leurs propres effets (feed back). L'inhibine a un effet inhibiteur sur les mitoses goniales. Ce phénomène est nommé le Rétrocontrôle gonado-gonadique. L'inhibine elle-même diminue la sécrétion de FSH la testostérone diminue la sécrétion de LH et à un moindre degré que celle de FSH. Ce mécanisme est appelé Rétrocontrôle gonado-hypophysaire.

La testostérone et l'inhibine ont un effet inhibiteur sur la production de la GnRH au niveau de l'hypothalamus qu'on nomme le Rétrocontrôle gonado-hypophysaire (Namwanje et Brown, 2016).

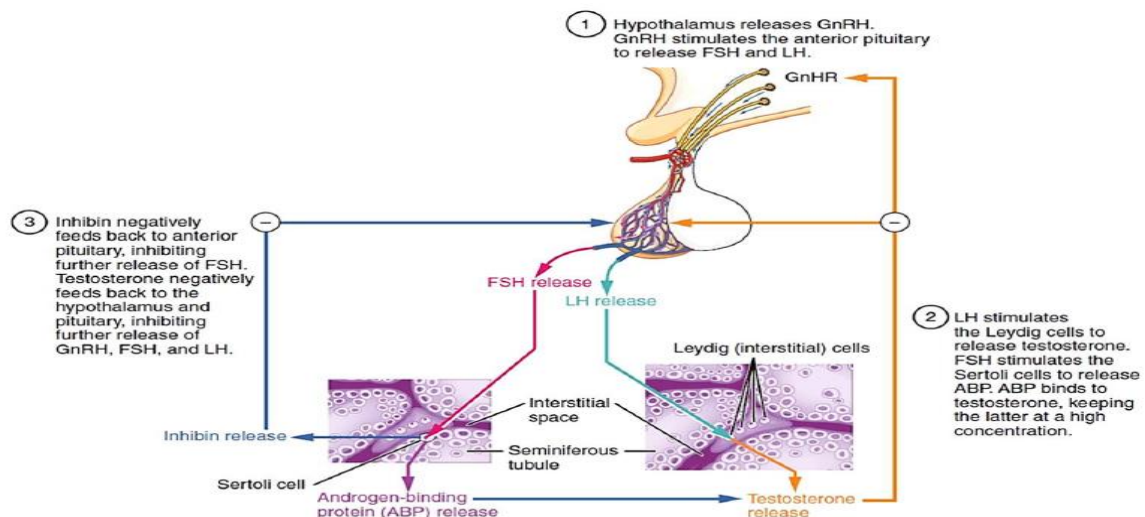
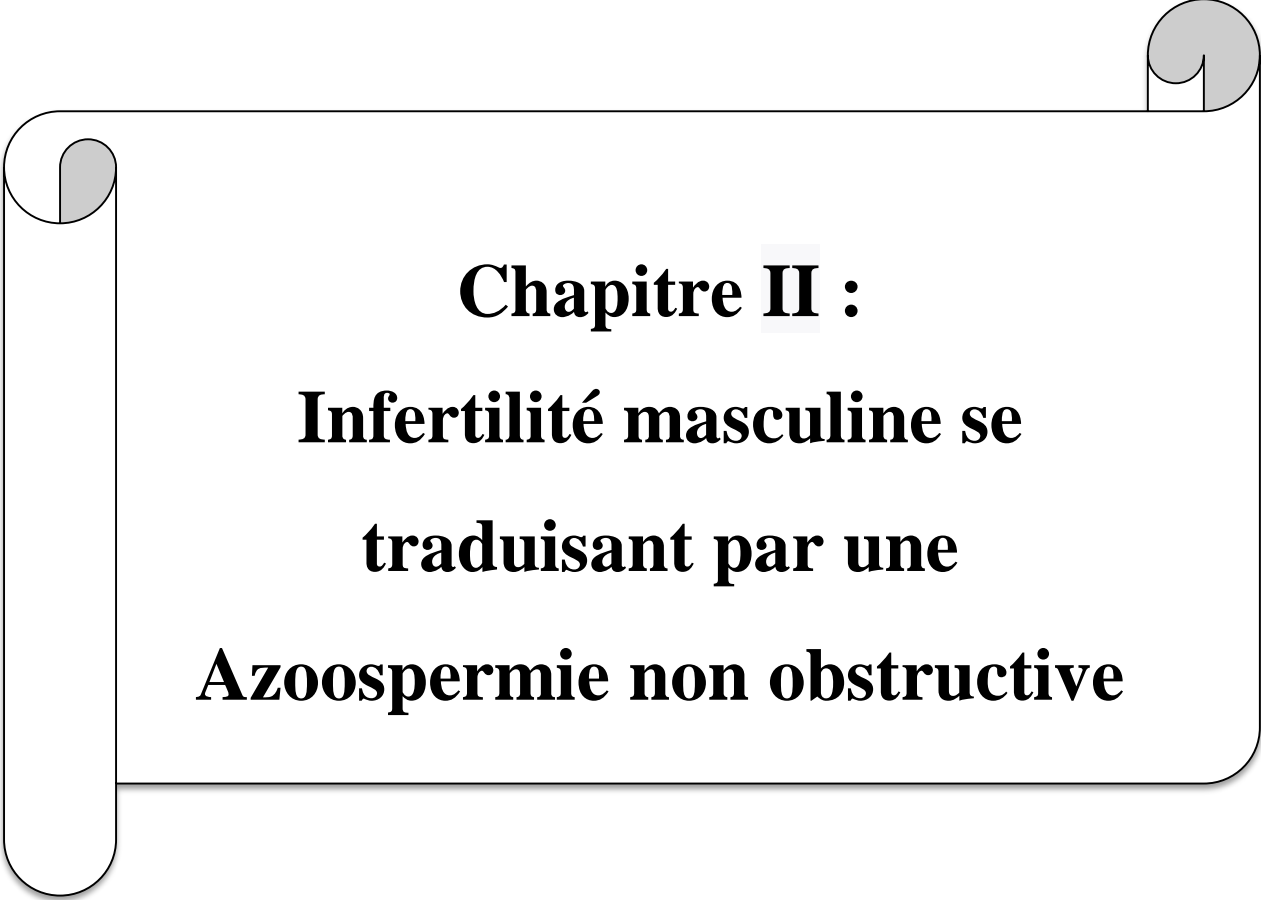


Figure. 6 : Régulation hormonale de spermatogénèse (Kherraf, 2017).

A decorative graphic of a scroll with a grey shadow, framing the text. The scroll is positioned horizontally across the middle of the page, with its ends curling upwards.

Chapitre II :
Infertilité masculine se
traduisant par une
Azoospermie non obstructive

I. Définition d'infertilité :

Sur le plan nosologique, la fertilité correspond à la capacité d'obtenir un enfant, Par contre le terme infertilité se caractérise par l'échec de l'obtention d'une grossesse chez les couples en âge de procréer ou la femme est âgée de 18 à 45 ans, au bout de 12 mois de rapports sexuels réguliers non protégés. L'infertilité est actuellement considérée comme une préoccupation majeure par l'organisation mondiale de la santé (OMS, 2012).

II. Epidémiologie :

L'infertilité affecte approximativement 10-15% des couples dans le monde et parfois jusqu'à 30% dans certaines régions du monde (Inhorn et Patrizio, 2015).

Le facteur féminin est à l'origine de l'infertilité du couple dans 33% des cas, le facteur masculin dans 20% des cas et une origine mixte est considérée dans 39% des cas. Dans 8% des cas l'infertilité est inexplicée dite idiopathique (Thonneau *et al.*, 1991).

III. Infertilité masculine :

L'infertilité masculine englobe l'ensemble des pathologies et troubles touchant l'appareil reproducteur de l'homme, et ainsi responsables de l'infécondité involontaire du couple.

IV. Les étiologies de l'infertilité masculine :

L'infertilité masculine dépend de la qualité du sperme et de la perméabilité des voies excrétrices séminales. Les troubles de la spermatogenèse représentent les causes les plus fréquentes de cette pathologie. Plusieurs classifications de l'infertilité masculine sont établies, nous avons celles qui se reposent sur des données physiopathologiques et nous avons également celles qui se basent sur les anomalies quantitatives et/ou qualitatives de l'échantillon spermatique.

IV.1. Les anomalies du volume :**IV.1.1. L'Aspermie :**

L'aspermie est représentée par une absence d'éjaculat ou un volume de spermatique inférieur à 0,5 ml, elle peut être causée Soit par une éjaculation rétrograde, Soit par une anéjaculation (absence d'éjaculation) (Xie, 2017).

IV.1.2. L'Hypospermie :

L'hypospermie se traduit un volume total de l'éjaculat inférieur à 1,5 ml (G. Robin *et al.*, 2008).

IV.1.3. L'Hyperspermie :

Hyperspermie se caractérise par un volume total de l'éjaculat supérieur à 6 ml ; elle évoque la présence de lésion infectieuse des glandes annexes et en particulier les vésicules séminales. Elle peut être due aussi à une abstinence trop longue (Cooke *et al.*, 1995).

IV.2. Anomalie de la mobilité :

L'asthénospermie, en tant que pathologie se caractérise par une chute de la mobilité des spermatozoïdes, elle est être l'expression des anomalies du flagelle. Elle se traduit de 40% de spermatozoïdes mobile dans la totalité de l'éjaculat (Fournier-Delpech *et al.*, 1995).

IV.3. Les anomalies du nombre des spermatozoïdes :**IV.3.1. L'azoospermie :**

Elle se définit par l'absence totale des spermatozoïdes dans l'éjaculat. Deux types d'azoospermie sont décrits : azoospermie non obstructive (défaut de production testiculaire) et azoospermie obstructive (obstacle sur les voies séminales) (Wosnitzer *et al.*, 2014).

IV.3.2. La cryptozoospermie :

C'est l'absence de spermatozoïdes observés à l'examen microscopique direct d'une goutte de sperme, mais a l'opposé de l'azoospermie ; une recherche approfondie permet d'en trouver quelques-uns (moins de cent milles spermatozoïdes dans l'éjaculat) (Deng *et al.*, 2015).

IV.3.3. L'Oligozoospermie :

Elle se définit par une diminution du nombre des spermatozoïdes dans l'éjaculat inférieur à 15 millions par ml. Elle est dite sévère si la numération est inférieure à 5 millions par ml (McLachlan, 2013).

IV.3.4. La Polyzoospermie :

Elle se définit par un nombre des spermatozoïdes supérieur à 150 millions par ml d'éjaculat (Glezerman *et al.*, 1982).

IV.4. Anomalie de la vitalité :

La necrozoospermie se caractérise par la présence d'un nombre de spermatozoïdes morts supérieur à 58% après une heure du prélèvement (Dumont *et al.*, 2017).

IV.5. Anomalie de la morphologie :

La tératozoospermie se caractérise par moins de 85% de spermatozoïdes présentant un fort pourcentage d'anomalies morphologiques, soit des anomalies de la tête, de la pièce intermédiaire et du flagelle (De Braekeleer *et al.*, 2015).

V. l'Azoospermie :

L'azoospermie comme elle a été définie précédemment, représente l'absence totale des spermatozoïdes dans l'éjaculat (Khodari *et al.*, 2015). Cette pathologie touche 1 % des hommes dans la population générale ce qui représente entre 5 à 15 % dans la population totale d'homme infertiles (Coat *et al.*, 2011) . Pour ces patients atteints d' azoospermie des études ont révélé que 71% présenteraient une Azoospermie non-obstructive et que 29% d'autres eux développerait une Azoospermie- obstructive (Jarvi *et al.*, 2015).

L'azoospermie doit être confirmée après au moins deux spermogrammes qui porteraient toujours le même diagnostic : absence totale de spermatozoïde (Jarvi *et al.*, 2015).

La classification la plus adoptée de cette pathologie étant l'azoospermie obstructive qui se révèle par une obstruction des voies générales et l'Azoospermie non-obstructive qui s'illustre par une spermatogénèse défectueuse.

V.1. L'azoospermie obstructive :**V.1.1. Définition :**

Elles correspondent à une obstruction siégeant sur les voies excrétrices des spermatozoïdes, entre les testicules et le carrefour uro-génital (épididyme, canaux déférents, canaux éjaculateurs). Sur le plan biologique et endocrinien nous retrouvons une FSH et une testostérone totalement normale et une spermatogénèse bien conservée (Salama *et al.*, 2012).

V.1.2. Étiologie d'azoospermie obstructive :**V.1.2.1. Les infections Uro-génitale :**

Le point de départ est souvent une infection prostatique, qui s'étend vers l'épididyme entraînant une inflammation des canaux déférents. Elle est le plus souvent asymptomatique et elle est découverte de façon fortuite lors de bilan d'infertilité. Le principal germe responsable est le *Chlamydiae trachomatis* (Du *et al.*, 2010).

V.1.2.2. Agénésie bilatérales des canaux déférents (ABCD) :

Elle se traduit par une absence congénitale des canaux déférents et représente 25% des azoospermies obstructives. On la rencontre le plus souvent chez les sujets atteints de mucoviscidose et elle résulte d'une mutation génétique du gène CFTR (Tüttelmann *et al.*, 2011).

V.1.2.3. Le syndrome de Young :

C'est une pathologie très rare dont la prévalence n'est pas connue. Elle associe une bronchiectasie, une sinusite chronique et une azoospermie excrétoire dues à une obstruction bilatérale des épидидymes par des sécrétions épaisses. La fonction pancréatique ainsi que la spermatogenèse sont normales. L'étiologie de ce syndrome demeure inconnue. Il ne semble pas y avoir d'association avec des mutations du gène CFTR (Friedman *et al.*, 1995).

V.2. Azoospermie non- obstructive :**V.2.1. Définition :**

L'Azoospermie non- obstructive entant qu'anomalie est due à une absence totale de la spermatogenèse. Ces causes peuvent être soit une affection testiculaire congénitale ou acquise ; soit une insuffisance hypothalamo-hypophysaire acquise ou congénitale (Chiba *et al.*, 2016).

V.2.2. Les différentes étiologies d'azoospermie non-obstructive :**V.2.2.1. Les causes pré-testiculaires :**

Les causes pré-testiculaires sont représentées principalement par les troubles endocriniens de l'axe hypothalamo-hypophysaire, ils peuvent exister des formes congénitales ou acquises. Ces troubles peuvent être dues à un déficit primaire en hormones hypophysaires (FSH et LH), ce dernier est souvent lié à des tumeurs hypophysaires. Comme ils peuvent être causer par un déficit secondaire qui se traduire par une insuffisance de sécrétion d'hormone cette fois ci de type gonadolibérine (GnRH) comme dans le cas du syndrome de Kallmann (Hefner *et al.*, 2009).

V.2.2.2. Les causes testiculaires :**V.2.2.2.1 Les facteurs non génétiques :****La cryptorchidie :**

La cryptorchidie est définie par un arrêt de migration des testicules sur un point du trajet normal. Cette pathologie entraîne une altération de la spermatogenèse et elle est responsable d'une infertilité sa prévalence est estimée à 20 % en cas d'azoospermie (Vikraman *et al.*, 2016).

La varicocèle :

La varicocèle, une dilatation anormale des veines spermatiques, elle est présente chez environ 15% des hommes adultes et chez 30% des patients infertiles. Cependant, les traitements par ligature chirurgicale ou par embolisation radiologique couramment proposés à ces patients ne semblent pas améliorer leur fertilité (Baazeem *et al.*, 2011).

Les perturbations de la spermatogenèse peuvent aussi être secondaires à une tumeur, un traumatisme ou une torsion testiculaire. Cependant, la fertilité n'est impactée que si les deux testicules sont concernés. Le déficit de production des spermatozoïdes peut aussi être lié à une intoxication environnementale ou iatrogène (chimiothérapie et radiothérapie locale notamment) (Gabrielsen et Tanrikut, 2016).

V.2.2.2.2. Les facteurs génétiques :

La gamétogenèse masculine ou spermatogenèse est un processus physiologique complexe suggérant l'interaction de plusieurs centaines de gènes dans un réseau hautement spécialisé. Des études réalisées sur des souris présumé infertiles ont bien montré l'importance de la composante génétique dans les troubles de la spermatogenèse (Tüttelmann *et al.*, 2011).

Le syndrome de Klinefelter :

Les insuffisances de la spermatogenèse peuvent avoir une origine chromosomique. Le plus souvent, il s'agit d'anomalies des chromosomes sexuels parmi lesquelles le syndrome de Klinefelter est le plus fréquent (Lanfranco *et al.*, 2004). Le syndrome de Klinefelter est causé par une aneuploïdie de caryotype 47, XXY. Ce syndrome a été décrit pour la première fois en 1942. Il est caractérisé cliniquement par une atrophie testiculaire accompagnant une altération majeure de la spermatogenèse et une azoospermie dans la majorité des cas. Dans 10% des cas, il existe une mosaïque germinale avec des cellules 46, XY et d'autres 47, XXY qui conduit à un phénotype moins sévère avec une oligozoospermie. Dans la mesure où les spermatogonies commencent à disparaître vers la puberté chez ces individus, un prélèvement précoce avec cryoconservation du tissu testiculaire a été proposé pour tenter de restaurer ultérieurement la spermatogenèse (Van Saen *et al.*, 2012).

Micro-délétions sur le bras long du chromosome Y :

D'une taille d'environ 53 Mb, le chromosome Y contient plusieurs gènes impliqués dans la différenciation des gonades masculines et dans la programmation de la spermatogenèse (Skaletsky *et al.*, 2003). Chez près de 10% des patients souffrant d'Azoospermie non-Obstructive et 5% des patients avec Oligospermie, des micro-délétions du chromosome Y sont observées dans la région AZF (Azoospermia factor) (Hotaling et Carrell, 2014).

La région AZF est subdivisée en trois locus AZFa, AZFb et AZFc (figure 7). Les délétions du locus AZFa causent une azoospermie et forme le syndrome des cellules de Sertoli seules (Sertoli-cell-only) avec absence des cellules germinales dans l'épithélium des tubules séminifères du testicule (Nutti et Krausz, 2008).

Les délétions du locus AZFb sont associées à un blocage variable de la spermatogenèse et donnent une azoospermie. Les chances de succès d'une récupération de spermatozoïdes après une biopsie testiculaire sont inexistantes lorsque la délétion concerne les locus AZFa ou AZFb.

Les délétions du locus AZFc qui contient plusieurs copies des gènes DAZ, elles sont responsables d'oligozoospermie et d'azoospermie. Les chances de succès d'une récupération de spermatozoïdes après une biopsie testiculaire chez les patients azoospermiques sont de 50-70% du fait de la persistance d'une spermatogenèse résiduelle (Rives, 2014).

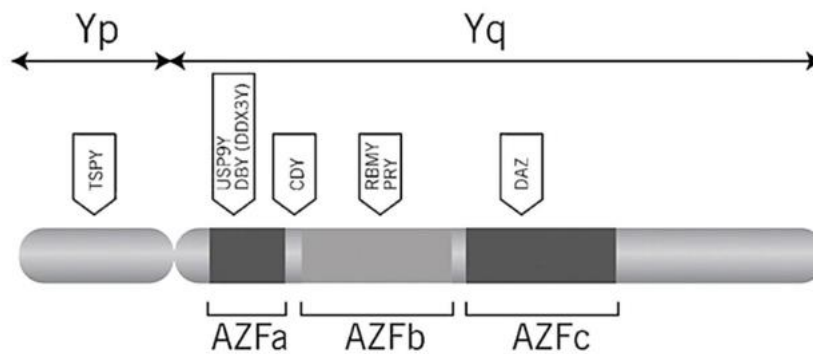


Figure. 7 : Représentation schématique du chromosome Y et de la région AZF ainsi que des trois sousrégions AZF a, b,c et des principaux gènes compris dans chacune des sous-régions d'après d'O'Flynn *et al* (2010).

VI. Prise en charge des patients atteints d'Azoospermie-non-obstructive :

VI.1. Examen clinique :

L'interrogatoire présente le temps principal d'une consultation d'andrologie. Il s'attache à rechercher les facteurs pouvant perturber la fonction testiculaire et les antécédents personnels et familiaux d'infertilité et de maladies génétiques. Le deuxième temps de consultation est consacré à l'examen physique avec la recherche d'éventuels signes d'hypoandrisme témoignant de l'altération de la fonction endocrine du testicule puis l'examen de l'appareil génital dans sa globalité (hypo ou hypertrophie testiculaire, dilatation épидидymaire, absence des déférents et/ou des vésicules séminales, varicocèle, hypospadias) (Young, 2016).

VI.2. Analyse du sperme :**Le spermogramme :**

En 1951, Mac Léod étudia la relation qui pourrait exister entre la fertilité masculine et les caractéristiques du sperme de deux groupes d'hommes, féconds et inféconds. Depuis, l'analyse du sperme constitue la première investigation à envisager pour explorer l'infertilité masculine. Cet examen devrait être réalisé selon les dernières recommandations de l'OMS (World Health Organization). Il doit être interprété en tenant compte des données cliniques du patient (tableau 1) (Esteves, 2016).

Tableau. 1 : Limites inférieures de référence des paramètres du sperme humain (OMS, 2010).

Paramètre	Limite basse de référence
Volume du sperme (ml)	1,5 (1,4-1,7)*
Nombre total de spermatozoïdes (/éjaculat)	39 million (33-46)*
Concentration de spermatozoïdes (/ml)	15 million (12-16)*
pH	7,5 (7,4-8)*
Mobilité totale (Pr + NP, %)	40 (38-42)*
Mobilité progressive (Pr, %)	32 (31-34)*
Vitalité (spermatozoïdes vivants, %)	58 (55-63)*
Morphologie (formes normales, %)	4 (3,0-4,0)*
Leucocytes (/ml)	< 1 million

*5e percentile (et intervalle de confiance à 95%). Pr = Spermatozoïdes progressifs, NP Spermatozoïdes non progressifs.

VI.3. Dosage des bio-marqueurs séminaux :

Le liquide séminal est produit principalement par l'épididyme et les glandes annexes. Le dosage des marqueurs biochimiques séminaux est réalisé en cas d'anomalies du spermogramme ou d'une suspicion d'infection génitale. La L-carnitine et l' α -glucosidase sont deux marqueurs caractéristiques de l'épididyme, le fructose est caractéristique des vésicules séminales et l'acide citrique, les phosphatases acides et le zinc sont caractéristiques de la prostate.

Dans le cadre de l'azoospermie, les résultats de ces dosages apportent des renseignements précieux et permettent de distinguer une azoospermie sécrétoire (testiculaire) d'une azoospermie excrétoire (obstructive) et de préciser le niveau d'obstruction dans ce dernier cas (Kherraf, 2017).

VI.4. Exploration hormonale de l'axe gonadotrope :

La catégorisation de l'azoospermie peut se faire en en proposant un bilan hormonal. Quand ce dernier est indiqué, il consiste à doser en première intention la FSH et éventuellement l'inhibine B pour

évaluer la spermatogenèse et la testostérone totale pour évaluer l'androgénèse. Si la testostéronémie est basse, il convient de contrôler le résultat sur un nouveau prélèvement et lui associer le dosage de la LH et de la prolactine gonadotrope (Jarow *et al.*, 2001).

VI.5. Bilan radiologique :

L'échographie scrotale est un examen systématique et toujours réalisé dans un bilan d'infertilité. Elle est d'autant plus utile quand l'examen clinique est normal. Elle permet de faire un état des lieux morphologique au niveau du scrotum, du testicule, de l'épididyme, du canal déférent et des structures vasculaires (Nevoux *et al.*, 2009).

Étude histo-fonctionnelle du testicule :

Une étude histo-fonctionnelle du prélèvement de pulpe testiculaire était systématiquement réalisée. Elle permettait de définir 4 groupes (Geoffroy Robin *et al.*, 2010).

Spermatogenèse normale ou subnormale :

Spermatogenèse complète, tubes séminifères bien organisés.

Hypo spermatogenèse :

Spermatogenèse complète mais activité diminuée.

Blocage (ou arrêt) de maturation :

Spermatogenèse incomplète avec arrêt de la méiose par les cellules germinales, toutes bloquées à un stade identique.

Sertoli Cells Only Syndrom (SCO) :

La biopsie montre une absence ou pauvreté des cellules germinales avec ou sans altérations ultra-structurelles des cellules de Sertoli.

VI.6. Investigations génétiques :

Il est recommandé chez les patients présentant une oligozoospermie avec une numération inférieure à 5 millions par mL ou une azoospermie non obstructive de réaliser un caryotype et une recherche de microdélétions du chromosome Y. Les aneuploïdies gonosomiques et les microdélétions du chromosome Y sont retrouvés respectivement dans 2-17% et 14% des cas d'azoospermie non obstructive (ANO) et d'oligozoospermie sévère (OS) (Nevoux *et al.*, 2009).

La présence d'une absence bilatérale des canaux déférents (ABCD) doit indiquer une étude moléculaire du gène CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) chez le patient.

Le CFTR est trouvé muté dans 60-90% des cas d'absence bilatérale des canaux déférents sachant que cette malformation congénitale est responsable d'une azoospermie, mais ce dernier est obstructif (Kherraf, 2017).

VI.7. Extraction chirurgicale des spermatozoïdes :

Tous les patients atteints d'azoospermie ont bénéficié d'un prélèvement chirurgical de spermatozoïdes. Il s'agissait d'une prise en charge chirurgicale selon une technique standardisée. Cette prise en charge n'était envisageable que si une équipe d'PMA avait validé la possible réalisation de FIV-ICSI au sein du couple. Selon les étiologies de l'azoospermie, plusieurs méthodes, peuvent être réalisées lors de l'opération.

TESE (testicular sperm extraction):

Cette technique était utilisée en cas de paramètres en faveur d'une azoospermie non obstructive. Un prélèvement bilatéral était réalisé dans la majorité des cas. Il était seulement unilatéral quand il existait des anomalies parenchymateuses (nodules, plages, hypoéchogène) sur le testicule controlatéral afin de ne pas gêner la surveillance échographique ultérieure.

Dans un premier temps, une incision scrotale d'environ 1 cm était réalisée. Puis, le chirurgien procédait à l'incision et à l'hémostase de la vaginale puis à l'ouverture de l'albuginée. Enfin, à l'extraction de la pulpe testiculaire aux ciseaux, favorisée par une pression soutenue au niveau du testicule (Colpi *et al.*, 2009).

Microdissection /microTESE :

Cette technique a été suggérée pour améliorer la récupération du sperme chez les hommes avec ANO, rapport à celle obtenue avec les techniques décrites précédemment. Elle est basée sur le fait que les tubules séminifères qui contiennent des cellules germinales, sont plus grands et plus dilatés que les tubules qui sont dépourvus de ces cellules germinales (Colpi *et al.*, 2009). L'excision du tissu testiculaire peut être limité, avec un rendement maximisé des spermatozoïdes chez les hommes avec ANO (Bernie *et al.*, 2013). Le rendement d'extraction est ainsi amélioré et la capacité de trouver des spermatozoïdes a presque doublé. En plus on note une baisse de complication vasculaire. Cette technique était relativement moins destructrice et plus sensible que la TESE (Coat *et al.*, 2011; Bernie *et al.*, 2013).

VII. Perspective thérapeutique :**VII.1. Insémination artificielle :**

La technique d'insémination artificielle est une méthode simple, couramment utilisée lorsque les spermatozoïdes ne parviennent pas à atteindre l'ovocyte, lors d'une infertilité inexplicée.

Des spermatozoïdes mobiles, de morphologie normale, sont préparés et concentrés dans un petit volume, puis sont placés au niveau du col de l'utérus (insémination intra-cervicale : IIC) ou directement dans l'utérus à l'aide d'un cathéter (insémination intra-utérine : IIU).

VII.2. Fécondation in vitro (FIV) :

La fécondation in vitro est une technique de procréation assistée qui consiste à pratiquer une fécondation, ou plus au moins une rencontre des spermatozoïdes et de l'ovule, in vitro, donc en dehors des voies génitales de la femme.

Louise Brown, le premier bébé issu de la conception dans une éprouvette en laboratoire, est née le 25 juillet 1978 au Royaume-Uni (Steptoe et Edwards, 1978).

VII.3. FIV avec micro-injection intracytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI) :

En 1992, Palermo et son équipier apportèrent la première grossesse obtenue par l'injection d'un seul spermatozoïde dans le cytoplasme d'un ovocyte mature. Depuis, le traitement de l'infertilité masculine a connu un réel essor (Palermo, 1992). Cette nouvelle technique qui consiste à injecter directement un spermatozoïde dans l'ovocyte à l'aide d'une micropipette, permet ainsi d'éliminer la phase de pénétration nécessitant certaines capacités de la part du spermatozoïde pour cette technique le spermatozoïde retenu est chargé dans une micropipette puis introduit dans le cytoplasme d'un ovocyte mature (en métaphase II) décoronisé maintenu par une micropipette de contention (Bos-Mikich *et al.*, 2016).

Cette pratique a permis de révolutionner et de reclasser les infertilités masculine et elle peut être envisagée avec des spermatozoïdes épидидymaires obtenus par PESA (percutaneous epididymal sperm aspiration) ou MESA (microsurgical epididymal sperm aspiration). Aussi, dans le cadre de l'azoospermie obstructive (AO) ou avec des spermatozoïdes testiculaires obtenus par TESA (percutaneous testicular sperm aspiration), ou encore TESE (conventional testicular sperm extraction) et ceux obtenus par Micro-TESE (microsurgical testicular sperm extraction) quand l'embryologiste est face à une azoospermie non-obstructive.

A decorative graphic of a scroll with a light gray background and a black outline. The scroll is partially unrolled, with the top and bottom edges curled over. The text is centered on the unrolled portion.

Partie II : Partie Pratique

A decorative graphic of a scroll with a grey shadow, framing the text. The scroll is positioned horizontally across the middle of the page, with its ends curling upwards.

Chapitre III :

Matériel et

Méthodes

I. Présentation de la population cible :

I.1 Le groupe d'étude :

Nous avons réalisé une étude rétrospective entre le 1 janvier 2016 et le 1 juin 2019 au niveau du service de reproduction IBN Rochd de Constantine. Les patients ont biopsie testiculaire positive. Notre population est composée de 138 patients azoospermiques avec essentiellement une azoospermie non obstructive, ayant bénéficié tous d'un bilan complet suivi d'une injection intracytoplasmique des spermatozoïdes au bloc opératoire (ICSI).

I.2. Critères d'inclusion des patients :

- Les patients présentent une azoospermie non obstructive suivie d'une biopsie testiculaire (TESE) positive réalisés au laboratoire de la clinique.
- Les patients avec des dossiers complets depuis les examens cliniques jusqu'au résultat de l'ICSI.

I.3. Critères d'exclusion des patients :

- Les patients dont les données hormonales et cliniques étaient insuffisamment renseignés.
- Les patients qui sont atteints d'une azoospermie obstructive.

II. Techniques d'examens du sperme :

L'analyse biologique du sperme est une étape clé de l'évaluation de la fertilité masculine, ces analyses donnent des indications sur la fonction testiculaire et sur l'intégrité du tractus génital masculin. Elle comprend généralement le spermogramme

II.1. Le spermogramme :

II.1.1. Définition :

C'est un examen biologique et médical des paramètres qui constituent le sperme. Le spermogramme permet d'évaluer la fertilité masculine, et il est demandé en cas d'hypofertilité du couple.

II.1.2. Méthodologie :

II.1.2.1. Prélèvement :

Le recueil du sperme doit être réalisé dans des conditions matérielles et physiologiques très précises :

- Après 3-4 jours d'abstinence sexuelle. afin d'augmenter le nombre des spermatozoïdes

- Le recueil se fait sur place au laboratoire pour éliminer le facteur de temps et les conditions de transport.
- Le recueil s'effectue par masturbation, dans une pièce isolée dédiée à cet examen.
- Le sperme est directement recueilli dans un flacon stérile, à large embouchure. A usage unique identifiée
- Arrêt de tout traitement susceptible d'avoir une action sur la spermatogénèse.
- Se renseigné sur un éventuel épisode infectieuse hyperthermique précédant l'examen (3 mois)
- Prise médicamenteuses

II.2.1.2. Liquéfaction :

Le flacon contenant le sperme doit être mis rapidement dans une étuve réglé à 37° dans un temps estimé de 20 jusqu'à 30 minute pour sa liquéfaction. Une liquéfaction prolongée doit être noté.

II.2.1.3. Examen macroscopique :

L'examen commence juste après le temps nécessaire à liquéfaction.

Le volume :

Le volume du sperme est mesuré par peser.

La couleur du sperme :

L'observation de la couleur est faite à l'œil nu, sur un fond blanc. Un sperme normal à un aspect homogène gris opalescent. Le sperme peut adopter une couleur jaunâtre ou hématiche, ces aspects indiquent que le sujet est atteint d'une infection.

L'odeur du sperme :

On utilise notre propre odorat pour déterminer ce paramètre. Le sperme à une odeur chloré et elle est dite caractéristique.

La viscosité :

La viscosité est appréciée à l'aide d'une pipette pasteur, en laissant couler le sperme contre la paroi d'une lame et en observant cet écoulement. La viscosité peut également être mesurée par un viscosimètre.

Le pH :

Le pH du sperme est mesuré grâce à un papier indicateur. Qu'on dépose dans la boîte de pétrie qui contient l'échantillon spermatique, et par la suite on le compare à une échelle colorimétrique. Cette opération peut se faire avec d'un pH mètre.

II.2.1.4. Examen microscopique :

L'examen microscopique est réalisé après la préparation des échantillons en fonction des paramètres à étudier puis une observation microscopique.

La mobilité :

La lecture de la mobilité spermatique est réalisée à l'aide d'un microscope à platine chauffante (37 °C) et elle est opérateur-dépendante.

Pour pouvoir observer la mobilité des spermatozoïdes il faut :

- 1-homogénéiser le sperme pour remettre en suspension les spermatozoïdes
- 2- placer une goutte calibrée de 10 µl entre lame et lamelle
- 3-Puis mettre sous microscope optique à objectif 40 x

Dans le cas de notre population d'étude qui est atteint d'azoospermie nous n'observons aucun spermatozoïde

Afin de confirmer ce diagnostic, une centrifugation est alors réalisée. L'échantillon spermatique est centrifugé à 2500 tour pendant 10 min dans une centrifugeuse de type Hettich.

Une fois cette opération est terminée. Le culot obtenu est récupéré et la même opération classique qui permet de mesurer la mobilité est répété :

- homogénéiser le culot spermatique pour remettre en suspension les spermatozoïdes
- placer une goutte calibrée de 10 µl entre lame et lamelle
- Puis observer sous microscope optique à objectif 40 x

Dans le centre ibn rochd, on procède à l'examen de l'échantillon en déposant plusieurs microgouttes dans une boîte de pétrie sous l'huile avec microscope inversé

Si après ces examens les spermatozoïdes sont toujours absents, le diagnostic d'azoospermie est confirmé

Un bilan complet est indispensable pour l'évaluation de l'azoospermie :

- Bilan hormonale : FSH, LH, TESTOSTERONE, TSH, Prolactine, Inhibine-B
- Bilan radiologique : échographie scrotale, écho-doppler
- Bilan génétique : caryotype, recherche de micro délétion du chromosome Y, recherche de la mutation du gène CFTR

Tous ces examens permettent de distinguer : une azoospermie obstructive ou non-obstructive et une éventuelle biopsie testiculaire est proposée aux patients après une évaluation de la réserve ovarienne (bilan hormonale AMH, CFA).

III. Technique de l'ICSI :

C'est une fécondation in vitro (FIV) avec micro-injection directe d'un spermatozoïde dans l'ovocyte, donc il s'agit d'une fusion d'un gamète mâle et d'un gamète féminin obtenu artificiellement.

III.1 Le recueil des gamètes :

III.1.1 Le recueil des spermatozoïdes :

A Ibn Rochd les biopsies testiculaires (TESE) sont programmées en générale de façon asynchrone

Dans un premier temps, une incision scrotale d'environ 1 cm était réalisée. Puis, le chirurgien procédait à l'incision et à l'hémostase de la vaginale, puis à l'ouverture de l'albuginée. Enfin, à l'extraction de la pulpe testiculaire aux ciseaux, favorisée par une pression soutenue au niveau du testicule.

Cette technique est utilisée actuellement au niveau de la clinique IBN ROCHD. Des complications sont rares, peuvent survenir telles que : blessure épидидymaire, hématome, infection (orchite ou épидидymite). Une atteinte vasculaire peut également conduire à une atrophie testiculaire, surtout si les biopsies sont multifocales. Malgré ces limites, cette méthode est celle qui permet un taux élevé d'extraction de spermatozoïdes et l'obtention d'un examen histologique en même temps.

Après prélèvement de 3-4 échantillons de chaque testicule, ils sont envoyés au laboratoire pour la recherche de spermatozoïdes. On calcule le pourcentage de positivité, on évalue leur nombre et leur mobilité ; ils seront congelés avec un milieu de congélation (spermfreez) dans des paillettes et stockés dans des cuves d'azote liquide à -45° C. Les paillettes seront conservées jusqu'au jour de leur utilisation pour une micro injection.

Quand il s'agit de spermatozoïdes immobiles, il est nécessaire de s'assurer de leur viabilité avant de les injecter dans les ovocytes. La vérification de cette viabilité des spermatozoïdes se fait par la pentoxifylline (voir annexe 1), cette substance induit et améliore la mobilité de spermatozoïdes frais

ou décongelés d'origine testiculaires ou épидидymaires totalement immobiles, ce qui permet de détecter et sélectionner les spermatozoïdes vivants et mobiles dans le cadre de l'ICSI, mais vue la toxicité éventuelle de la pentoxifylline sur l'ovocyte et l'embryon, il faut laver la pipette et les spermatozoïdes mobiles sélectionnés avant la réalisation de l'injection.

III.1.2. Recueil des ovocytes :

III.1.2.1. Stimulation et ponction :

La stimulation ovarienne débute à partir du deuxième jour du cycle par injection de FSH exogène (Gonal-F ; Sereno ou Purugan ; Organon) la dose est adaptée en fonction de l'âge, du bilan hormonal, de réserve ovarienne et de l'indice de masse corporelle. Un premier control est effectué au cinquième jour de la stimulation, par monitoring échographique et si le diamètre des follicules est situé entre 13 à 14 mm alors on administre des antagonistes de la GnRH : Cetrotide 0.25 ; ou, Orgalutran 0.25. Lorsque les follicules ont atteints la taille désirée de 17 mm, le déclenchement de l'ovulation est fait par l'injection de 5000 Unités de HcG. La ponction ovarienne est effectuée trente-six heures après le déclenchement par voie endovaginale sous anesthésie générales.

III.1.2.2 Traitement d'ovocyte :

- La ponction se fait 36 heures après l'injection de l'Ovitrelle (100ug pour un follicule).
- Les follicules sont lavés dans un milieu de lavage, le FertiCultFlushing medium (voir annexe 2)
- La décoronisation (éclosion) des follicules est réalisée par l'ajout de 150 ul de l'hyaluronidase (Hyaluronidase in FertiCultFlushing medium voir annexe 3)

III.2. fécondation in vitro :

- Une microgoutte de 10ul de polyvinylpyrrolidone : PVP (10% PVP in FertiCultFlushing medium voir annexe 4) est étendu dans la boîte pétri.
- 1 ul de la suspension de sperme préparée est placée au milieu de cette gouttelette de PVP.
- 4 à 8 gouttelettes de 5 ul de milieu de culture des ovocytes, FertiCult IVF medium ' voir annexe 5 et 6), sont mises autour de la gouttelette de PVP contenant les spermatozoïdes.
- Environ 4-5 ml de paraffine liquide ou huile minéral (FertiCultMiniralOil, voir annexe 7) sont doucement versés dans la boîte pour couvrir ces gouttelettes.
- La boîte est alors retournée à l'incubateur à 37 °C pendant environ 30 minutes avant de transférer les ovocytes dans les gouttelettes de culture prêtes pour l'ICSI.

Au cœur de l'équipement installé on trouve un microscope à contraste de phase inversé (figure 9).

L'équipement de Micromanipulation est monté sur le microscope pour l'usage pendant le procédé d'ICSI (figure 10). La micropipette, chargée d'un seul spermatozoïde, est introduite dans le cytoplasme ovulaire, qui est aspiré en partie pour vérifier la pénétration, puis refoulé à sa place en même temps que le spermatozoïde (figure 11). La préparation est remise à l'étuve. Le lendemain matin, au bout de 17 heures environ, un nouvel examen permet de repérer les deux pronucléus. Le surlendemain, les embryons, au stade de deux à quatre cellules, sont classés.

III.3. Culture Embryonnaire :

Après quarante-huit heures de la mise en fécondation, les embryons mis en culture sont observés et contrôlés à l'aide d'un microscope optique inversé Olympus sous grossissement 400 x. Ils sont par la suite classés en fonction de leur morphologie afin d'établir la qualité embryonnaire.

La qualité morphologique des embryons est évaluée 24 heures après la fécondation. Généralement, 2 embryons est transférés 2 à 3 jours après l'ICSI.

Les embryons surnuméraires y compris les blastocyste sont congelés

IV. Phase lutéale et test de grossesse :

- La phase lutéale est soutenue par la progestérone (600mg/jour) juste après la ponction et jusqu'au jour du test de grossesse (après 15 jours).
- Le test de grossesse positif de BHCG correspond à un taux de BHCG égal à 10 UI/L.
- La grossesse clinique été définie par la présence d'un sac gestationnel intra-utérin 3 à 4 semaines après le test de BHCG.

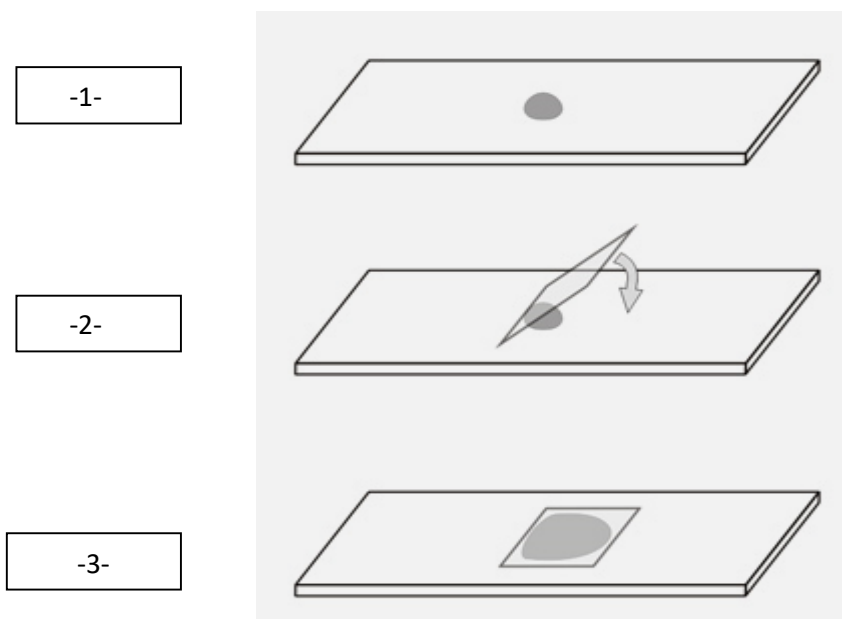


Figure. 8 : Les étapes de l'examen de la mobilité.

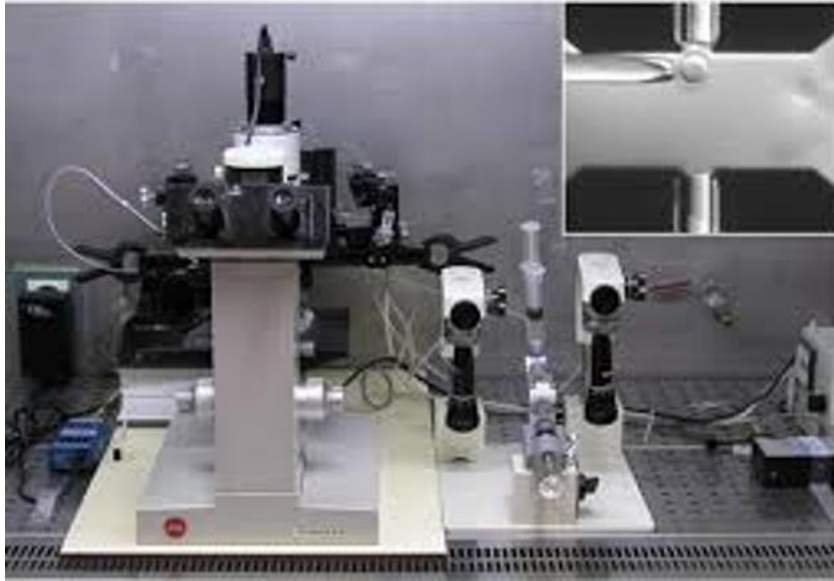


Figure. 9 : Microscope avec l'équipement de micromanipulation et les micro-injecteurs.



Figure. 10 : Vue supérieure proche d'une partie de microscope montrant la plaque métallique électriquement chauffée sur laquelle la boîte contenant les gamètes est placée.

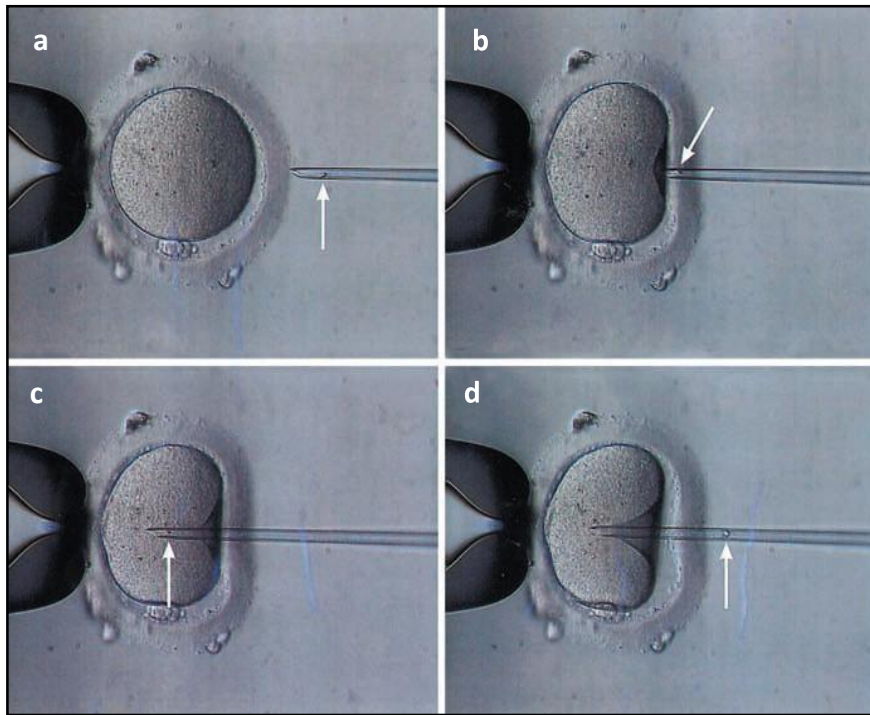


Figure. 11 : Injection d'un seul spermatozoïde mobile dans le cytoplasme ovocytaire (ICSI)

- a: Le spermatozoïde est capturé par la micropipette d'injection, qui est alors dirigée vers l'ovocyte fixé par une pipette de maintien. b: La pénétration de zone pellucide
 c: La pénétration de membrane vitelline de l'ovocyte. d: L'aspiration de cytoplasme dans la pipette d'injection avant que le spermatozoïde est transmise dans l'ovocyte.



Chapitre IV : Résultats et Interprétations

Pour la réalisation de ce travail, on a traité 533 dossiers d'ICSI pour des patients ayant une azoospermie. Nous avons éliminé les dossiers des patients présentant une azoospermie obstructive et qui sont incomplets. Au final, on a retenu 138 dossiers.

I. Etude descriptive :

- **Répartition selon l'âge :**

Tableau. 2 : statistiques descriptives des patients selon l'Age.

	N	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart type
Age	138	29	54	37,96	5,082

La moyenne d'âge des patients est de (37,96) ans, l'âge minimum est de 29 ans, l'âge maximum de 54 ans et l'Ecart type est de (5,082). Cela veut dire que la plus part des patients ayant un âge entre 32-42 ans. Nous avons établi une standardisation des catégories d'âge les plus fréquents en cinq catégories :

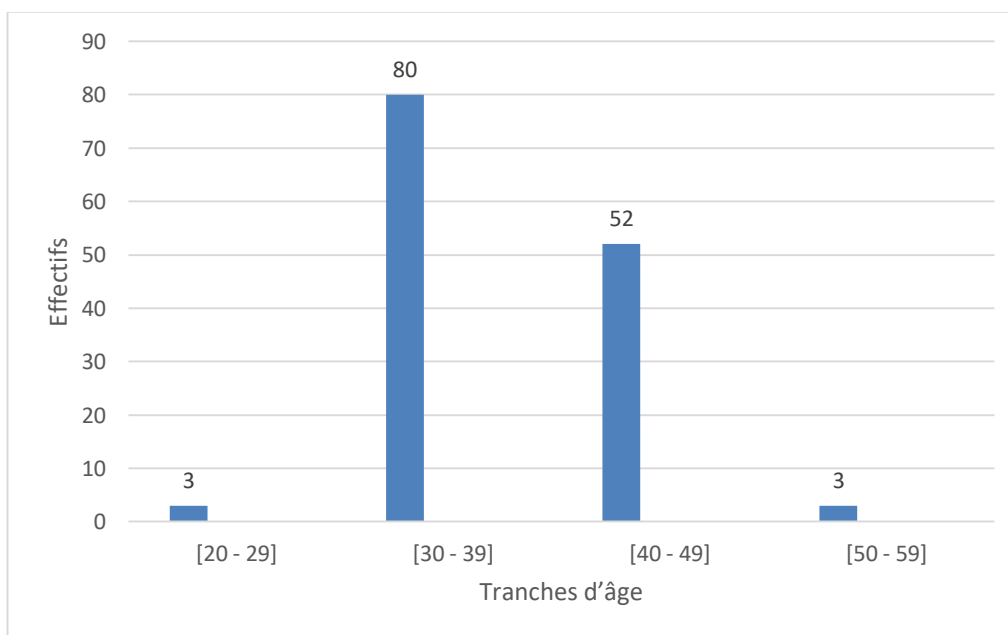


Figure. 12 : Répartition des patients selon les tranches d'âge.

On observe une prédominance dans les tranches d'âge [30 – 39] ans (58%) et [40 – 49] ans (37,6%), suivi par les deux tranches d'âge [20 – 29] ans et [50 – 59] ans qui ont que (2,2%) pour chaque tranche.

- **Répartition selon le bilan hormonale :**

- ❖ **FSH :**

Le taux de FSH est mesuré en UI/L. Les valeurs normales se situent entre 1.5 et 12.4 UI/L (Simoni *et al.*, 1999 ; Chernecky et Berger, 2012). 138 hommes ont été bénéficiés d'un dosage préopératoire. La moyenne est de 8,86 UI/L.

Tableau. 3 : Répartition des patients selon le taux de FSH.

		Fréquence	Pourcentage %
Taux De FSH	Très élevé Au-delà 24,8 UI/L	13	9,4
	Elevé [12,4 ; 24,8]UI/L	15	10,9
	Normal [1,5 ; 12,4]UI/L	110	79,7
	Total	138	100,0

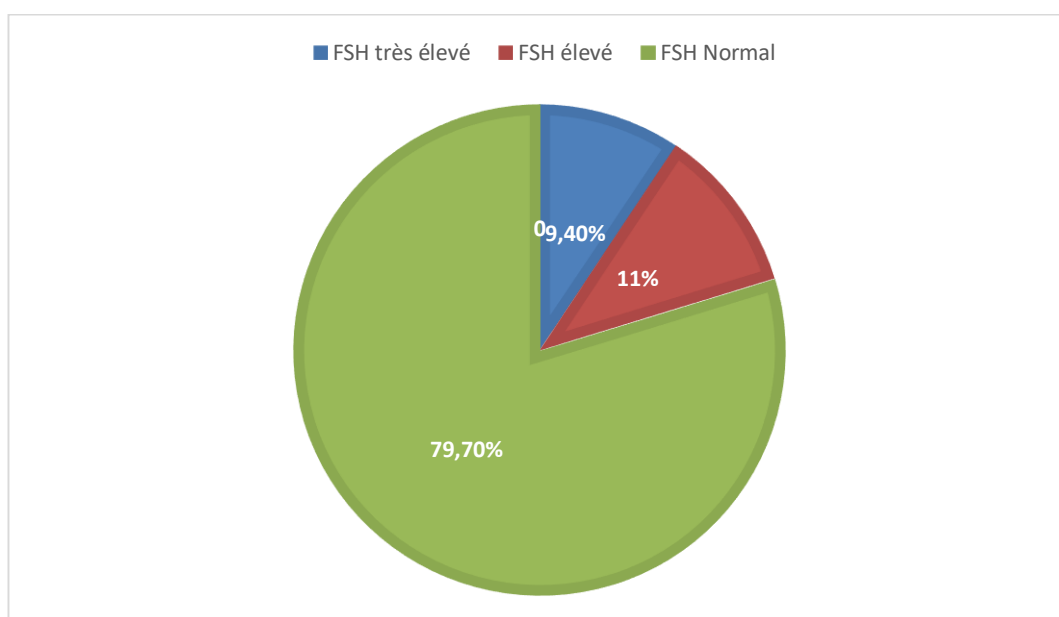


Figure. 13 : Répartition des patients selon le taux de FSH.

On constate que parmi notre population plus de la moitié (79,70%) des patients ayant un taux de FSH normal. Cependant, (20,3%) ont un taux qui n'est pas normal, soit élevé (10,90%) ou très élevé (9,40%).

❖ **LH :**

Le taux de LH est mesuré en UI/L. Les valeurs normales se situent entre 1,1 et 7 UI/L (Chernecky et Berger, 2012). Les patients ont été bénéficiés de ce dosage, la moyenne est de 1,57 UI/L et l'écart-type est de 0,81 UI/L.

Tableau. 4 : Répartition des patients selon le taux de LH.

		Pourcentage %
Taux De LH	Elevé	20,8
	Bas	1,5
	Normal	77,7
	Total	100,0

D'après le (Tableau 4) la majorité des patients (77,7%) ont des taux de LH normal, après on trouve les patients qui ont un taux élevé avec un nombre important (20,8%), mais on a que (1,5%) des patients ayant un taux de LH bas.

❖ **La testostérone :**

Le taux de testostérone est mesuré en ng/ml. Les valeurs normales se situent entre 3 et 10 ng/ml. Les patients ont réalisé ce dosage préopératoire, la moyenne est de 7,05 ng/ ml et l'écart-type est de 5.97 ng/ml.

Tableau. 5 : Répartition des patients selon le taux de Testostérone.

		Pourcentage %
Taux De Testostérone	Elevé	17,9
	Bas	15,4
	Normal	66,7
	Total	100,0

On remarque que plus de la moitié des patients (66,7%) ont un taux de testostérone normal. Ainsi qu'une équivalence entre les patients qui ont un taux élevé (17,9%) et les patients qui ont un taux bas (15,4%).

• **Répartition selon le volume testiculaire:**

Les dimensions testiculaires sont mesurées par échographie scrotal. Nous avons disposé la conclusion des échographies. Ainsi, nos données seront réparties en trois catégories en fonction du volume testiculaire :

- Testicule atrophique <5mm
- Testicule hypotrophique 05mm a 15 mm
- Testicule normal supérieur à 15mm

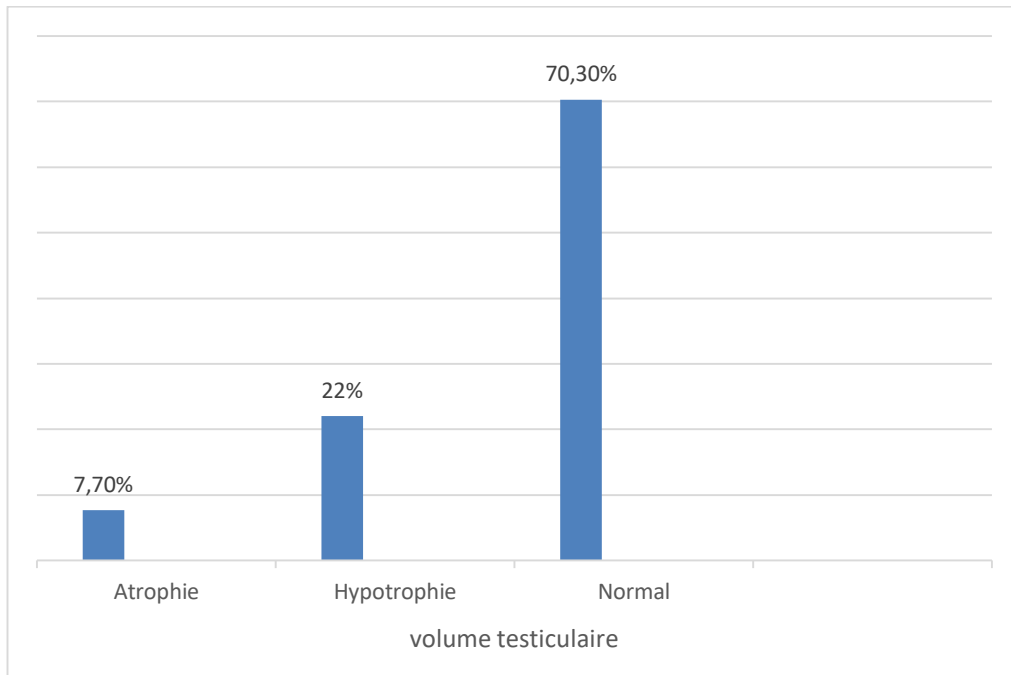


Figure. 14 : Répartition des patients selon le volume testiculaire.

On constate que presque la majorité des cas (70,3%) représente un volume testiculaire normal, (22%) présentent une hypotrophie testiculaire et (7,7%) de notre population présentant une atrophie testiculaire.

- **Répartition selon la Varicocèle:**

On a réparti les patients selon la présence ou l'absence de dilatation des veines situées au niveau du cordon spermatique.

Tableau. 6 : Répartition des patients selon la présence de varicocèle.

		Fréquence	Pourcentage %
Varicocèle	Sans	113	81,9
	Avec	25	18,1
	Total	138	100,0

Le (Tableau 6) montre une dominance des patients qui n'ont pas de varicocèle (81,9%) donc les (18,1%) qui restent sont des patients ayant une varicocèle.

- **Répartition selon la quantité des spermatozoïdes:**

Les biopsies testiculaires de Tous les patients sont positives mais la quantité des spermatozoïdes extraite diffère d'un patient à un autre. Elle peut être riche, moyenne, peu ou rare lors du prélèvement.

Tableau. 7 : Répartition des patients selon la quantité des spermatozoïdes.

		Pourcentage %	Pourcentage cumulé %
Quantité Des Spermatozoïdes	Rare	2,1	2,1
	Pauvre	4,2	6,3
	Moyenne	6,3	12,5
	Riche	87,5	100,0
	Total	100,0	

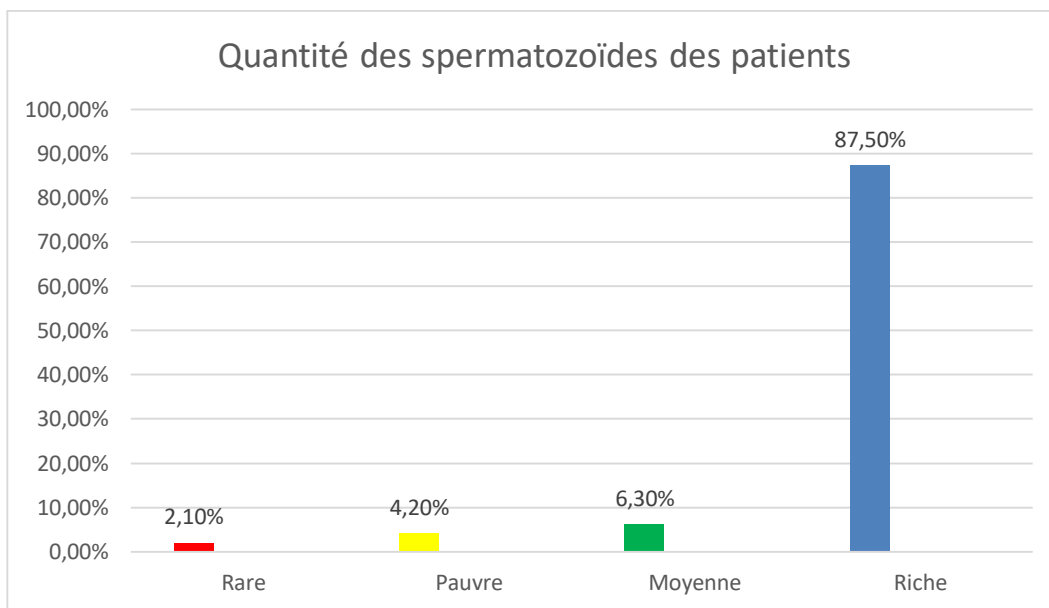


Figure. 15 : Répartition des patients selon la quantité des spermatozoïdes.

Presque la totalité des patients (87,5%) ont une quantité riche des spermatozoïdes après l’extraction. Les patients qui ont une quantité moyenne représentent (6,30%) de la population. Aussi, on trouve les deux quantités pauvres et rares représentant (4,2%) et (2,1%) de population.

- **Répartition selon l’utilisation de pentoxifylline (SpermMobil) :**

Après la décongélation, pour les spermatozoïdes qui sont immobiles, on utilise un produit qui s’appelle SpermMobil (pentoxifylline) pour but de rendre ces spermatozoïdes mobiles.

Tableau. 8 : Répartition des patients selon l’utilisation de la pentoxifylline.

		Fréquence	Pourcentage %	Pourcentage cumulé %
pentoxifylline	Sans	128	92,8	92,8
	Avec	10	7,2	100,0
	Total	138	100,0	

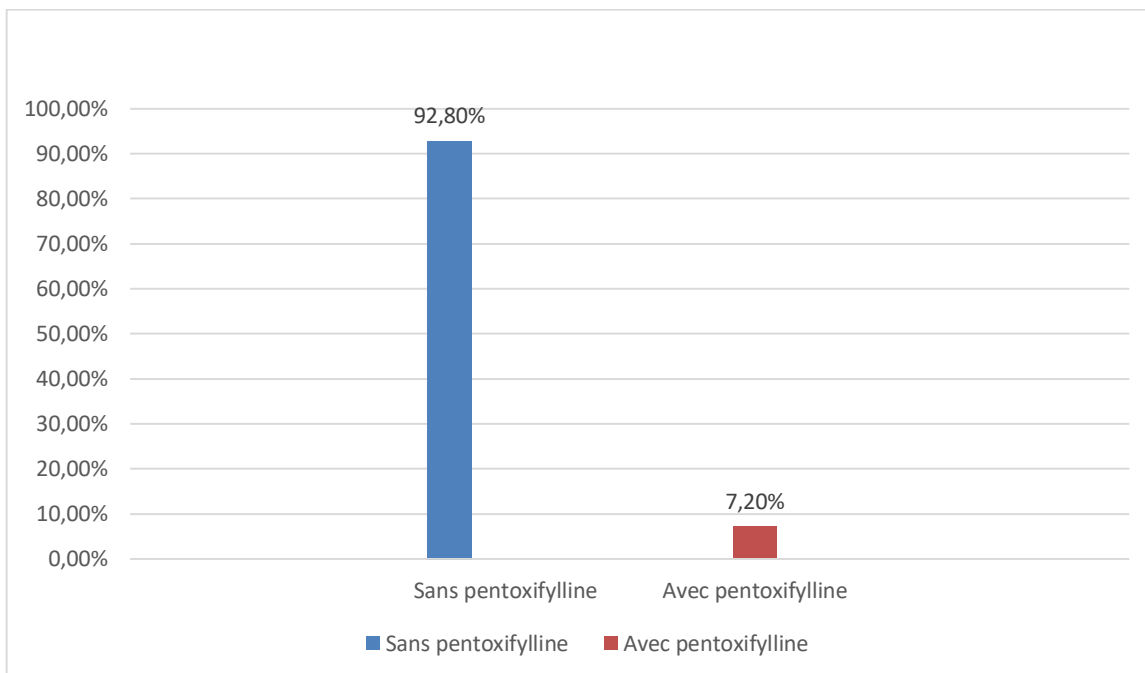


Figure. 16 : Répartition des patients selon l'utilisation de la pentoxifylline.

D'après la (figure 16) on remarque la dominance des patients qui ne sont pas bénéficiés par l'utilisation de pentoxifylline (92,8%) et juste (7,2%) des patients qui nous l'ont utilisé sur leurs spermatozoïdes.

- **Répartition selon les résultats de diagnostic histologique :**

Tableau. 9 : Répartition des patients selon le diagnostic histologique.

		Fréquence	Pourcentage %
Diagnostic histologique	Fibrose	5	3,6
	Sertoli Cells Only Syndrom	26	18,8
	Arrêt de maturation	21	15,2
	Mixte	7	5,1
	Hypo spermatogenèse	79	57,2
	Total	138	100,0

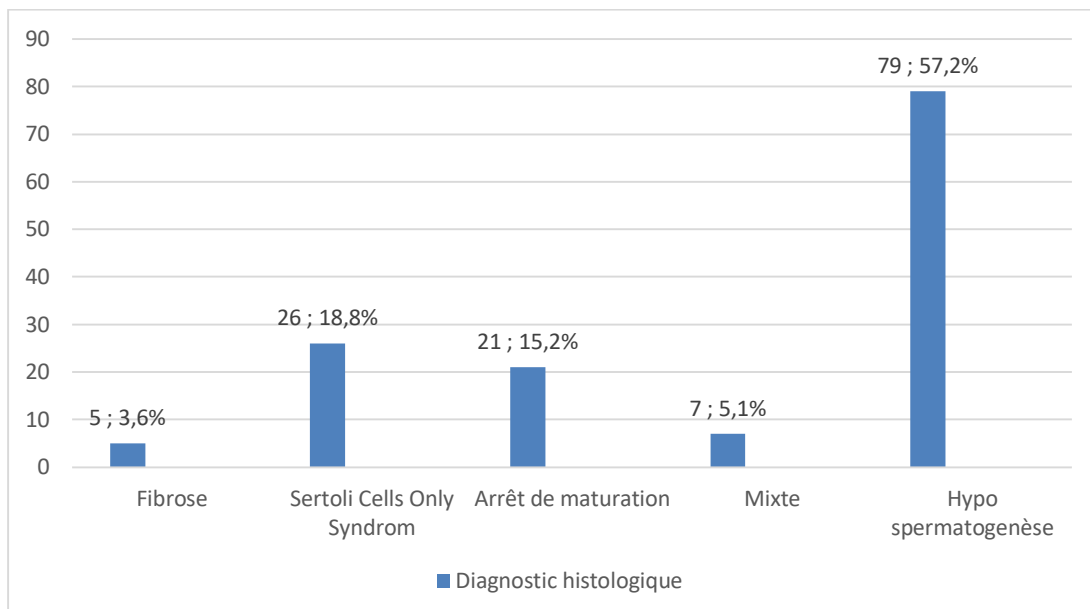


Figure. 17 : Répartition des patients selon le diagnostic histologique.

D’après la (figure 17), plus de la moitié des patients (57,2%) ont une hypo spermatogenèse. Ensuite, les deux types histologiques Sertoli cells only syndrom et arrêt de maturation représentent (18,8%) et (15,2%) des patients et en dernier les deux types Mixte et fibrose ne représentent que (5,1%) et (3,6%) des patients.

- **Répartition selon l’âge des femmes des patients :**

Tableau. 10 : statistiques descriptives des patients selon l’Age des femmes.

	N	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart type
Age des Femmes	138	25	44	33,30	4,772
N valide	138				

Tableau. 11 : Répartition selon l’âge des femmes des patients.

	Fréquence	Pourcentage %
Tranches d’âge des femmes des patients <30	37	26,8
[30;35]	55	39,9
[36;40]	35	25,4
>40	11	8,0
Total	138	100,0

D’après le (tableau 11), (39,9%) des patients ont des femmes âgées entre 30 et 35 ans, (26,8%) des patients leurs femmes ont moins de 30 ans, (25,4%) des patients ont des femmes âgées entre 36 et 40 ans et (8%) des patients leurs femmes ont plus de 40 ans.

- **Répartition selon le nombre d'ovocytes matures des femmes des patients :**

Tableau. 12 : Répartition des patients selon le nombre d'ovocytes matures des femmes.

		Fréquence	Pourcentage %
nombre d'ovocytes matures	<2	15	10,9
	[2;5]	59	42,8
	[6;9]	44	31,9
	>9	20	14,5
	Total	138	100,0

D'après le (tableau 12), (10,9%) des femmes des patients ont un nombre d'ovocytes matures moins de 2. (42,8%) des femmes des patients ont un nombre d'ovocytes matures entre 2 et 5. (31,9%) des femmes des patients ont un nombre d'ovocytes matures entre 6 et 9. (14,5%) des femmes des patients ont un nombre d'ovocytes matures plus de 9.

- **Répartition selon le nombre d'embryons obtenus :**

Tableau. 13 : Etude descriptive des patients selon le nombre d'embryons obtenus.

	N	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart type
Nombre d'embryons obtenus	138	0	9	2,37	1,963
N valide	138				

Tableau. 14 : Répartition des patients selon le nombre d'embryons obtenus.

		Fréquence	Pourcentage %
Nombre d'embryons obtenus	<2	53	38,4
	[2;4]	65	47,1
	>4	20	14,5
	Total	138	100,0

On a (47,1%) des patients ont un nombre d'embryons obtenus entre 2 et 4. Ensuite, (38,4%) ont un nombre inférieur à 2 et en dernier, ce qui ont un nombre supérieur à 4 sont (14,5%).

- **Répartition selon le nombre d'embryons transférés :**

Tableau. 15 : Répartition des patients selon le nombre d'embryons transférés.

		Fréquence	Pourcentage %
nombre d'embryons transférés	0	24	17,4
	1	25	18,1
	2	53	38,4
	3	33	23,9
	4	3	2,2
	Total	138	100,0

(17,4%) des patients n'ont pas des embryons transférés. (18,1%) des patients ont un seul embryon transféré. (38,4%) des patients ont deux embryons transférés. (23,9%) des patients ont trois embryons transférés. (2,2%) des patients ont quatre embryons transférés.

- **Répartition selon la qualité embryonnaire :**

La qualité embryonnaire est le degré de fragmentation. Compte-tenu du pourcentage de l'espace qu'elle occupe, la fragmentation est catégorisée en 4 types ou degrés :

- Illustration A : les fragments occupent moins de 10 % de l'espace libre entre les cellules.
- Illustration B : les fragments occupent entre 10 % et 25 %.
- Illustration C : les fragments occupent entre 25 % et 35 %.
- Illustration D : les fragments occupent plus de 35 % de l'espace libre entre les cellules (Sutter *et al.*, 1996).

Tableau. 16 : Répartition des patients selon la qualité embryonnaire.

		Fréquence	Pourcentage valide
Qualité embryonnaire	D	1	0,9
	C	14	12,3
	B	32	28,1
	A	67	58,8
	Total	114	100,0

Nos patients ont (0,9%) des embryons transférés de qualité D, (12,3%) de qualité C, (28,1%) de qualité B et (58,8%) de qualité A.

- **Répartition selon le taux de réussite d’ICSI/TESE :**

Tableau. 17 : Répartition des patients selon les résultats d’ICSI.

		Fréquence	Pourcentage %
Résulta D’ICSI	Négatif	109	79,0
	Positif	29	21,0
	Total	138	100,0

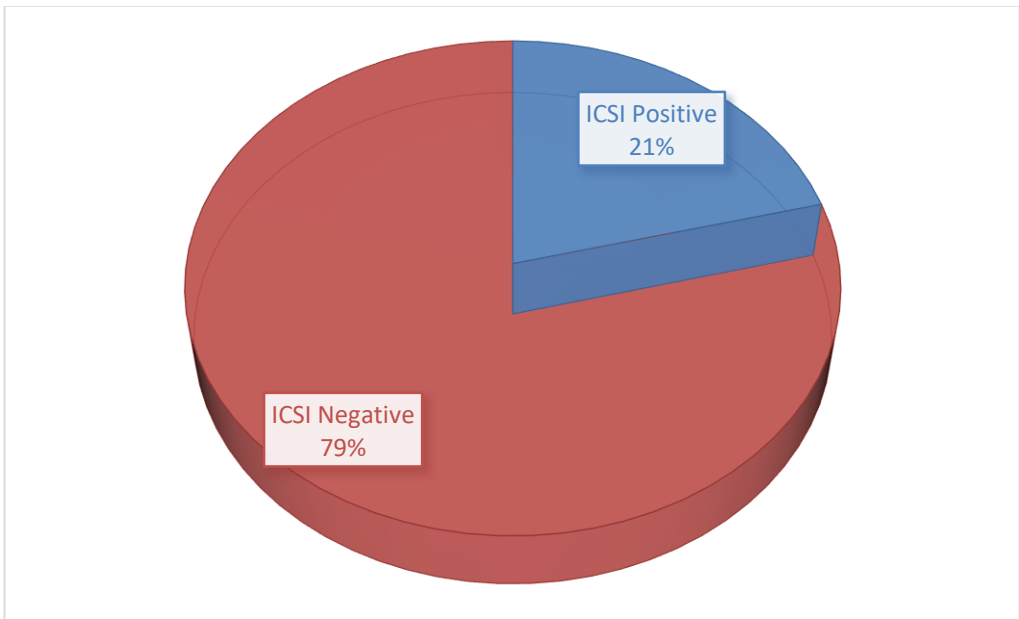


Figure. 18 : Répartition des patients selon les résultats d’ICSI.

Le secteur dans la (figure 18) nous montre que le taux de réussite d’ICSI est (1/4)

- **Répartition de résultat d’ICSI en fonction de l’âge :**

Tableau. 18 : Répartition des patients selon les tranches d’âge et les résultats d’ICSI.

		Résultat d’ICSI			
		Négatif		Positif	
		Nombre	Pourcentage %	Nombre	Pourcentage %
Tranches d’Ages	[20-29]	2	66,66	1	33,33
	[30-39]	66	82,5	14	17,5
	[40-49]	38	73,07	14	26,93
	[50-59]	3	100	0	0
Totale		109		29	

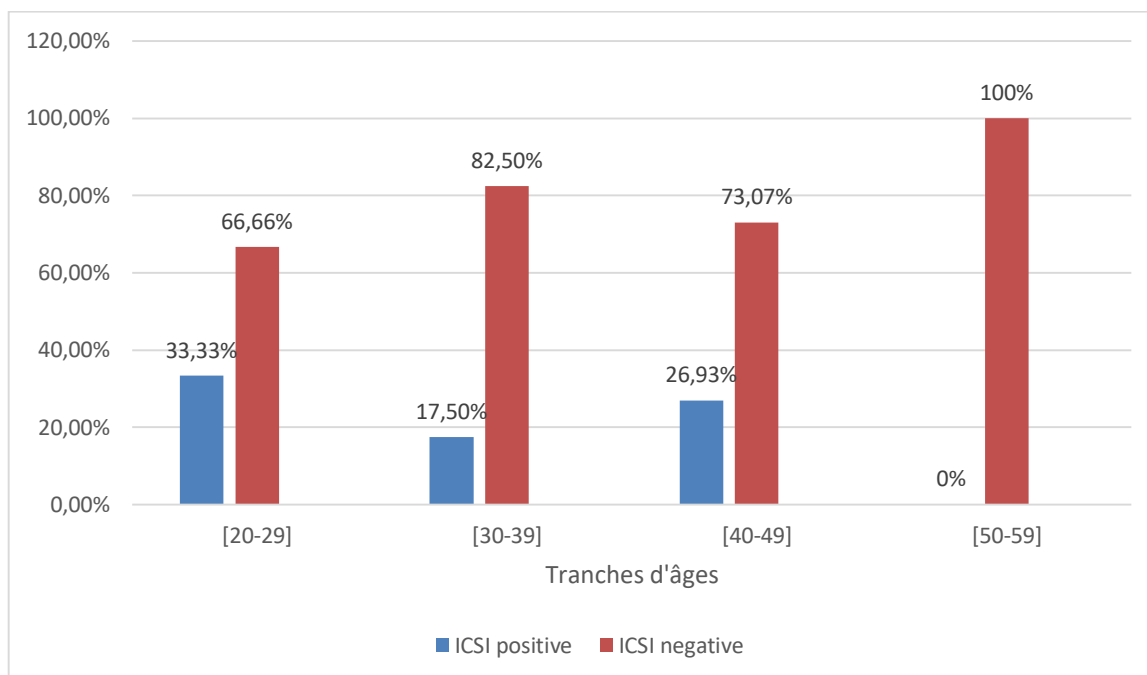


Figure. 19 : Répartition des patients selon les tranches d'âge et les résultats d'ICSI.

D'après l'étude descriptive illustrée dans le (tableau 18) et la (figure 19), les patients qui ont un âge entre 20 et 29 ans ont un taux de (33,33%) de réussite d'ICSI. les patients qui ont un âge entre 30 et 39 ans ont un taux de (17,50%) de réussite d'ICSI. les patients qui ont un âge entre 40 et 99 ans ont un taux de (26,93%) de réussite d'ICSI et les patients qui ont un âge entre 50 et 59 ans ont un taux (0%) de réussite d'ICSI.

- **Répartition selon le taux de FSH et les résultats d'ICSI :**

Tableau. 19 : Répartition des patients selon le taux de FSH et les résultats d'ICSI.

		Résultat d'ICSI			
		négatif		Positif	
		Nombre	Pourcentage %	Nombre	Pourcentage %
Taux de FSH	Très élevé	11	84,61	2	15,39
	Elevé	12	80	3	20
	Normal	86	78,18	24	21,82
Totale		109		29	

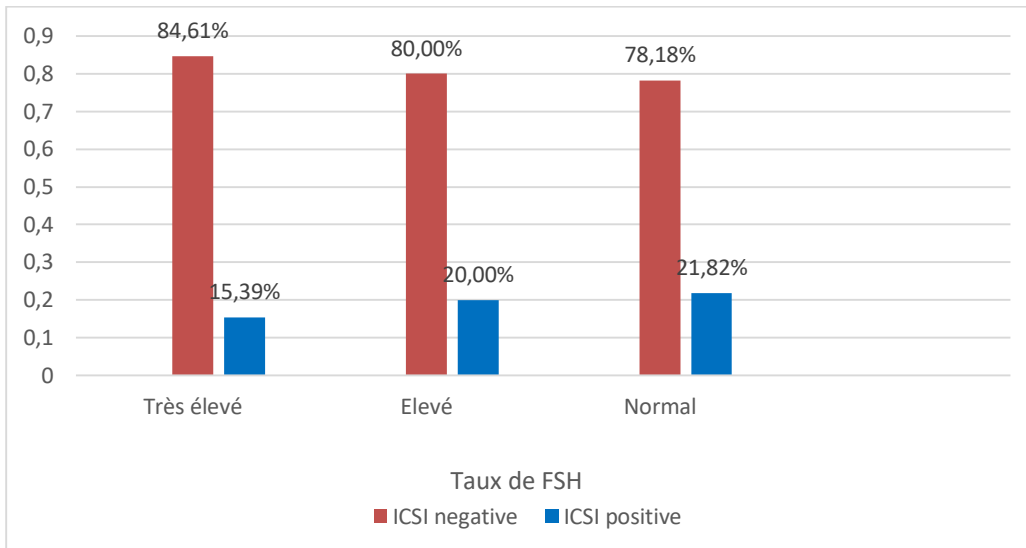


Figure. 20 : Répartition des patients selon le taux de FSH et les résultats d'ICSI.

On observe d'après la (figure 20), (21,82%) des patients qui ont un taux de FSH normal ont un résultat d'ICSI positif, (20,00%) qui ont un taux de FSH élevé ont un résultat d'ICSI positif et (15,39%) des patients qui ont un taux de FSH très élevé ont un résultat d'ICSI positif.

- **Répartition selon le volume testiculaire et les résultats d'ICSI :**

Tableau. 20 : Répartition des patients selon le volume testiculaire et les résultats d'ICSI.

		Résultat d'ICSI	
		négatif	Positif
		%	%
Volume Testiculaire	Atrophie	100	0
	Hypotrophie	75	25
	Normal	73,43	26,57

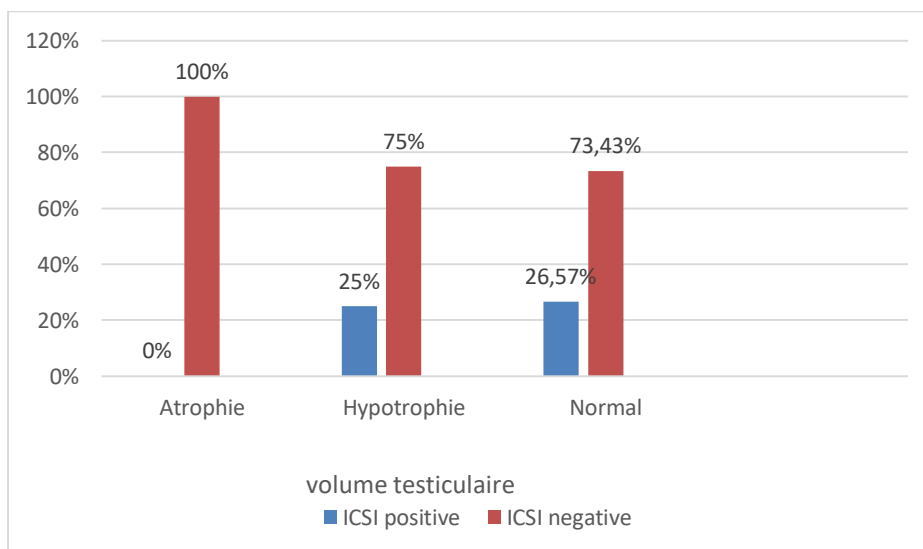


Figure. 21 : Répartition des patients selon le volume testiculaire et les résultats d'ICSI.

Le (tableau 12) montre les patients qui ont un volume testiculaire normal et hypotrophique ont un taux de (26,57%) et (25%) de réussite d'ICSI. par contre, il n'y a pas des patients qui ont un volume testiculaire atrophique qui ont des résultats d'ICSI positifs.

- **Répartition selon le Varicocèle et le résultat d'ICSI:**

Tableau. 21 : Répartition des patients selon la varicocèle et les résultats d'ICSI.

		Résultat d'ICSI			
		Négatif		Positif	
		Nombre	%	Nombre	%
Varicocèle	Sans	90	79,64	23	20,36
	Avec	19	76	6	24

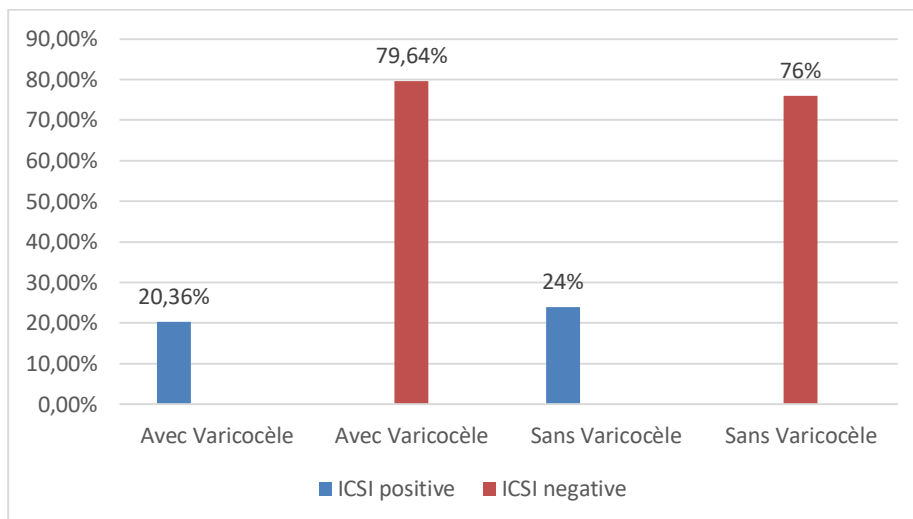


Figure. 22 : Répartition des patients selon la varicocèle et les résultats d'ICSI.

Le taux d'obtenir un résultat d'ICSI positif chez les patients qui n'ont pas de varicocèle est (24%) et (20,36%) de chance pour les patients ayant une varicocèle.

- **Répartition selon la quantité des spermatozoïdes et le résultat d'ICSI :**

Tableau. 22 : Répartition des patients selon la quantité des spermatozoïdes et les résultats d'ICSI.

		Résultat d'ICSI			
		négatif		Positif	
		Nombre	%	Nombre	%
Quantité	Rare	2	100	0	0
	Pauvre	3	75	1	25
	Moyenne	6	100	0	0
	Riche	65	77,38%	19	22,62%

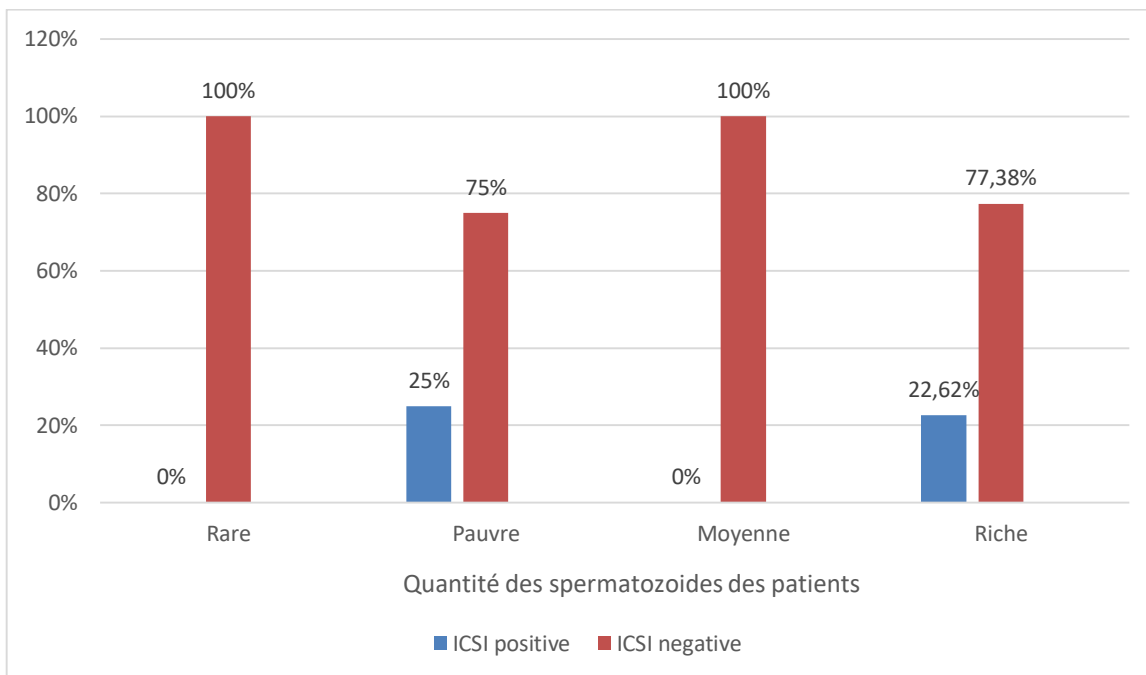


Figure. 23 : Répartition des patients selon la quantité des spermatozoïdes et les résultats d'ICSI.

D'après le (tableau 22), (25%) des patients qui ont une pauvre quantité de spermatozoïdes ont un résultat d'ICSI positif, aussi pour les patients qui ont une quantité riche avec (22,62%) de taux de réussite, par contre il n'y a pas de résultat positif pour les patients qui ont une quantité moyenne ou rare des spermatozoïdes.

- **Répartition selon le type histologique et le résultat d'ICSI :**

Tableau. 23 : Répartition des patients selon le type histologique et les résultats d'ICSI.

		Résultat d'ICSI			
		Négatif		Positif	
		Nombre	%	Nombre	%
Type Histologique	Fibrose	4	80	1	20
	Sertoli Cells Only Syndrom	21	80,7	5	19,3
	Arrêt de maturation	20	95,2	1	4,8
	Mixte	5	71,42	2	28,58
	Hypo spermatogenèse	59	74,68	20	25,32
Totale		109		29	

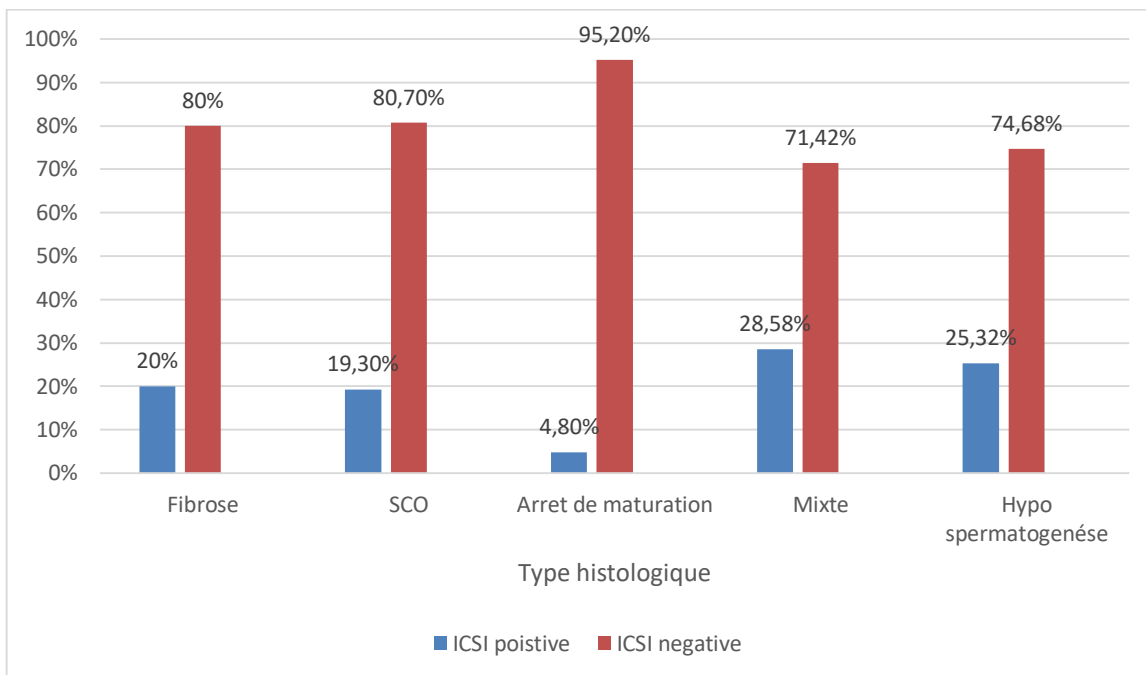


Figure. 24 : Répartition des patients selon le type histologique et les résultats d'ICSI.

On observe d'après la (figure 24), les patients ayant un arrêt de maturation et Sertoli Cells Only Syndrom (Mixte) ont un taux de réussite d'ICSI de (28,58%), les patients ayant une hypo spermatogenèse ont un taux de réussite d'ICSI de (25,32%), les patients ayant une fibrose ont un taux de réussite d'ICSI de (20%), les patients ayant un Sertoli Cells Only Syndrom ont un taux de réussite d'ICSI de (19,30%), les patients ayant un arrêt de maturation ont un taux de réussite d'ICSI de (4,80%).

- **Répartition selon le résultat d'ICSI et l'utilisation de la pentoxifylline :**

Tableau. 24 : Répartition des patients selon la pentoxifylline et les résultats d'ICSI.

		Résultat d'ICSI			
		négatif		Positif	
		Nombre	%	Nombre	%
Pentoxifylline	Sans	104	81,25%	24	18,75%
	Avec	5	50%	5	50%

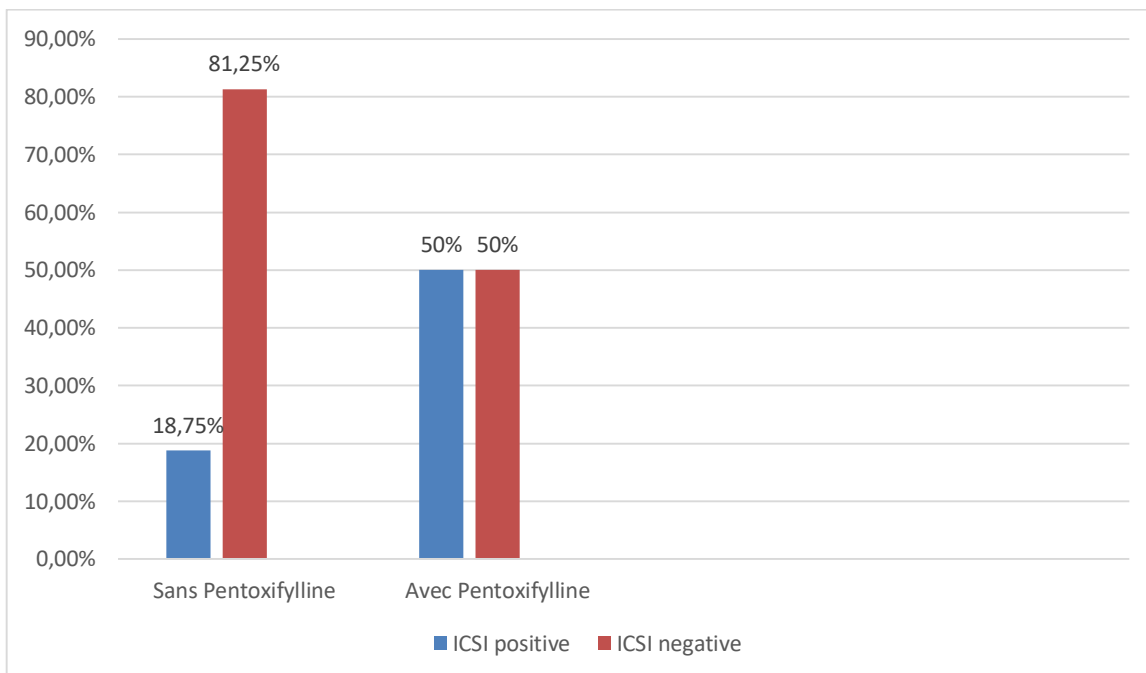


Figure. 25 : Répartition des patients selon la pentoxifylline et les résultats d’ICSI.

Les patients qui ont bénéficié de l’utilisation de Pentoxifylline sur leurs spermatozoïdes ont un taux de (50%) de réussite d’ICSI par contre (18,75%) des résultats sont positifs pour les patients qui ne sont pas utilisés la Pentoxifylline.

- **Répartition selon le résultat d’ICSI et l’âge des femmes :**

Tableau. 25 : Répartition des patients selon l’âge de leurs femmes et les résultats d’ICSI.

		Résultat d’ICSI			
		négatif		Positif	
		Nombre	%	Nombre	%
Tranches d’âge des femmes	>40	9	81,81	2	18,19
	[36;40]	27	77,14	8	22,86
	[30;35]	46	83,63	9	16,37
	<30	27	72,97	10	27,03

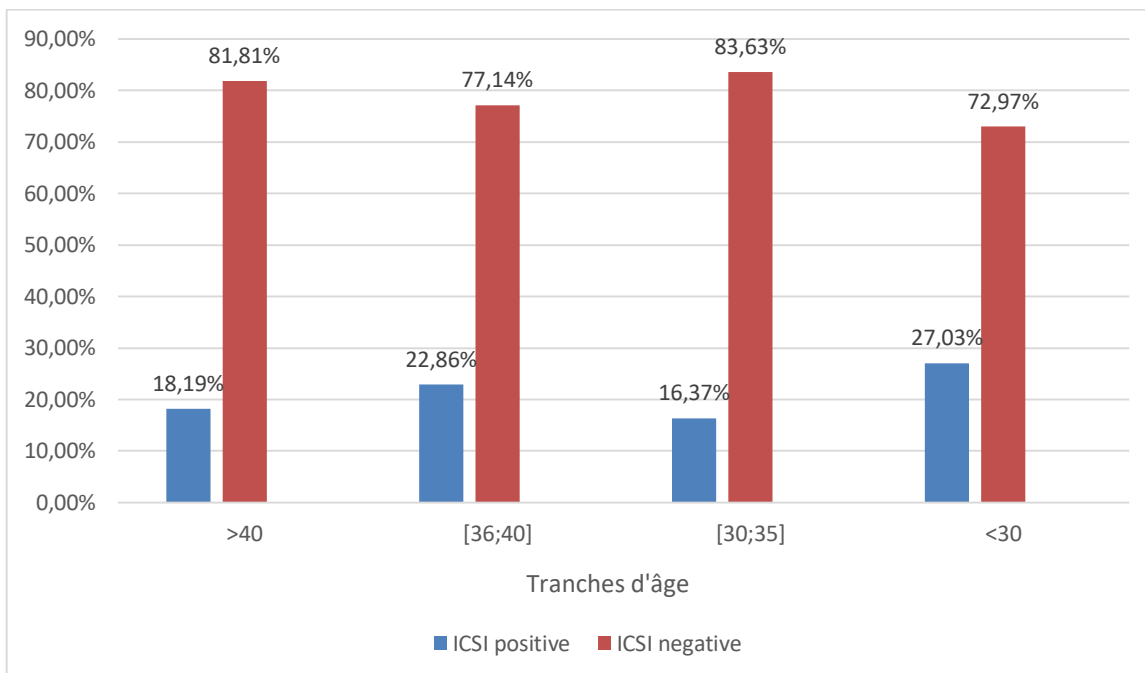


Figure. 26 : Répartition des femmes des patients selon les tranches d'âge et les résultats d'ICSI.

Les femmes moins de 30 ans ont taux de réussite d'ICSI de (27,03%). Les femmes âgées entre 30 et 30 ans ont un taux de réussite de (16,37%) et de (22,86%) pour celles qui sont âgées entre 36 et 40 ans. Les femmes plus de 40 ans ont taux de réussite de (18,19%).

- **Répartition de résultat d'ICSI selon le nombre d'Ovocytes matures des femmes des patients :**

Tableau. 26 : Répartition des patients selon le nombre d'ovocytes matures de leurs femmes et les résultats d'ICSI.

		Résultat d'ICSI			
		Négatif		Positif	
		Nombre	%	Nombre	%
Nombre d'ovocytes matures	<2	13	100	0	0
	[2;5]	49	83,05	10	16,05
	[6;9]	34	77,27	10	22,73
	>9	11	55	9	45

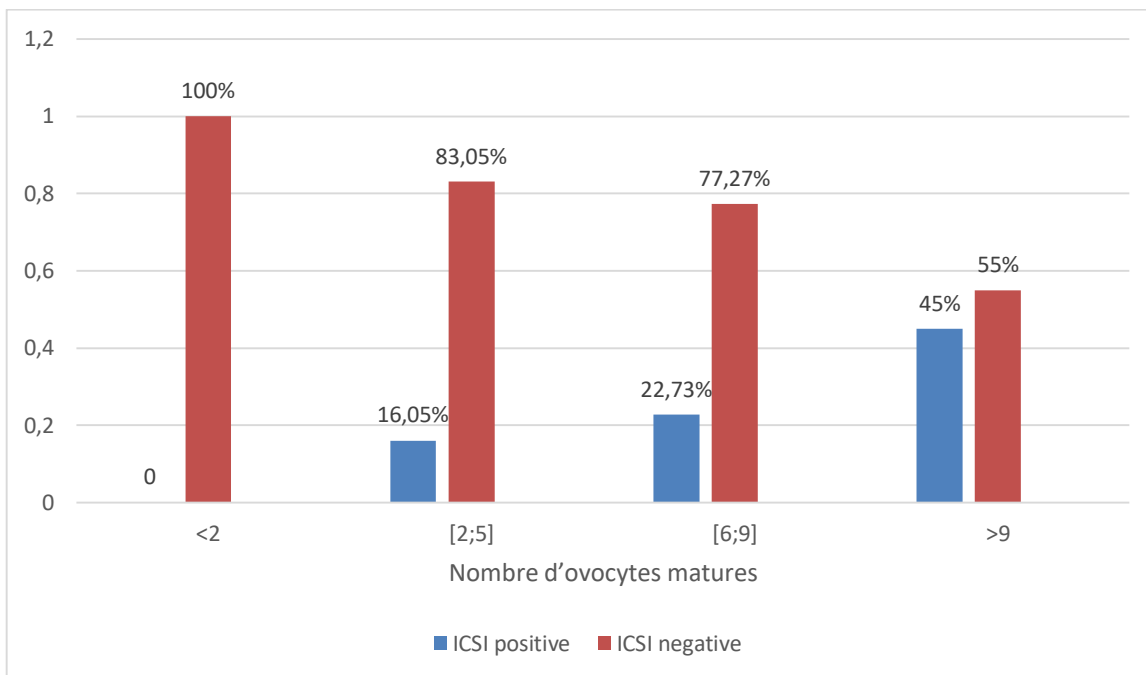


Figure. 27 : Répartition des femmes des patients selon le nombre d'ovocytes matures et les résultats d'ICSI.

D'après le (tableau 26), (100%) des patients que leurs femmes ont un nombre inférieur à 2 ovocytes matures ont une ICSI négative, (16,05%) des patients que leurs femmes ont un nombre entre 2 et 5 ovocytes matures ont une ICSI positive, (22,73%) des patients que leurs femmes ont un nombre entre 6 et 9 ovocytes matures ont une ICSI positive, (45%) des patients que leurs femmes ont un nombre supérieur à 9 ovocytes matures ont une ICSI positive.

- **Répartition de résultat d'ICSI selon le nombre d'embryons obtenus :**

Tableau. 27 : Répartition des patients selon le nombre d'embryons obtenus et les résultats d'ICSI.

		Résultat d'ICSI			
		négatif		Positif	
		Nombre	%	Nombre	%
Nombre d'embryons obtenus	<2	53	100	0	0
	[2;4]	46	70,76	19	29,24
	>4	10	50	10	50

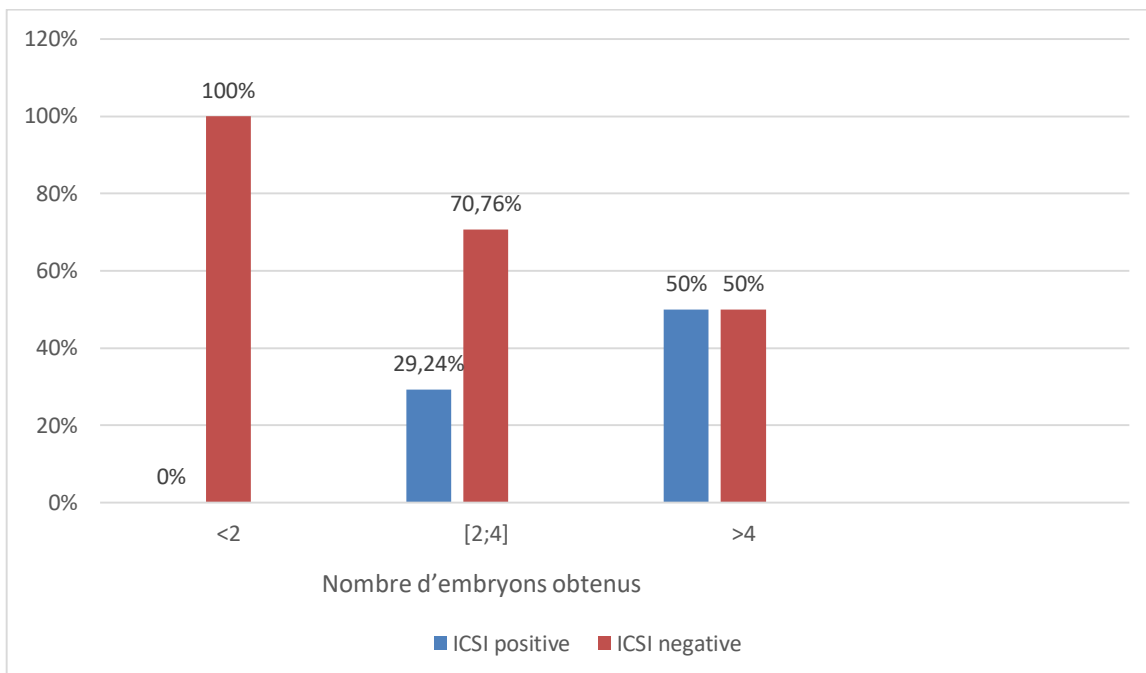


Figure. 28 : Répartition des patients selon le nombre d'embryons obtenus et les résultats d'ICSI.

Les patients qui ont un nombre d'embryons inférieur à 2 n'ont pas d'ICSI positive. Ceux qui ont un nombre entre 2 et 4 ont un taux de réussite de (29,24%) et de (50%) pour ceux qui ont un nombre d'embryon supérieur à 4.

- **Répartition de résultat d'ICSI selon le nombre d'embryons transféré :**

Tableau. 28 : Répartition des patients selon le nombre d'embryons transférés et les résultats d'ICSI.

		Résultat 'ICSI			
		négatif		Positif	
		Nombre	%	Nombre	%
Nombre d'embryons transférés	0	24	100	0	0
	1	25	100	0	0
	2	33	62,26	20	37,74
	3	26	78,78	7	21,22
	4	1	33,33	2	66,64

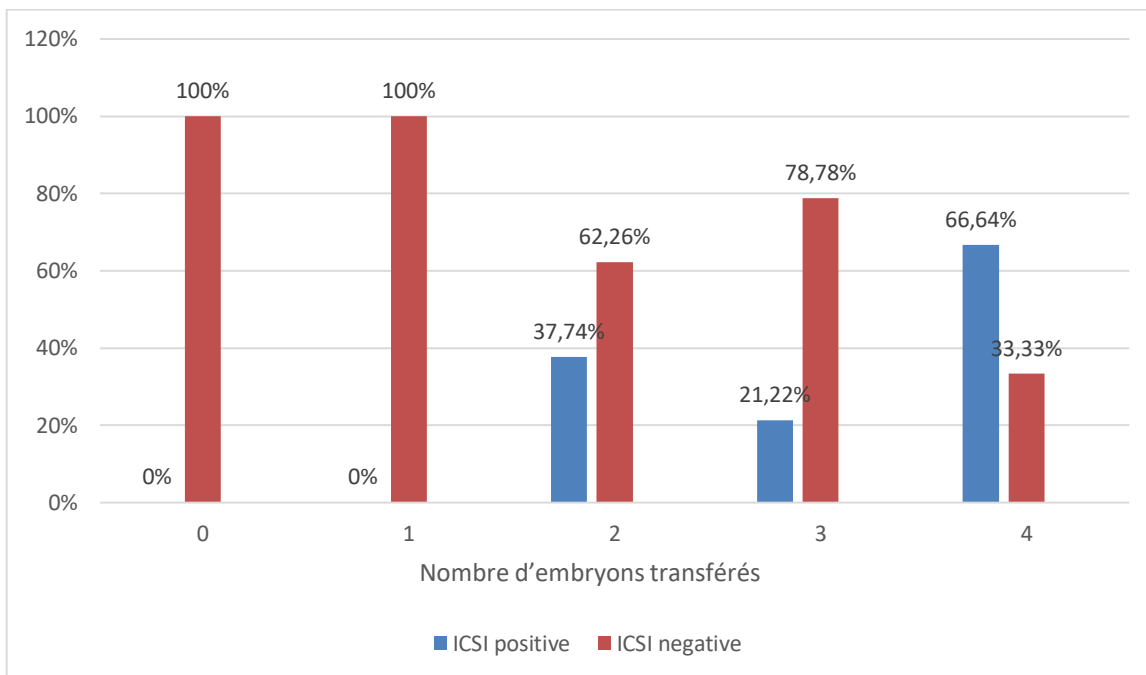


Figure. 29 : Répartition des patients selon le nombre d’embryons transférés et les résultats d’ICSI.

D’après la (figure 29), le taux de réussite d’ICSI pour les patients ayant un seul embryon transféré est de (0%), pour les patients ayant deux embryons transférés est de (37,74%), pour les patients ayant trois embryons transférés est de (22,22%) et pour les patients quatre embryons transférés est de (66,64%).

- **Répartition de résultat d’ICSI selon la qualité embryonnaire :**

Tableau. 29 : Répartition des patients selon la qualité embryonnaire et les résultats d’ICSI.

		Résultat d’ICSI			
		négatif		Positif	
		Nombre	%	Nombre	%
Qualité embryonnaire	D	1	100	0	0
	C	14	100	0	0
	B	29	90,62	3	9,38
	A	41	61,19	26	38,81

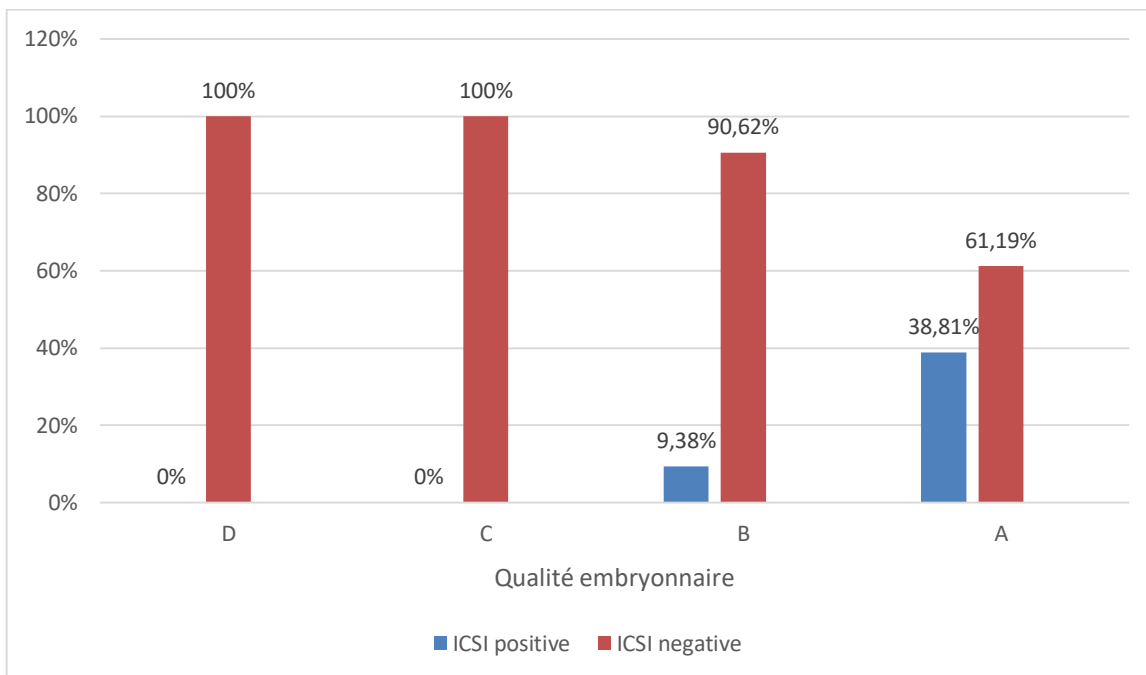


Figure. 30 : Répartition des patients selon la qualité embryonnaire et les résultats d'ICSI.

Le taux de réussite d'ICSI pour les patients ayant une qualité embryonnaire D ou C est de (0%), (9,38%) pour la qualité B et (38,81%) pour la qualité A.

- **Répartition de résultat d'ICSI selon le FSH et le type histologique :**

Tableau. 30 : Répartition des patients selon le taux de FSH, type histologique et les résultats d'ICSI.

		Résultat d'ICSI											
		négatif						Positif					
		Taux de FSH						Taux de FSH					
		Très élevé		Elevé		Normal		Très élevé		Elevé		Normal	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Type histologique	Fibrose	3	100	0	0	1	50	0	0	0	0	1	50
	Sertoli Cells Only Syndrom	3	100	5	83,33	13	76,47	0	0	1	16,64	4	23,53
	Arrêt de maturation	1	100	4	100	15	93,75	0	0	0	0	1	6,25
	Mixte	1	50	0	0	4	80	1	50	0	0	1	20
	Hypo spermatogénèse	3	75	3	60	53	75,71	1	25	2	40	17	24,29

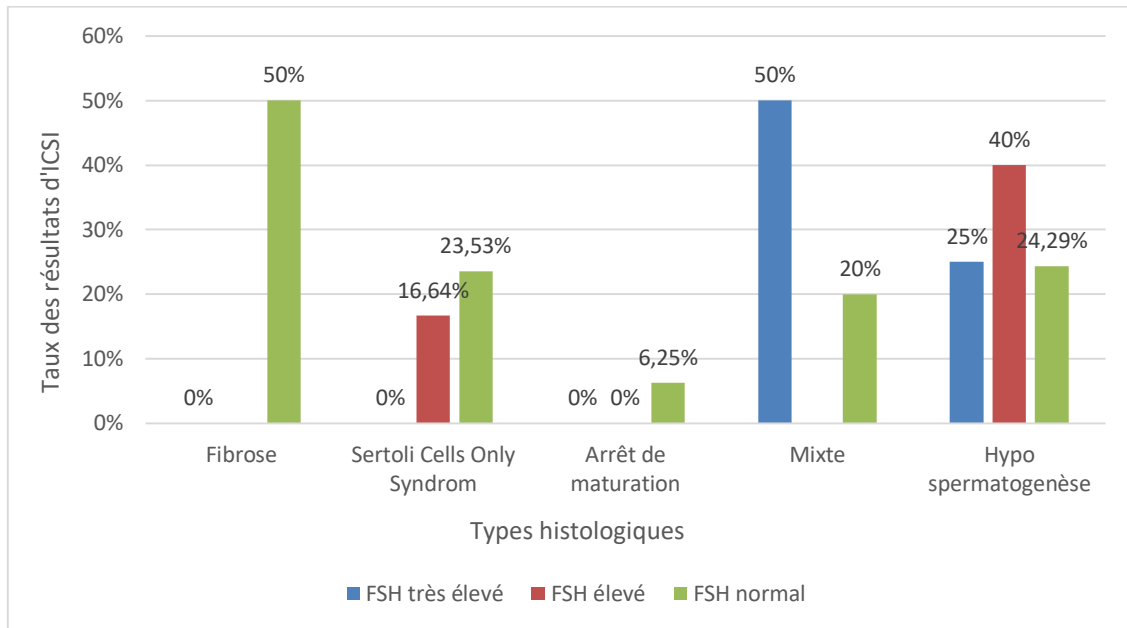


Figure. 31 : Répartition des patients selon le taux de FSH, le type histologique et les résultats d'ICSI.

Pour les patients qui ont un taux de FSH normal : Ceux qui ont une fibrose ont (50%) d'ICSI positives, ceux qui ont SCO ont un taux de (23,53%) de réussite, (6,25%) de réussite pour ceux qui ont un arrêt de maturation, (20%) pour qui ont un type histologique Mixte et (24,29%) d'ICSI positives pour ceux qui ont une hypo spermatogénèse.

Pour les patients qui ont un taux de FSH élevé : Ceux qui ont un SCO ont (16,64%) d'ICSI positives, (0%) de réussite pour ceux qui ont un arrêt de maturation et (40%) d'ICSI positives pour ceux qui ont une hypo spermatogénèse.

Pour les patients qui ont un taux de FSH très élevé : Ceux qui ont une fibrose ou un SCO ou un arrêt de maturation ont (0%) d'ICSI positives, (50%) pour ceux qui ont un type histologique mixte et (25%) d'ICSI positives pour ceux qui ont une hypo spermatogénèse.

- **Répartition de résultat d'ICSI selon l'âge et la pentoxifylline :**

Tableau. 31 : Répartition des patients selon l'âge, la pentoxifylline et les résultats d'ICSI.

		Résultat d'ICSI							
		Négatif				Positif			
		Pentoxifylline				Pentoxifylline			
		Sans		Avec		Sans		Avec	
		Nombre	%	Nombre	%	Nombre	Nombre	Nombre	%
Tranche d'Age	[20-29]	2	66,66	0	0	1	33,33	0	0
	[30-39]	64	86,48	2	33,33	10	13,52	4	66,66
	[40-49]	35	72,91	3	75	13	27,09	1	25
	[50-59]	3	100	0	0	0	0	0	0

D'après le (tableau 31), il y a (33,33%) des patients âgés de 20 à 29 ans, (27,09%) des patients âgés de 40 à 49 ans et (13,52%) des patients âgés de 30 à 39 qui n'ont pas utilisé la pentoxifylline ont une ICSI positive. (25%) des patients âgés entre 40 et 49 et (66,66%) des patients âgés entre 30 et 39 ans qui ont utilisé la pentoxifylline ont une ICSI positive. Il n'y a Pas de résultat positif pour les patients au-delà de 49 ans.

• **Répartition de résultat d'ICSI selon le diagnostic histologique et la pentoxifylline :**

Tableau. 32 : Répartition des patients selon le diagnostic histologique, la pentoxifylline et les résultats d'ICSI.

		Résultat d'ICSI			
		négatif		Positif	
		Pentoxifylline		Pentoxifylline	
		Sans	Avec	Sans	Avec
		%	%	%	%
Type Histologique	Fibrose	75	100	25	0
	Sertoli Cells Only Syndrom	79,16	100	20,84	0
	Arrêt de maturation	95,23	0	4,77	0
	Mixte	71,42	0	28,58	0
	Hypo spermatogenèse	79,16	28,58	20,84	71,42

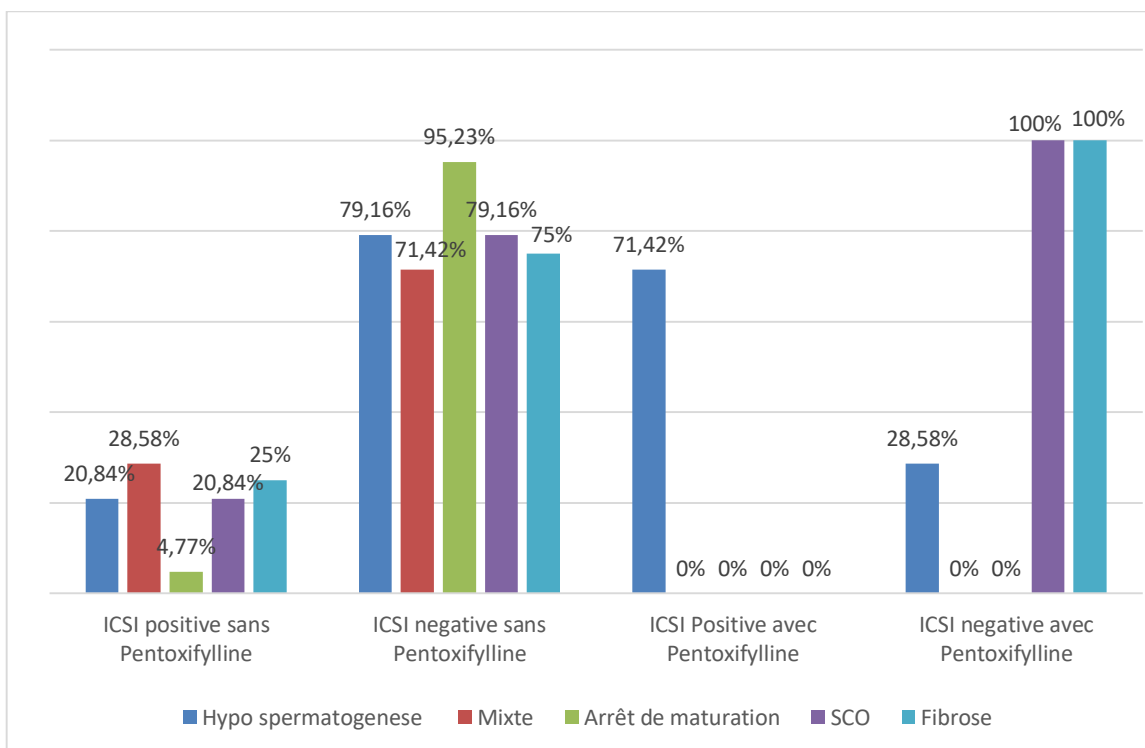


Figure. 32 : Répartition des patients selon la pentoxifylline, le type histologique et les résultats d'ICSI.

Pour les patients qui n'ont pas utilisé la pentoxifylline, le taux de réussite d'ICSI pour ceux qui ont une hypo spermatogénèse est de (20,84%), pour ceux qui ont un arrêt de maturation et SCO (Mixte) est de (28,58%), pour ceux qui ont un arrêt de maturation est de (4,77%), pour ceux qui ont un SCO est de (20,84%) et pour ceux qui ont une fibrose le taux est de (25%).

Pour les patients qui ont utilisé la pentoxifylline, le taux de réussite d'ICSI pour qui ont une hypo spermatogénèse est de (71,42%) et le taux de réussite d'ICSI pour qui ont un SCO ou une fibrose est de (0%). Il n'y a pas des patients qui ont un arrêt de maturation seul ou avec SCO (mixte) qu'ils ont fait l'ICSI dans notre population.

- **Répartition de résultat d'ICSI des patients selon Pentoxifylline et les ovocytes matures de leurs partenaires :**

Tableau. 33 : Répartition des patients selon la pentoxifylline, les ovocytes matures de leurs partenaires et les résultats d'ICSI.

		Résultat d'ICSI							
		négatif				Positif			
		Pentoxifylline				Pentoxifylline			
		Sans		Avec		Sans		Avec	
		Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Nombre D'ovocytes Matures	<2	13	100	0	0	0	0	0	0
	[2;5]	45	83,33	4	80	9	16,67	1	20
	[6;9]	33	80,48	1	33,33	8	19,52	2	66,67
	>9	11	61,11	0	0	7	38,89	2	100

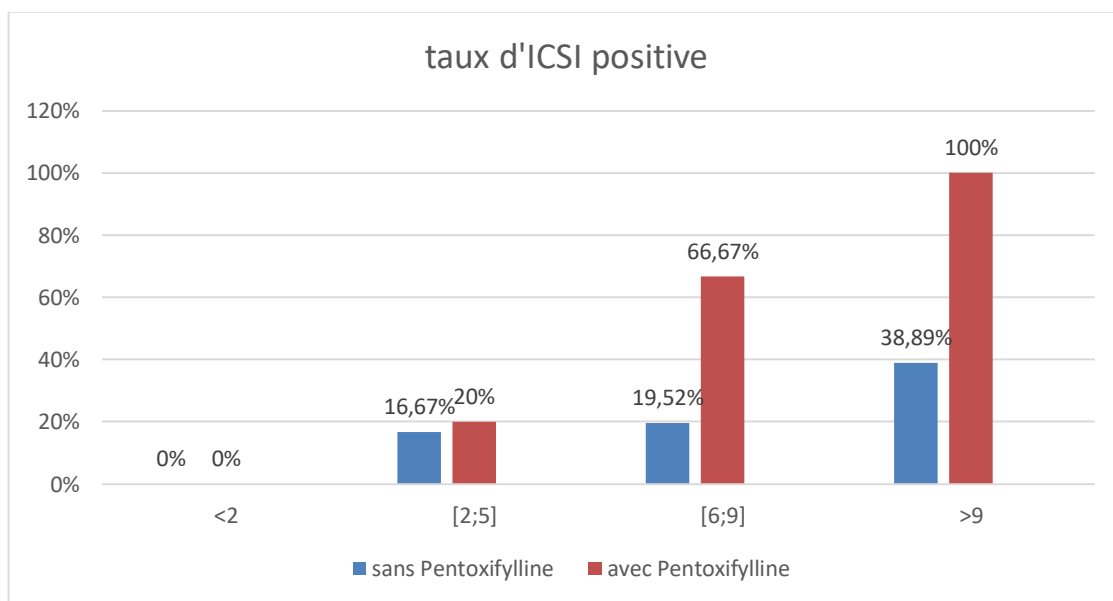


Figure. 33 : Répartition des patients selon le nombre d'ovocytes matures, la pentoxifylline et les résultats d'ICSI.

Pour les patients qui n'ont pas utilisé la Pentoxifylline, (100%) des hommes que leurs femmes ont un nombre d'ovocytes matures inférieur à 2 ont une ICSI négative, (16,67%) des hommes que leurs femmes ont un nombre d'ovocytes matures entre 2 et 5 ont une ICSI positive, (19,52%) des hommes que leurs femmes ont un nombre d'ovocytes matures entre 6 et 9 ont une ICSI positive et (38,89%) des hommes que leurs femmes ont un nombre d'ovocytes supérieur à 9 ont une ICSI positive.

Pour les patients qui ont utilisé la Pentoxifylline, il n'y a pas des hommes que leurs femmes ont un nombre d'ovocytes matures inférieur à 2 et qu'ils ont fait l'ICSI, (20%) des hommes que leurs femmes ont un nombre d'ovocytes matures entre 2 et 5 ont une ICSI positive, (66,67%) des hommes que leurs femmes ont un nombre d'ovocytes matures entre 6 et 9 ont une ICSI positive et (100%) des hommes que leurs femmes ont un nombre d'ovocytes matures supérieur à 9 ont une ICSI positive.

- **Répartition de résultat d'ICSI des patients selon le taux de FSH et le nombre d'embryons transférés:**

Tableau. 34 : Répartition des patients selon le taux de FSH, le nombre d'embryons transférés et les résultats d'ICSI.

		Résultat d'ICSI											
		négatif						Positif					
		Taux de FSH						Taux de FSH					
		Très élevé		Elevé		Normal		Très élevé		Elevé		Normal	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Nombre d'embryons transféré	1	4	100	4	100	17	100	0	0	0	0	0	0
	2	2	66,66	3	50	28	63,63	1	33,34	3	50	16	36,37
	3	2	66,66	2	100	22	78,57	1	33,34	0	0	6	21,42
	4	0	0	0	0	1	33,33	0	0	0	0	2	66,64

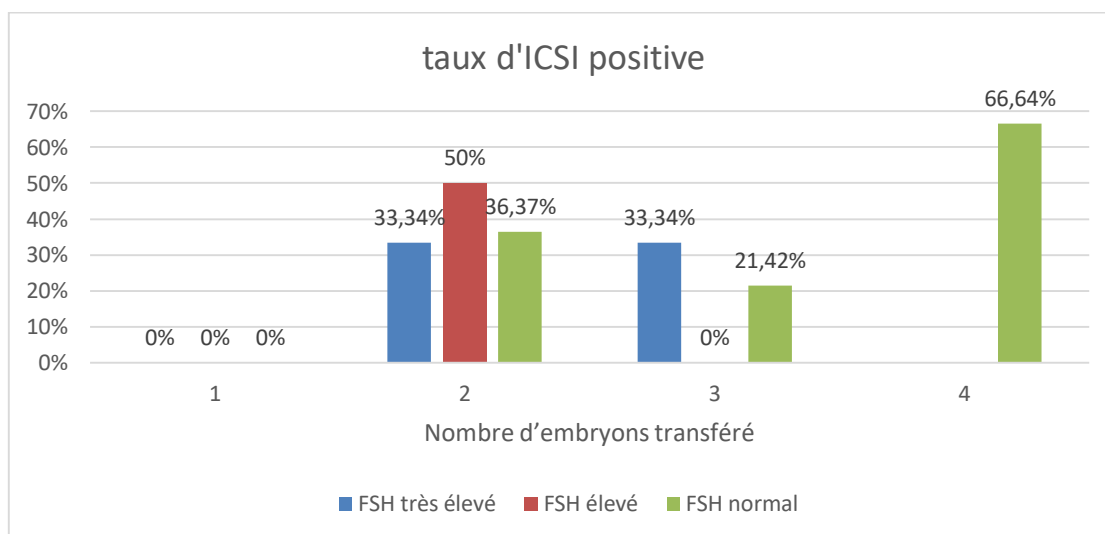


Figure. 34 : Répartition des patients selon le taux de FSH, le nombre d'embryons transférés et les résultats d'ICSI.

Les patients qui ont un embryon transféré ont un taux de (0%) de réussite d'ICSI quelque soient leurs taux de FSH.

Les patients qui ont deux embryons transférés ont un taux de réussite d'ICSI de (33,34%) pour un taux de FSH très élevé, (50%) pour un taux de FSH élevé et (36,37%) pour un taux de FSH normal.

Les patients qui ont trois embryons transférés ont un taux de réussite d'ICSI de (33,34%) pour un taux de FSH très élevé, (0%) pour un taux de FSH élevé et (21,42%) pour un taux de FSH normal.

Les patients qui ont quatre embryons transférés ont un taux de réussite d'ICSI de (66,64%) pour un taux de FSH normal.

• **Répartition de résultat d'ICSI des patients selon le type histologique et le nombre d'embryons transférés:**

Tableau. 35 : Répartition des patients selon le type histologique, le nombre d'embryons transférés et les résultats d'ICSI.

		Résultat d'ICSI							
		négatif				Positif			
		Nombre d'embryons transférés				Nombre d'embryonstransférés			
		1	2	3	4	1	2	3	4
		n	n	n	n	n	n	n	n
Type histologique	Fibrose	2	0	1	0	0	1	0	0
	SCO	5	4	4	1	0	4	1	0
	Arrêt de maturation	4	7	6	0	0	1	0	0
	Mixte	0	0	1	0	0	1	1	0
	Hypo spermatogénèse	14	22	14	0	0	13	5	

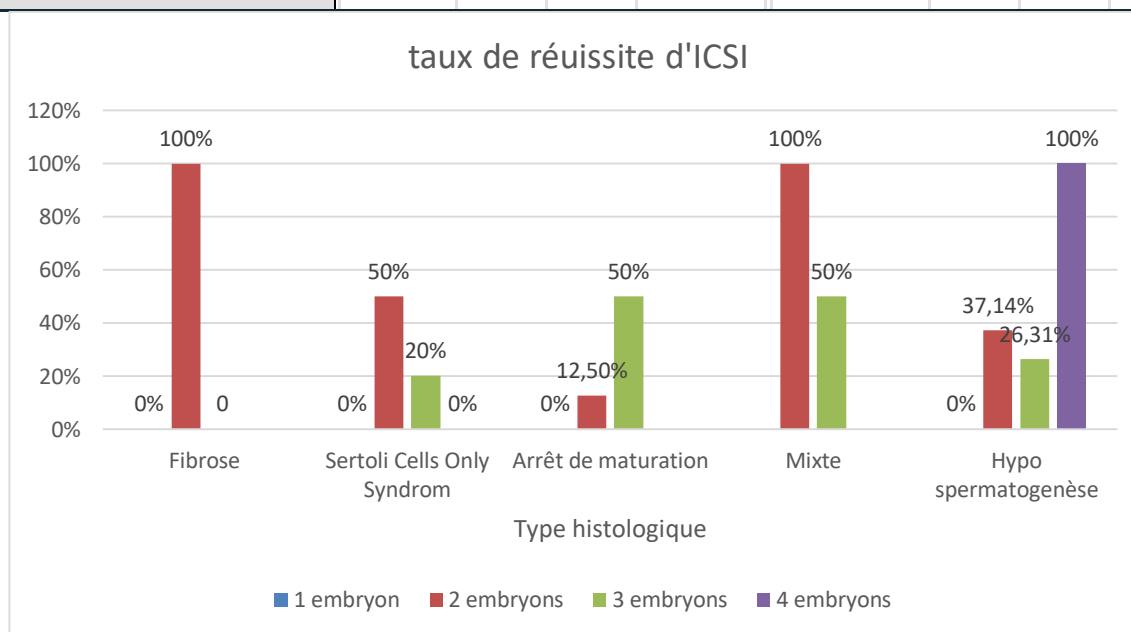


Figure. 35 : Répartition des patients selon le nombre d'embryons transférés, le type histologique et les résultats d'ICSI.

Les patients qui ont un embryon transféré ont un taux de réussite d'ICSI de (0%) pour tous les types histologiques.

Les patients qui ont deux embryons transférés ont un taux de réussite de (100%) pour ceux qui ont une fibrose ou un type histologique mixte, (50%) pour ceux qui ont un SCO, (12,5%) pour ceux qui ont un arrêt de maturation et de (37,14%) pour ceux qui ont une hypo spermatogénèse.

Les patients qui ont trois embryons transférés ont un taux de réussite de (0%) pour ceux qui ont une fibrose, (20%) pour ceux qui ont un SCO, (50%) pour ceux qui ont un arrêt de maturation ou un type histologique mixte et de (26,31%) pour ceux qui ont une hypo spermatogénèse.

Les patients qui ont quatre embryons transférés ont un taux de réussite de (0%) pour ceux qui ont un SCO et de (100%) pour ceux qui ont une hypo spermatogénèse.

- **Répartition de résultat d'ICSI des patients selon le taux de FSH et la qualité embryonnaire :**

Tableau. 36 : Répartition des patients selon le taux de FSH, la qualité embryonnaire et les résultats d'ICSI.

		Résultat d'ICSI					
		négatif			Positif		
		Taux de FSH			Taux de FSH		
		Très élevé	Elevé	Normal	Très élevé	Elevé	Normal
		Nombre	Nombre	Nombre	Nombre	Nombre	Nombre
Qualité embryonnaire	D	0	0	1	0	0	0
	C	1	2	11	0	0	0
	B	2	1	26	0	1	2
	A	5	6	30	2	2	22

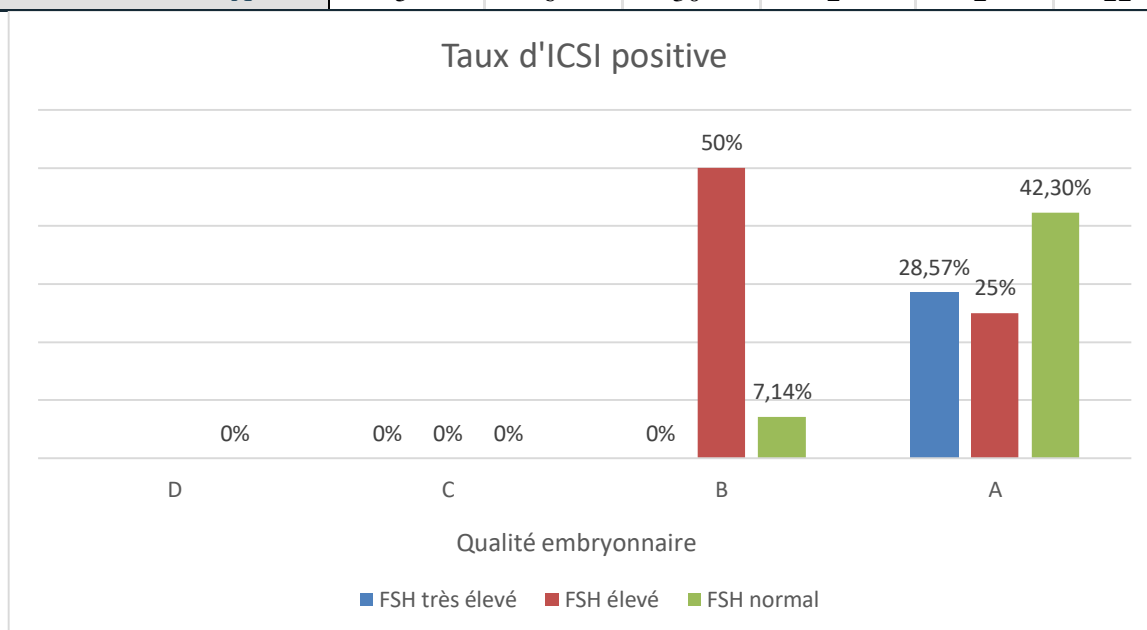


Figure. 36 : Répartition des patients selon le taux de FSH, la qualité embryonnaire et les résultats d'ICSI.

Les patients qui ont une qualité D ou C des embryons transférés ont un taux de (0%) de réussite d'ICSI quel 'que soient leurs taux de FSH.

Les patients qui ont une qualité B des embryons transférés ont un taux de réussite d'ICSI de (0%) pour un taux de FSH très élevé, (50%) pour un taux de FSH élevé et (7,14%) pour un taux de FSH normal.

Les patients qui ont une qualité A des embryons transférés ont un taux de réussite d'ICSI de (28,57%) pour un taux de FSH très élevé, (25%) pour un taux de FSH élevé et (42,30%) pour un taux de FSH normal.

• **Répartition de résultat d'ICSI des patients selon le type histologique et la qualité embryonnaire :**

Tableau. 37 : Répartition des patients selon le type histologique, la qualité embryonnaire et les résultats d'ICSI.

		Résultat d'ICSI							
		négatif				Positif			
		Qualité embryonnaire				Qualité embryonnaire			
		D	C	B	A	D	C	B	A
		n	n	n	n	n	n	n	n
Type Histologique	Fibrose	0	1	1	1	0	0	0	1
	Sertoli Cells Only Syndrom	0	3	2	8	0	0	0	5
	ADM	0	2	7	6	0	0	0	1
	Mixte	0	1	1	0	0	0	0	2
	Hypo spermatogénèse	1	7	18	26	0	0	3	17

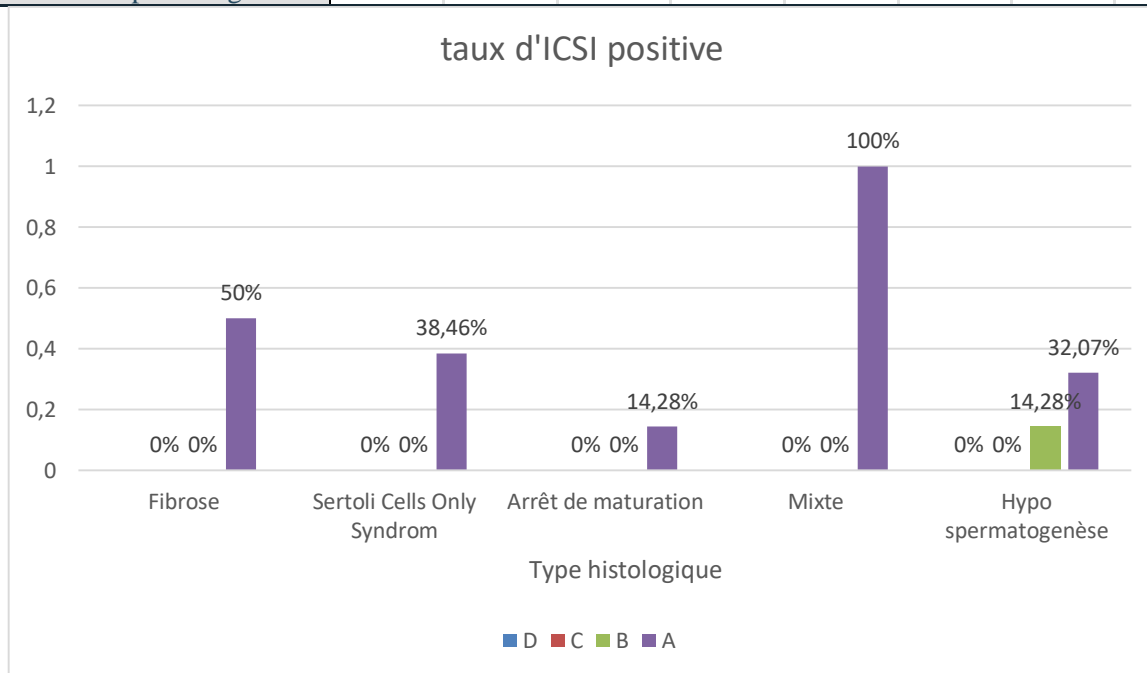


Figure. 37 : Répartition des patients selon la qualité embryonnaire, le type histologique et les résultats d'ICSI.

Les patients qui ont une qualité D ou C des embryons transférés ont un taux de réussite d'ICSI de (0%) pour tous les types histologiques.

Les patients qui ont une qualité B des embryons transférés ont un taux de réussite de (14,28%) pour ceux qui ont une hypo spermatogénèse et de (0%) pour les autres types.

Les patients qui ont une qualité A des embryons transférés ont un taux de réussite de (50%) pour ceux qui ont une fibrose, (38,46%) pour ceux qui ont un SCO, (14,28%) pour ceux qui ont un arrêt de maturation, (100%) pour ceux qui ont un type histologique mixte et de (32,07%) pour ceux qui ont une hypo spermatogénèse.

II. Etude statistique :

- **Tau de fécondation :**

Tableau. 38 : Le nombre d'embryons obtenus par rapport au nombre d'ovocytes matures.

	Ovocytes matures	Embryons obtenus
Nombre	775	327
Taux de fécondation (nombre d'embryons obtenus / nombre d'ovocytes matures)	0,4219	

Le taux de fécondation est de (42,19%)

- **Taux de segmentation :**

Tableau. 39 : Le nombre d'embryons obtenus par rapport au nombre de zygotes non segmentés.

	Zygotes non segmentés	Embryons obtenus
Nombre	9	327
Taux de fécondation (1- nombre de zygotes non segmentés /nombre d'embryons obtenus)	0,9724	

Le taux de segmentation est de (97,24%)

- **Corrélation entre l'âge et l'ICSI :**

Tableau. 40 : Corrélation entre l'Age et l'ICSI.

Corrélations			
		Résultat ICSI	Age
Age	Corrélation de Pearson	-,024	1
	Sig. (bilatérale)	,776	
	N	138	138

Il n'y a pas une corrélation entre l'âge et le résultat d'ICSI, P value(0,776) > 0,05

- **Corrélation entre le taux de FSH et l'ICSI :**

Tableau. 41 : Corrélation entre le taux de FSH et l'ICSI.

Corrélations			
		Résultat ICSI	Taux de FSH
Taux de FSH	Corrélation de Pearson	-,091	1
	Sig. (bilatérale)	,287	
	N	138	138

Il n'y a pas une corrélation entre le taux de FSH et le résultat d'ICSI, P value(0,287) > 0,05

- **Corrélation entre le taux de LH et l'ICSI :**

Tableau. 42 : Corrélation entre le taux de LH et l'ICSI.

Corrélations			
		Résultat ICSI	Taux de LH
Taux de LH	Corrélation de Pearson	-,012	1
	Sig. (bilatérale)	,896	

Il n'y a pas une corrélation entre le taux de LH et le résultat d'ICSI, P value(0,896) > 0,05

- **Corrélation entre le taux de testostérone et l'ICSI :**

Tableau. 43 : Corrélation entre le taux de testostérone et l'ICSI.

Corrélations			
		Résultat ICSI	Taux de Testostérone
Taux de Testostérone	Corrélation de Pearson	-,147	1
	Sig. (bilatérale)	,104	
	N	123	123

Il n'y a pas une corrélation entre le taux de testostérone et le résultat d'ICSI, P value(0,104) > 0,05

- **Corrélation entre le volume testiculaire et l'ICSI :**

Tableau. 44 : Corrélation entre le volume testiculaire et l'ICSI.

Corrélations			
		Résultat ICSI	volume testiculaire
volume testiculaire	Corrélation de Pearson	,133	1
	Sig. (bilatérale)	,210	
	N	91	91

Il n'y a pas une corrélation entre le volume testiculaire et le résultat d'ICSI, P value(0,210) > 0,05

- **Corrélation entre la varicocèle et l'ICSI :**

Tableau. 45 : Corrélation entre la varicocèle et l'ICSI.

Corrélations			
		Résultat ICSI	varicocèle
varicocèle	Corrélation de Pearson	,034	1
	Sig. (bilatérale)	,688	
	N	138	138

Il n'y a pas une corrélation entre la varicocèle et le résultat d'ICSI, P value(0,688) > 0,05

- **Corrélation entre la quantité des spermatozoïdes et l'ICSI :**

Tableau. 46 : Corrélation entre la quantité des spermatozoïdes et l'ICSI.

Corrélations			
		Résultat ICSI	quantité des spermatozoïdes
quantité des spermatozoïdes	Corrélation de Pearson	,091	1
	Sig. (bilatérale)	,378	
	N	96	96

Il n'y a pas une corrélation entre la quantité des spermatozoïdes et le résultat d'ICSI, P value(0,378) > 0,05

- **Corrélation entre l'utilisation de la Pentoxifylline et l'ICSI :**

Tableau. 47 : Corrélation entre la pentoxifylline et l'ICSI.

Corrélations			
		Résultat ICSI	Pentoxifylline
Pentoxifylline	Corrélation de Pearson	,199	1
	Sig. (bilatérale)	,019	
	N	138	138

Il y a une corrélation significative entre la pentoxifylline et le résultat d'ICSI au niveau (0,05).

P value(0,019) < 0,05

La direction de la corrélation est positive, r (0,199) > 0

- **Corrélation entre le type histologique et l'ICSI :**

Tableau. 48 : Corrélation entre le type histologique et l'ICSI.

Corrélations			
		Résultat ICSI	type histologique
type histologique	Corrélation de Pearson	,105	1
	Sig. (bilatérale)	,222	
	N	138	138

Il n'y a pas une corrélation entre le type histologique et le résultat d'ICSI, P value(0,222) > 0,05

- **Corrélation entre l'âge des femmes et l'ICSI :**

Tableau. 49 : Corrélation entre l'âge des femmes et l'ICSI.

Corrélations			
		Résultat ICSI	Age des femmes
Age des femmes	Corrélation de Pearson	-,085	1
	Sig. (bilatérale)	,319	
	N	138	138

Il n'y a pas une corrélation entre l'âge des femmes et le résultat d'ICSI, P value(0,319) > 0,05

- **Corrélation entre les ovocytes recueillis et l'ICSI :**

Tableau. 50 : Corrélation entre le nombre des ovocytes recueillis et l'ICSI.

Corrélations			
		Résultat ICSI	ovocytes recueillis
ovocytes recueillis	Corrélation de Pearson	,235	1
	Sig. (bilatérale)	,006	
	N	136	138

Il y a une corrélation significative entre le nombre des ovocytes recueillis et le résultat d'ICSI au niveau (0,01), P value (0,006) < 0,01

La direction de la corrélation est positive, $r(0,235) > 0$

- **Corrélation entre les ovocytes matures et l'ICSI :**

Tableau. 51 : Corrélation entre le nombre des ovocytes matures et l'ICSI.

Corrélations			
		Résultat ICSI	ovocytes matures
ovocytes matures	Corrélation de Pearson	,260	1
	Sig. (bilatérale)	,002	
	N	136	138

Il y a une corrélation significative entre le nombre des ovocytes matures et le résultat d'ICSI au niveau (0,01), P value(0,002) < 0,01

La direction de la corrélation est positive, $r(0,260) > 0$

- **Corrélation entre le nombre des embryons obtenus et l'ICSI :**

Tableau. 52 : Corrélation entre le nombre des embryons obtenus et l'ICSI.

Corrélations			
		Résultat ICSI	embryons obtenus
embryons obtenus	Corrélation de Pearson	,421	1
	Sig. (bilatérale)	,000	
	N	136	138

Il y a une corrélation significative entre le nombre des embryons obtenus et le résultat d'ICSI au niveau (0,01),

P value(0,000) < 0,01

La direction de la corrélation est positive, $r(0,421) > 0$

- **Corrélation entre le nombre des embryons transférés et l'ICSI :**

Tableau. 53 : Corrélation entre le nombre des embryons transférés et l'ICSI.

Corrélations			
		Résultat ICSI	embryons transférés
embryons transférés	Corrélation de Pearson	,296	1
	Sig. (bilatérale)	,000	
	N	136	138

Il y a une corrélation significative entre le nombre des embryons transférés et le résultat d'ICSI au niveau (0,01), P value(0,000) < 0,01

La direction de la corrélation est positive, $r(0,296) > 0$

- **Corrélation entre la qualité embryonnaire et l'ICSI :**

Tableau. 54 : Corrélation entre la qualité embryonnaire et l'ICSI.

Corrélations			
		Résultat ICSI	qualité embryonnaire
qualité embryonnaire	Corrélation de Pearson	,364	1
	Sig. (bilatérale)	,000	
	N	136	138

Il y a une corrélation significative entre la qualité embryonnaire et le résultat d'ICSI au niveau (0,01), P value(0,000) < 0,01

La direction de la corrélation est positive, $r(0,364) > 0$

- **Corrélation Multiple entre l'ICSI et les ovocytes recueillis, matures, embryons obtenus, transférés et qualité embryonnaires :**

Tableau. 55 : Corrélation entre les facteurs féminins et l'ICSI.

ANOVA ^a						
Modèle		Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
1	Régression	5,224	5	1,045	7,029	,000
	de Student	16,649	112	,149		
	Total	21,873	117			

Il y a une corrélation significative entre les facteurs féminins et le résultat d'ICSI au niveau (0,01), P value (0,000) < 0,01

Tableau. 56 : le coefficient de régression entre les facteurs féminins et l'ICSI.

Récapitulatif des modèles				
Modèle	R	R-deux	R-deux ajusté	Erreur standard de l'estimation
1	,489	,239	,205	,386

La direction de la corrélation est positive, $r(0,489) > 0$

Tableau. 57 : Signification particulière entre chaque facteur et l'ICSI.

Coefficients ^a					
Modèle	Coefficients non standardisés		Coefficients standardisés	t	Sig.
	B	Erreur standard	Bêta		
Ovocytes recueillis	,006	,014	,076	,460	,646
Ovocytes matures	-,010	,023	-,081	-,441	,660
Nombre d'embryons obtenus	,090	,031	,371	2,932	,004
Qualité embryonnaire	,178	,049	,307	3,624	,000
Nombre d'embryons transférés	-,025	,054	-,050	-,471	,639

a. Variable dépendante : Résultat_ICSI

Le facteur le plus influençant est la qualité embryonnaire

- **Corrélation Multiple entre l'ICSI et les différents facteurs masculins (Age, FSH, Varicocèle, Type histologique, Volume testiculaire et la Pentoxifylline :**

Tableau. 58 : Corrélation entre les facteurs masculins et l'ICSI.

ANOVA ^a						
Modèle		Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
1	Régression	1,569	6	,262	1,454	,204
	de Student	15,112	84	,180		
	Total	16,681	90			

Tableau. 59 : le coefficient de régression entre les facteurs masculins et l'ICSI.

Récapitulatif des modèles				
Modèle	R	R-deux	R-deux ajusté	Erreur standard de l'estimation
1	,307	,094	,029	,424

Il n'y a pas une corrélation entre les facteurs masculins et le résultat d'ICSI, P value(0,204) > 0,05

Tableau. 60 : Signification particulière entre chaque facteur et l'ICSI.

Coefficients ^a					
Modèle	Coefficients non standardisés		Coefficients standardisés	t	Sig.
	B	Erreur standard	Bêta		
Age	-,006	,008	-,073	-,684	,496
FSH	,001	,005	,020	,167	,867
Varicocèle	,036	,044	,090	,815	,418
Type Histologique	,013	,038	,042	,350	,727
Pentoxifylline	,472	,226	,226	2,086	,040
Echographie de Testicule	,069	,083	,100	,828	,410

a. Variable dépendante : Résultat_ICSI

Le facteur le plus influençant est la Pentoxifylline.

The page features decorative scrollwork elements. On the left side, there is a vertical scroll that is partially unrolled, with a grey shadow on the left edge. On the top right corner, there is a small scroll that is partially unrolled, with a grey shadow on the top edge. The main text is centered within the unrolled portion of the scroll.

Chapitre V :

Discussion

Discussion :

Le traitement de l'infertilité masculine et la prise en charge globale des couples infertiles ont connu un grand développement ces dernières décennies, grâce à la découverte de l'ICSI. L'identification des facteurs prédisposant à l'infertilité masculine nous permet de gagner du temps dans le traitement souvent adressé à des couples qui ont un désir d'enfant depuis déjà de nombreuses années. A travers cette étude, nous avons potassé le problème de sélection des patients à l'ICSI qui ont une azoospermie non-obstructive. Les informations données par l'ICSI ont été analysé pour identifier les facteurs sur lesquels ont doit se baser afin de prédire le résultat et de reprendre a la question : est-ce que nous donnions des espoirs a des couples qui n'ont pas de chance ?

La tranche d'âge la plus représentative de notre série est celle des 30-39 ans avec une fréquence de 58%. Ce résultat est similaire à celui de (Friedler, 2002) , avec une moyenne d'âge de 37 ans qui est similaire à celle de (Abdel Raheem *et al.*, 2013). Cela pourrait s'expliquer par le fait qu'avant les 30 ans, l'homme ne pense pas au mariage. Mais entre 30 et 39 ans, le désir de paternité est intense, qui pousse les jeunes mariés qui n'arrivent pas à procréer à se confier plus rapidement à un médecin. Les hommes âgés de 50 ans ou plus ne représentent que (2,2 %) des patients de notre étude. Ce faible taux serait en rapport avec une perte d'espoir d'avoir des enfants à cet âge.

Le taux de réussite d'ICSI pour les différentes tranches d'âge de nos patients est différent mais cette différence est statistiquement non significative ($p > 0,05$), cela veut dire que l'âge n'influence pas sur les résultats d'ICSI qui utilisent les spermatozoïdes obtenus à partir d'une biopsie testiculaire des patients qui ont une azoospermie non-obstructive.

Nos résultats sont compatibles avec les résultats d'autres auteurs(Bromage *et al.*, 2007; Abdel Raheem *et al.*, 2013).

Le profil hormonal est plus largement étudié dans la littérature. Parmi l'ensemble des hormones dans notre échantillon, les trois hormones FSH, LH et la testostérone n'ont pas d'impact sur les résultats d'ICSI (P value $> 0,05$). Le taux de réussite est approximatif chez les patients qui ont un taux de FSH normal, élevé ou très élevé.

Les patients qui ont un taux de FSH normal ont un taux de réussite d'ICSI de (21,82%), même si ont un taux de FSH très élevé, le taux de réussite est de (15,39%) car la qualité des gamètes obtenus à partir des différents taux de FSH sont les mêmes. Ce résultat est approuvé aussi par (Friedler, 2002).

Les patients qui ont un volume testiculaires atrophiques n'ont que des ICSI négatives mais ça ne signifie pas que le volume influence sur les résultats, car on a (25%) de taux de réussite pour un volume hypotrophique et (26,57%) pour un volume normal ainsi que les résultats statistiques donnent

une (P value $> 0,05$). Les auteurs qui ont fait la même étude n'ont pas pris le volume testiculaire en considération car il n'influence même pas sur la biopsie testiculaire.

Pendant la collection des données, on a pris en considération les patients qui ont une varicocèle de grade deux ou plus.

La présence de varicocèle ou l'absence ne porte pas une différence au niveau de résultat d'ICSI, (20,36%) de réussite pour ceux qui ont une varicocèle et (24%) de réussite pour l'absence de cette dernière, avec une (P value $> 0,05$).

Les études de la littérature ne prennent pas en considération la présence ou l'absence de varicocèle par rapport au résultat d'ICSI.

Les patients qui ont une quantité riche ou pauvre des spermatozoïdes ont le même taux de réussite d'ICSI. Une fois les spermatozoïdes trouvés, les résultats d'ICSI restent indépendants de la quantité trouvée des spermatozoïdes parce-que l'ovocyte mature a besoin d'un seul spermatozoïde pour la fécondation.

L'étude statistique donne une P value $> 0,05$

Notre résultat est cohérent avec celui de (Abdel Raheem *et al.*, 2013).

La pentoxifylline améliore la motilité des spermatozoïdes décongelés et d'après notre étude on a trouvé une amélioration des résultats d'ICSI de (18,75%) jusqu'à (50%) par l'utilisation de la pentoxifylline, cette amélioration est significative (P value $< 0,05$) et positive ($r > 0$) selon l'analyse statistique.

Une étude qui a été faite par (Giorgetti *et al.*, 2005) montre une relation entre l'utilisation de la Pentoxifylline et les résultats d'ICSI et il y'a des études qui n'ont pas trouvé une relation entre ces deux derniers (Abdel Raheem *et al.*, 2013).

Les quatre types histologiques (fibrose, SCO, mixte et hypo spermatogenèse) ont des taux proches de réussite d'ICSI entre (20%) et (30%), sauf le type ADM qui a un taux bas de (4,80%) de réussite.

L'analyse statistique montre que cette différence entre les types n'est pas significative (P value $> 0,05$), donc il n'y a pas une relation entre les résultats d'ICSI et le type histologique. Ce résultat est mentionné dans d'autres articles (Friedler, 2002; Zorn *et al.*, 2009; Abdel Raheem *et al.*, 2013).

L'âge de la femme est très important dans l'infertilité grâce à l'existence d'une limite biologique à la période reproductive chez elle.

Dans notre échantillon, la moyenne d'âge des femmes de nos patients est de 33 ans, une moyenne similaire trouvée dans l'étude de (Bromage *et al.*, 2007), d'autres études ont une moyenne de 30 ans (Zorn *et al.*, 2009; Abdel Raheem *et al.*, 2013). On a une moyenne élevée dû au retard de mariage par rapport à d'autres pays.

La tranche d'âge majoritaire est entre 30 et 35 ans (39,9%) qui a le taux le plus bas de réussite d'ICSI (16,37%), par contre ont un taux de réussite de (22,86%) pour la tranche d'âge entre 36 et 40 ans. Après l'analyse statistique on n'a pas trouvé une relation entre l'âge des femmes et les résultats d'ICSI (P value > 0,05). Ce résultat est contradictoire avec celui de (Friedler, 2002; Bromage *et al.*, 2007; Zorn *et al.*, 2009; Abdel Raheem *et al.*, 2013), qu'ils disent que l'avancement d'âge des femmes réduit les chances de la réussite d'ICSI.

Cette contradiction peut se produire par l'effet de la mauvaise qualité embryonnaire chez des femmes moins de 35 ans.

Presque la moitié de notre échantillon (42,8%) ont un nombre d'ovocytes matures recueillis entre 2 et 5. Dès que le nombre d'ovocytes matures augmentent, le taux de réussite d'ICSI augmente et arrive jusqu'à (45%) pour les couples qui ont plus de 9 ovocytes et ceci est dû à l'augmentation de nombre d'ovocytes qui provoque l'amélioration de taux de fécondation, cette augmentation est significative d'après l'analyse statistique (P value < 0,01) et positive ($r > 0$).

Nos résultats sont similaire à ceux de (Friedler, 2002; García-Roselló *et al.*, 2006).

Dans notre population on a une moyenne de (2,37) d'embryons obtenus avec un taux de fécondation de (42,19%) et un taux de segmentation de (97,72%), ces moyennes sont obtenus par d'autres auteurs (Giorgetti *et al.*, 2005; García-Roselló *et al.*, 2006; Zorn *et al.*, 2009).

D'après notre étude on peut dire que les patients qui ont un nombre élevé d'embryons obtenus ont des chances élevées de réussir d'ICSI parce que ceux qui ont un seul d'embryon on ne peut pas leur transférer deux embryons ou plus dans le même cycle ou pour un autre cycle d'ICSI, cette relation est approuvé pas l'analyse statistique qui ne donne une (P value < 0,01) et un ($r > 0$). Les mêmes résultats sont annoncés par d'autres auteurs (Friedler, 2002; Giorgetti *et al.*, 2005; Zorn *et al.*, 2009; García-Roselló *et al.*, 2006).

Dans la clinique Ibn Rochd, les médecins transfèrent un seul embryon pour les patients qui font l'ICSI pour la première fois et d'après les données qu'on a collectées, les patients qui ont un seul embryon transféré ont tous des résultats négatifs. L'analyse statistique montre qu'il y'a une relation entre le nombre d'embryons transféré et les résultats d'ICSI. On peut parler d'un taux de grossesse

plus de (20%) sauf si on a deux ou plus d'embryons transférés. La relation est positivement significative (P value < 0,01) ($r > 0$).

Les mêmes résultats sont trouvés dans d'autres articles (Friedler, 2002; Giorgetti *et al.*, 2005; Zorn *et al.*, 2009; García-Roselló *et al.*, 2006).

Les embryons transférés qui ont une mauvaise qualité (D ou C) n'ont aucune ICSI positive par contre il y'a une amélioration des résultats pour la qualité embryonnaire B avec un taux de (9,38%) et un meilleur taux (38,81%) pour la qualité A.

Le nombre d'embryons transférés n'est pas seulement le facteur prédictif de l'efficacité de l'ICSI mais aussi la qualité de ces embryons. Une fois la qualité est bonne on a plus de chance.

La relation est significative et positive d'après l'analyse statistique (P value < 0,01) ($r > 0$).

Ce résultat est mentionné aussi dans l'article de (Fauque *et al.*, 2007)

A decorative graphic of a scroll with a light gray background and a thin black border. The scroll is unrolled, with its ends curling upwards. The word "Conclusion" is centered on the scroll in a bold, black, serif font.

Conclusion

Conclusion :

L'azoospermie non obstructive est une anomalie due à une absence presque totale de la spermatogenèse. L'absence de la spermatogenèse peut être due soit à une affection testiculaire congénitale ou acquise, soit à une insuffisance hypothalamo-hypophysaire acquise ou congénitale.

La biopsie testiculaire reste un outil thérapeutique indispensable pour la prise en charge de l'infertilité masculine.

Après la détection des spermatozoïdes par Biopsie testiculaire, l'injection intra cytoplasmique des spermatozoïdes est la méthode conseillée

Les facteurs masculins (Age, taux de FSH, LH, Testostérone, le volume testiculaire, quantité des spermatozoïdes, la varicocèle) n'ont aucun impact sur la réussite d'ICSI, sauf l'utilisation de la pentoxifylline qui influence sur les résultats grâce à son effet d'améliorer la motilité des spermatozoïdes.

Les facteurs féminins sont les plus influençant sur le résultat d'ICSI qui dépend de nombre d'ovocytes matures recueillis, d'embryons obtenus, embryons transférés et leurs qualités.

A decorative graphic of a scroll with a grey shadow, framing the text. The scroll is positioned horizontally across the middle of the page, with its ends curling upwards and outwards.

Perspectives et Recommandations

Perspectives et Recommandations :

L'évaluation de l'ICSI présentée dans ce rapport découle des perspectives concernant la prise en charge du couple infertile et la nécessité d'études complémentaires :

- l'efficacité de la PMA, en tenant compte de la congélation des embryons.
- l'utilisation des cellules immatures ou de cellules dont la vitalité n'est pas établie (des spermatides) dans l'injection intracytoplasmique.
- études de sécurité : suivre des enfants issus de l'AMP, tout particulièrement de l'ICSI, en tenant compte des questions éthiques posées. Il est donc impératif aujourd'hui : de mettre en place un suivi des enfants issus d'AMP et de leur descendance
- la réalisation des études permettant d'évaluer les risques de l'utilisation de spermatozoïdes issus de prélèvements chirurgicaux.

A decorative graphic of a scroll with a grey shadow, framing the central text. The scroll is horizontal and has rounded ends, with a vertical strip on the left side.

Références

Références :

- Abdel Raheem, Amr, Nagla Rushwan, Giulio Garaffa, Evangelos Zacharakis, Alpesh Doshi, Carleen Heath, Paul Serhal, Joyce C. Harper, Nim A. Christopher, et David Ralph. 2013. « Factors Influencing Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI) Outcome in Men with Azoospermia: ICSI Outcome in Azoospermic Men ». *BJU International* 112 (2): 258-64. <https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2012.11714.x>.
- Alvarez Sedo, C., V. Y. Rawe, et H. E. Chemes. 2012. « Acrosomal Biogenesis in Human Globozoospermia: Immunocytochemical, Ultrastructural and Proteomic Studies ». *Human Reproduction* 27 (7): 1912-21. <https://doi.org/10.1093/humrep/des126>.
- Baazeem, Abdulaziz, Eric Belzile, Antonio Ciampi, Gert Dohle, Keith Jarvi, Andrea Salonia, Wolfgang Weidner, et Armand Zini. 2011. « Varicocele and Male Factor Infertility Treatment: A New Meta-Analysis and Review of the Role of Varicocele Repair ». *European Urology* 60 (4): 796-808. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2011.06.018>.
- Bao, Jianqiang, et Mark T Bedford. 2016. « Epigenetic Regulation of the Histone-to-Protamine Transition during Spermiogenesis ». *Reproduction* 151 (5): R55-70. <https://doi.org/10.1530/REP-15-0562>.
- Bernie, Aaron M, Ranjith Ramasamy, et Peter N Schlegel. 2013. « Predictive Factors of Successful Microdissection Testicular Sperm Extraction ». *Basic and Clinical Andrology* 23 (1): 5. <https://doi.org/10.1186/2051-4190-23-5>.
- Boitani, Carla, Sara Di Persio, Valentina Esposito, et Elena Vicini. 2016. « Spermatogonial Cells: Mouse, Monkey and Man Comparison ». *Seminars in Cell & Developmental Biology* 59 (novembre): 79-88. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2016.03.002>.
- Bos-Mikich, Adriana, Fabiana F. Bressan, Rafael R. Ruggeri, Yeda Watanabe, et Flávio V. Meirelles. 2016. « Parthenogenesis and Human Assisted Reproduction ». *Stem Cells International* 2016: 1-8. <https://doi.org/10.1155/2016/1970843>.
- Bromage, Stephen J., Jamie Douglas, Debbie A. Falconer, Brian A. Lieberman, et Stephen R. Payne. 2007. « Factors Affecting Successful Outcome from ICSI in Men Following Previous Vasectomy ». *World Journal of Urology* 25 (5): 519-24. <https://doi.org/10.1007/s00345-007-0182-7>.
- Chen, Qiaoyuan, Tingting Deng, et Daishu Han. 2016. « Testicular Immunoregulation and Spermatogenesis ». *Seminars in Cell & Developmental Biology* 59 (novembre): 157-65. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2016.01.019>.
- Chernecky, Cynthia C., et Barbara J. Berger. 2012. *Laboratory Tests and Diagnostic Procedures - E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Chiba, Koji, Noritoshi Enatsu, et Masato Fujisawa. 2016. « Management of Non-Obstructive Azoospermia ». *Reproductive Medicine and Biology* 15 (3): 165-73. <https://doi.org/10.1007/s12522-016-0234-z>.
- Coat, C., A. Perrin, M. Talagas, R. Teteftort, J. Amice, A. Valéri, M. De Braekeleer, et V. Amice. 2011. « Azoospermie : prise en charge et résultats. À propos de 90 cas ». *Progrès en Urologie* 21 (13): 946-54. <https://doi.org/10.1016/j.purol.2011.06.004>.
- Colpi, Giovanni M, Elisabetta M Colpi, Guido Piediferro, Daniela Giacchetta, Giacomo Gazzano, Fabrizio M Castiglioni, M Cristina Magli, et Luca Gianaroli. 2009. « Microsurgical TESE versus Conventional TESE for ICSI in Non-Obstructive Azoospermia: A Randomized Controlled Study ». *Reproductive BioMedicine Online* 18 (3): 315-19. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)60087-9](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)60087-9).

- Cooke, S, J P P Tyler, et G L Driscoll. 1995. « Hyperspermia: The Forgotten Condition? », 2.
- De Braekeleer, Marc, Minh Huong Nguyen, Frédéric Morel, et Aurore Perrin. 2015. « Genetic Aspects of Monomorphic Teratozoospermia: A Review ». *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 32 (4): 615-23. <https://doi.org/10.1007/s10815-015-0433-2>.
- Deng, Yong-Jian, Qing-Jun Chu, Yong-Tong Zhu, Chen Luo, Yun Li, Hong Li, Song Quan, Yu Yang, Yong-hua Hu, et Wan-Long Tan. 2015. « Differences and Similarities between Extremely Severe Oligozoospermia and Cryptozoospermia in Intracytoplasmic Sperm Injection ». *Asian Journal of Andrology* 0 (0): 0. <https://doi.org/10.4103/1008-682X.165948>.
- Du, Jing, Feng Hua Li, Yi Fen Guo, Li Ming Yang, Ju Fen Zheng, Bin Chen, Jian Shan Zhu, et Qiang Liu. 2010. « Differential Diagnosis of Azoospermia and Etiologic Classification of Obstructive Azoospermia: Role of Scrotal and Transrectal US ». *Radiology* 256 (2): 493-503. <https://doi.org/10.1148/radiol.10091578>.
- Dumont, A., A.-L. Barbotin, V. Lefebvre-Khalil, V. Mitchell, J.-M. Rigot, F. Boitrelle, et G. Robin. 2017. « La necrozoospermie : du diagnostic étiologique à la prise en charge thérapeutique ». *Gynécologie Obstétrique Fertilité & Sénologie* 45 (4): 238-48. <https://doi.org/10.1016/j.gofs.2017.01.010>.
- Esteves, Sandro C. 2016. « Novel Concepts in Male Factor Infertility: Clinical and Laboratory Perspectives ». *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 33 (10): 1319-35. <https://doi.org/10.1007/s10815-016-0763-8>.
- Fauque, Patricia, Roger Léandri, Françoise Merlet, Jean-Claude Juillard, Sylvie Epelboin, Juliette Guibert, Pierre Jouannet, et Catherine Patrat. 2007. « Pregnancy Outcome and Live Birth after IVF and ICSI According to Embryo Quality ». *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 24 (5): 159-65. <https://doi.org/10.1007/s10815-007-9115-z>.
- Fournier-Delpech, S., Y. Guérin, M. Magistrini, Y. Combarous, et Jj Roi. 1995. « Asthénospermie immuno-induite par une protéine épидидymaire, la préalbumine ovine (oPES) ». *Reproduction Nutrition Development* 35 (4): 427-36. <https://doi.org/10.1051/rnd:19950407>.
- Friedler, S. 2002. « Factors Influencing the Outcome of ICSI in Patients with Obstructive and Non-Obstructive Azoospermia: A Comparative Study ». *Human Reproduction* 17 (12): 3114-21. <https://doi.org/10.1093/humrep/17.12.3114>.
- Friedman, K J, H Teichtahl, D M De Kretser, P Temple-Smith, G J Southwick, L M Silverman, W E Highsmith, R C Boucher, et M R Knowles. 1995. « Screening Young Syndrome Patients for CFTR Mutations. ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 152 (4): 1353-57. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.152.4.7551394>.
- Gabrielsen, J S, et C Tanrikut. 2016. « Chronic Exposures and Male Fertility: The Impacts of Environment, Diet, and Drug Use on Spermatogenesis », 14.
- Gao, Ying, Xiang Xiao, Wing-ye Lui, Will M. Lee, Dolores Mruk, et C. Yan Cheng. 2016. « Cell Polarity Proteins and Spermatogenesis ». *Seminars in Cell & Developmental Biology* 59 (novembre): 62-70. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2016.06.008>.
- García-Roselló, Empar, Pilar Coy, Francisco Alberto García Vázquez, Salvador Ruiz, et Carmen Matás. 2006. « Analysis of Different Factors Influencing the Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI) Yield in Pigs ». *Theriogenology* 66 (8): 1857-65. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.04.037>.
- Giorgetti, C, Jm Chinchole, E Hans, O Charles, Jp Franquebalme, E Glowaczower, J Salzmman, P Terriou, et R Roulier. 2005. « Crude Cumulative Delivery Rate Following ICSI Using Intentionally Frozen–Thawed

Testicular Spermatozoa in 51 Men with Non-Obstructive Azoospermia ». *Reproductive BioMedicine Online* 11 (3): 319-24. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)60839-5](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)60839-5).

- Glezerman, Marek, Dinu Bernstein, Chaim Zakut, Nehama Misgav, et Vaclav Insler. 1982. « Polyzoospermia: A Definite Pathologic Entity ». *Fertility and Sterility* 38 (5): 605-8. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)46642-2](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)46642-2).
- Griswold, Michael D. 2016. « Spermatogenesis: The Commitment to Meiosis ». *Physiological Reviews* 96 (1): 1-17. <https://doi.org/10.1152/physrev.00013.2015>.
- Hefner, J., H. Csef, et J. Seufert. 2009. « Kallmann-Syndrom: Pathophysiologische Grundlagen und Darstellung zweier Patientengeschichten ». *Der Nervenarzt* 80 (10): 1169-75. <https://doi.org/10.1007/s00115-009-2739-8>.
- Hotaling, J., et D. T. Carrell. 2014. « Clinical Genetic Testing for Male Factor Infertility: Current Applications and Future Directions ». *Andrology* 2 (3): 339-50. <https://doi.org/10.1111/j.2047-2927.2014.00200.x>.
- Inhorn, M. C., et P. Patrizio. 2015. « Infertility around the Globe: New Thinking on Gender, Reproductive Technologies and Global Movements in the 21st Century ». *Human Reproduction Update* 21 (4): 411-26. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmv016>.
- Jarow, Jonathan P, Haolin Chen, William Rosner, Stephanie Trentacoste, et Barry R Zirkin. 2001. « Assessment of the Androgen Environment Within the Human Testis: Minimally Invasive Method to Obtain Intratesticular Fluid ». *Journal of Andrology*, 6.
- Jarvi, Keith, Kirk Lo, Ethan Grober, Victor Mak, Anthony Fischer, John Grantmyre, Armand Zini, et al. 2015. « CUA Guideline: The Workup and Management of Azoospermic Males ». *Canadian Urological Association Journal* 9 (7-8): 229. <https://doi.org/10.5489/cuaj.3209>.
- Kherraf, Zine Eddine. 2017. « Caractérisation moléculaire et physiopathologique d'une nouvelle cause génétique de l'azoospermie non obstructive », 118.
- Kierszenbaum, Abraham L., Eugene Rivkin, et Laura L. Tres. 2003. « Acroplaxome, an F-Actin–Keratin-Containing Plate, Anchors the Acrosome to the Nucleus during Shaping of the Spermatid Head ». *Molecular Biology of the Cell* 14 (11): 4628-40. <https://doi.org/10.1091/mbc.e03-04-0226>.
- Lam, Isabel, et Scott Keeney. 2015. « Mechanism and Regulation of Meiotic Recombination Initiation ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 7 (1): a016634. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a016634>.
- Lanfranco, Fabio, Axel Kamischke, Michael Zitzmann, et Eberhard Nieschlag. 2004. « Klinefelter's syndrome ». *The Lancet* 364 (9430): 273-83. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16678-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16678-6).
- Linck, Richard W., Hector Chemes, et David F. Albertini. 2016. « The Axoneme: The Propulsive Engine of Spermatozoa and Cilia and Associated Ciliopathies Leading to Infertility ». *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 33 (2): 141-56. <https://doi.org/10.1007/s10815-016-0652-1>.
- Mao, Hai-Tao, et Wan-Xi Yang. 2013. « Modes of Acrosin Functioning during Fertilization ». *Gene* 526 (2): 75-79. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.05.058>.
- McLachlan, Robert I. 2013. « Approach to the Patient With Oligozoospermia ». *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 98 (3): 873-80. <https://doi.org/10.1210/jc.2012-3650>.

- Mechlin, Clay W, et Barry A Kogan. 2014. « What Lessons Can Be Learned from Testicular Histology in Undescended Testes? » *Translational Andrology and Urology* 3 (4): 5.
- Mruk, Dolores D., et C. Yan Cheng. 2015. « The Mammalian Blood-Testis Barrier: Its Biology and Regulation ». *Endocrine Reviews* 36 (5): 564-91. <https://doi.org/10.1210/er.2014-1101>.
- Namwanje, Maria, et Chester W. Brown. 2016. « Activins and Inhibins: Roles in Development, Physiology, and Disease ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 8 (7): a021881. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021881>.
- Neto, Filipe Tenorio Lira, Phil Vu Bach, Bobby B. Najari, Philip S. Li, et Marc Goldstein. 2016. « Spermatogenesis in Humans and Its Affecting Factors ». *Seminars in Cell & Developmental Biology* 59 (novembre): 10-26. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2016.04.009>.
- Nevoux, Pierre, Geoffroy Robin, Tarek Gonheim, Florence Boitrelle, Jean-Marc Rigot, et François Marcelli. 2009. « Varicocèle et infertilité : mythe ou réalité ? » *Progrès en Urologie - FMC* 19 (4): F126-30. <https://doi.org/10.1016/j.fpurol.2009.06.002>.
- Nuti, Francesca, et Csilla Krausz. 2008. « Gene Polymorphisms/Mutations Relevant to Abnormal Spermatogenesis ». *Reproductive BioMedicine Online* 16 (4): 504-13. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)60457-9](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)60457-9).
- Palermo, G. 1992. « Pregnancies after Intracytoplasmic Injection of Single Spermatozoon into an Oocyte ». *The Lancet* 340 (8810): 17-18. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(92\)92425-F](https://doi.org/10.1016/0140-6736(92)92425-F).
- Pierre, V., G. Martinez, C. Coutton, J. Delaroche, S. Yassine, C. Novella, K. Pernet-Gallay, S. Hennebicq, P. F. Ray, et C. Arnoult. 2012. « Absence of Dpy19l2, a New Inner Nuclear Membrane Protein, Causes Globozoospermia in Mice by Preventing the Anchoring of the Acrosome to the Nucleus ». *Development* 139 (16): 2955-65. <https://doi.org/10.1242/dev.077982>.
- Ramalho-Santos, João, Gerald Schatten, et Ricardo D. Moreno. 2002. « Control of Membrane Fusion During Spermiogenesis and the Acrosome Reaction1 ». *Biology of Reproduction* 67 (4): 1043-51. <https://doi.org/10.1095/biolreprod67.4.1043>.
- Rives, Nathalie. 2014. « Y Chromosome Microdeletions and Alterations of Spermatogenesis, Patient Approach and Genetic Counseling ». *Annales d'Endocrinologie* 75 (2): 112-14. <https://doi.org/10.1016/j.ando.2014.04.001>.
- Robin, G., F. Marcelli, V. Mitchell, C. Marchetti, L. Lemaitre, D. Dewailly, M. Leroy-Billiard, et J.-M. Rigot. 2008. « Pourquoi et comment réaliser un bilan d'hypospermie ? » *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 36 (10): 1035-42. <https://doi.org/10.1016/j.gyobfe.2008.04.021>.
- Rolland, Antoine D., Bernard Jégou, et Charles Pineau. 2009. « Testicular Development and Spermatogenesis: Harvesting the Postgenomics Bounty ». In *Molecular Mechanisms in Spermatogenesis*, édité par C. Yan Cheng, 636:16-41. New York, NY: Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-0-387-09597-4_2.
- Salama, S., F. Boitrelle, M. Albert, I. Hammoud, C. Huchon, R. Wainer, J. Selva, et M. Bailly. 2012. « Intérêt de la ponction épидидymaire et de la biopsie testiculaire systématique dans la prise en charge de l'azoospermie obstructive ». *Basic and Clinical Andrology* 22 (4): 252-62. <https://doi.org/10.1007/s12610-012-0202-3>.
- Simoni, M, G F Weinbauer, J Gromoll, et E Nieschlag. 1999. « Role of FSH in Male Gonadal Function », 5.

- Skaletsky, Helen, Tomoko Kuroda-Kawaguchi, Patrick J. Minx, Holland S. Cordum, LaDeana Hillier, Laura G. Brown, Sjoerd Repping, et al. 2003. « The Male-Specific Region of the Human Y Chromosome Is a Mosaic of Discrete Sequence Classes ». *Nature* 423 (6942): 825-37. <https://doi.org/10.1038/nature01722>.
- Stanton, Peter G. 2016. « Regulation of the Blood-Testis Barrier ». *Seminars in Cell & Developmental Biology* 59 (novembre): 166-73. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2016.06.018>.
- Sutter, P. D., D. Dozortsev, C. Qian, et M. Dhont. 1996. « Oocyte Morphology Does Not Correlate with Fertilization Rate and Embryo Quality after Intracytoplasmic Sperm Injection ». *Human Reproduction* 11 (3): 595-97. <https://doi.org/10.1093/HUMREP/11.3.595>.
- Thonneau, Patrick, Sophie Marchand, Anne Tallec, Marie-Laure Ferial, Béatrice Ducot, Jacques Lansac, Patrice Lopes, Jean-Marie Tabaste, et Alfred Spira. 1991. « Incidence and Main Causes of Infertility in a Resident Population (1 850 000) of Three French Regions (1988–1989)* ». *Human Reproduction* 6 (6): 811-16. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a137433>.
- Tüttelmann, F., F. Werny, T. G. Cooper, S. Kliesch, M. Simoni, et E. Nieschlag. 2011. « Clinical Experience with Azoospermia: Aetiology and Chances for Spermatozoa Detection upon Biopsy: Azoospermia and Chance of Sperm Retrieval ». *International Journal of Andrology* 34 (4pt1): 291-98. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2010.01087.x>.
- Tüttelmann, Frank, Manuela Simoni, Sabine Kliesch, Susanne Ledig, Bernd Dworniczak, Peter Wieacker, et Albrecht Röpke. 2011. « Copy Number Variants in Patients with Severe Oligozoospermia and Sertoli-Cell-Only Syndrome ». Édité par Laszlo Orban. *PLoS ONE* 6 (4): e19426. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019426>.
- Van Saen, D., I. Gies, J. De Schepper, H. Tournaye, et E. Goossens. 2012. « Can Pubertal Boys with Klinefelter Syndrome Benefit from Spermatogonial Stem Cell Banking? ». *Human Reproduction* 27 (2): 323-30. <https://doi.org/10.1093/humrep/der425>.
- Vikraman, Jaya, John M. Hutson, Ruili Li, et Jorgen Thorup. 2016. « The Undescended Testis: Clinical Management and Scientific Advances ». *Seminars in Pediatric Surgery* 25 (4): 241-48. <https://doi.org/10.1053/j.sempedsurg.2016.05.007>.
- Wosnitzer, Matthew, Marc Goldstein, et Matthew P Hardy. 2014. « Review of Azoospermia ». *Spermatogenesis* 4 (1): e28218. <https://doi.org/10.4161/spmg.28218>.
- Xie, Donghua. 2017. « Aspermia: A Review of Etiology and Treatment ». *International Archives of Urology and Complications* 3 (1). <https://doi.org/10.23937/2469-5742/1510023>.
- Young, Jacques. 2016. « Infertilité masculine: mécanismes, causes et exploration » 80: 8.
- Zorn, Branko, Irma Virant-Klun, Sašo Drobni, Jasna Šinkovec, et Helena Meden-Vrtovec. 2009. « Male and Female Factors That Influence ICSI Outcome in Azoospermia or Aspermia ». *Reproductive BioMedicine Online* 18 (2): 168-76. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)60252-0](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)60252-0).

A decorative graphic consisting of a large, light gray scroll-like shape with rounded corners. The scroll is oriented horizontally, with its top edge slightly curved upwards. The word "ANNEXES" is centered within this scroll. The scroll has a subtle gradient and a thin black outline. The word "ANNEXES" is written in a bold, black, serif font.

ANNEXES

Annexe 1. Fiche technique de GM501 SPERMMOBIL :

GM501 SpermMobil is a HEPES-Buffered Reagent containing low bicarbonate. It is used for In-Vitro examination of necrozoospermic ejaculates as well as of immobile sperms isolated from testicular tissue (TESE).

Composition:

- Theophylline solved in HEPES-buffered medium.
- NaCl, KCl, KH₂PO₄, MgSO₄·7H₂O, NaHCO₃, CaCl₂·2H₂O, D(+)-Glucose Anhydrous, Na-Lactate, Na-Pyruvate, EDTA, Alanine-Glutamine, water, non-essential and essential Amino Acids, Gentamicin, Phenolred, HEPES, Theophylline.

Product specifications and quality control:

- All raw materials are of highest available purity (European Pharmacopoeia and/or USP standard) if applicable.
- A certificate of analysis is available for each batch upon request from our website with respective lot number.
- The MSDS for GM501 SpermMobil is available upon request and can be downloaded from our website.
- GM501 SpermMobil is manufactured and tested according to the following specifications:

pH (at 37°C)	7.20-7.60
Osmolality (mOsm/kg)	280-320
Sterility	sterile - SAL 10 ⁻³ (Sterility Assurance Level)
Endotoxins (EU/ml)	< 0.50

Annexe 2. Fiche technique de FertiCult™ Flushing medium

FertiCult™ Flushing medium

Cell culture medium for washing of human ova, spermatozoa and embryos, for swim-up of spermatozoa, sperm injection in ICSI, intra uterine insemination and embryo transfer

Document reference: FP09 I08 R01 B.2, Update: 28/SEP/2011

STERILE A

USED ABBREVIATIONS

ICSI Intracytoplasmic Sperm Injection
IUI Intra uterine insemination

GENERAL INFORMATION AND INTENDED USE

FertiCult Flushing medium is a formulation for washing of human ova, spermatozoa and embryos. FertiCult Flushing medium can also be used for swim-up techniques of human spermatozoa, sperm injection in oocytes during ICSI, introduction of washed spermatozoa in the uterus (IUI) and for embryo transfer. The medium is complete and needs no further additives. The medium contains HEPES; no CO₂ incubation is required. FertiCult Flushing medium does not contain heparin, thus for oocyte pick-up, use FertiCult Aspiration medium. As with all IVF media, FertiCult Flushing medium ought to be preincubated in the incubator for 12 hours before use (with lid closed).

COMPOSITION

FertiCult Flushing medium is a ready-to-use HEPES-buffered medium which also contains bicarbonate, physiologic salts, glucose, lactate and human serum albumin (4.00g/liter).

Gentamicin Sulphate can be added upon request (10 mg/liter).

MATERIAL INCLUDED WITH THE KIT

Product code	Product description
FLUSH020	9 x 20ml of FertiCult Flushing medium
FLUSH22.8	1x22.8ml of FertiCult Flushing medium
FLUSH050	5x50ml of FertiCult Flushing medium
FLUSH100	3x100ml of FertiCult Flushing medium
FLUSH_002_PHR	1x2ml of FertiCult Flushing medium with Phenol Red
FLUSH020PHR	9 x 20ml of FertiCult Flushing medium with Phenol Red
FLUSH050PHR	5x50ml of FertiCult Flushing medium with Phenol Red
FLUSH100PHR	3x100ml of FertiCult Flushing medium with Phenol Red
FLUSH500PHR	1x500ml of FertiCult Flushing medium with Phenol Red
FLUSH100PHR_G	3x100ml of FertiCult Flushing medium with Phenol Red and Gentamicin
FLUSH500PHR_G	1x500ml of FertiCult Flushing medium with Phenol Red and Gentamicin

MATERIAL NOT INCLUDED WITH THE KIT

- Incubator at 37°C (No CO₂)
- Petri dishes
- Microscope
- Test tubes
- LAF bench (ISO 5 environment)
- Syringe (e.g. 1ml Plastipack)
- Catheter

PRODUCT SPECIFICATIONS

- Chemical composition
- pH: between 7.30-7.60 (Release criteria)
- Osmolality: 270-290 mOsm/kg
- Sterility: sterile (SAL 10⁻³)
- Endotoxins: < 0.25 EU/ml
- Mouse Embryo Assay (blastocysts after 96h): ≥ 80% after 30min of exposure (zygote stage)
- Use of Ph Eur or USP grade products if applicable
- Certificate of analysis and MSDS are available upon request

PRE-USE CHECKS

- Do not use the product if it becomes discoloured (if medium contains phenol red), cloudy, or shows any evidence of microbial contamination
- Do not use the product if seal of the container is opened or defect when the product is delivered

STORAGE INSTRUCTIONS

- Store between 2-25°C, once opened store between 2-8°C
- Do not freeze before use
- Keep away from (sun)light
- After opening the container do not use the product longer than 7 days
- Do not use after expiry date

WARNINGS AND PRECAUTIONS

Standard measures to prevent infections resulting from the use of medicinal products prepared from human blood or plasma include selection of donors, screening of individual donations and plasma pools for specific markers of infection and the inclusion of effective manufacturing steps for the inactivation/ removal of viruses. Despite this, when medicinal products prepared from human blood or plasma are administered, the possibility of transmitting infective agents cannot be totally excluded. This also applies to unknown or emerging viruses and other pathogens. There are no reports of proven virus transmissions with albumin manufactured to European Pharmacopoeia specifications by established processes. Therefore, handle all specimens as if capable of transmitting HIV or hepatitis.

Always wear protective clothing when handling specimens.

Always work under strict hygienic conditions (ISO 5 environment, e.g. LAF-bench) to avoid possible contamination, even when FertiCult Flushing medium contains Gentamicin.

METHOD

Washing of spermatozoa (suggested procedure)

The washing of spermatozoa can be done at room temperature or at 37°C.

1. Add 5 ml FertiCult Flushing medium to the native semen sample and mix. Centrifuge for 15 minutes at approximately 300g.
2. Remove supernatant and leave about 0.5mL of semen in the centrifuge tube.
3. Add 5ml FertiCult Flushing medium to the test-tube. Mix the solution gently until the pellet is completely dissolved.
4. Centrifuge again for 10 minutes at 300g.
5. Perform a swim-up.

Swim-up procedure (according to WHO, 2010)

1. Mix the semen sample (or semen/medium mix after performing "Washing of spermatozoa" procedure) well
2. Place 1ml of semen in a sterile 15-ml conical centrifuge tube, and gently layer 1.2ml of FertiCult Flushing medium over it. Alternatively, pipette the semen carefully under the medium.
3. Incline the tube at an angle of about 45°, to increase the surface area of the semen-culture medium interface, and incubate for 1 hour at 37°C.
4. Gently return the tube to the upright position and remove the uppermost 1ml of medium. This will contain highly motile sperm cells.
5. Dilute this with 1.5-2.0ml of FertiCult Flushing medium.
6. Centrifuge at 300-500g for 5 minutes and discard the supernatant.
7. Resuspend the sperm pellet in 0.5ml of FertiCult Flushing medium.

Embryo transfer (according to Brinsden, 2005)

1. Take a sterile syringe, fill with FertiCult Flushing medium, and eject air bubbles. Attach the syringe to a catheter, and eject the medium.
2. Draw up FertiCult Flushing medium into the syringe and push down the piston to the 10µl calibration mark.
3. Draw up the embryo(s) into the catheter so that the volume to be transferred is approximately 20-30µl.
4. Hand catheter and syringe to the clinician for insertion and transfer in the uterus.

BIBLIOGRAPHY

1. WHO Laboratory Manual for the Examination and processing of human semen, 5th Edition, World Health Organisation (2010).
2. Brinsden P.R. (2005). Bourn Hall Clinic Procedures and Protocols. A textbook of in vitro fertilization and assisted reproduction, 3rd edition, Taylor & Francis. Procedure No. K.7.



FertiPro NV - Industriepark Noord 32 - 8730 Beernem
Tel +32 (0)50 79 18 05 - Fax +32 (0)50 79 17 99
URL: www.fertipro.com - E-mail: info@fertipro.com

Annexe 3. Fiche technique de Hyaluronidase in FertiCult™ Flushing medium

Hyaluronidase in FertiCult™ Flushing medium

MEDIA FOR USE IN ART PROCEDURES

Hyaluronidase in FertiCult™ Flushing medium is sterilised by sterile filtration

STERILE A

Document reference : FP09 I16 R01 B.2

Update: 21/10/2011

GENERAL INFORMATION

Hyaluronidase in FertiCult™ Flushing medium contains 80 IU /mL pharmaceutical grade hyaluronidase from bovine origin, in FertiCult Flushing medium™. The product is ready for use.

Hyaluronidase in FertiCult™ Flushing medium is used in the oocyte denudation process. Hyaluronidase digests the hyaluronic acid between the cumulus cells, which makes it easier to remove the cumulus mechanically.

MATERIAL INCLUDED IN THE KIT

Product Code: HYA001

1mL Hyaluronidase in FertiCult™ Flushing medium

Product Code: HYA010

10mL Hyaluronidase in FertiCult™ Flushing medium

MATERIAL NOT INCLUDED IN THE KIT

Incubator (no CO₂)

Petri dishes

Glass pipettes

Microscope

FertiCult™ Mineral Oil

PRE-USE CHECKS

- Do not use the product if it becomes discoloured (if medium contains phenol red), cloudy, or shows any evidence of microbial contamination
- Do not use the product if seal of the container is opened or defect when the product is delivered

INSTRUCTIONS FOR USE

- 1 Warm hyaluronidase to a temperature of 37°C.
- 2 Prepare a dish containing 1 droplet of hyaluronidase in FertiCult™ Flushing medium (100 µL) and 3-5 droplets (100µL) of FertiCult™ Flushing medium for oocyte washing (all under mineral oil e.g. FertiCult™ Mineral Oil).
- 3 Place oocytes in the hyaluronidase (up to 5 oocytes maximum) for about 30 seconds.
- 4 Using a fine glass pipette, transfer the partially denuded oocytes in the first washing droplet.
- 5 Remove the corona by pipetting the oocytes.
- 6 Use the other droplets to further wash the denuded oocytes.

Notice : Do not incubate in a CO₂ incubator. Hyaluronidase in FertiCult™ Flushing medium is HEPES-buffered. Incubation in a CO₂ incubator will lower the pH.

PRODUCT SPECIFICATIONS AND QUALITY CONTROL

Hyaluronidase in FertiCult™ Flushing medium is manufactured according to these specifications:

- pH: 7.20 - 7.60 (under air)
 - Osmolality: 270 - 290 mOsm/kg
 - Endotoxin: < 1.00 EU/mL
 - Sterility: Sterile
 - Mouse-embryo test: ≥ 80% blastocysts after 96 hours culture (exposure at zygote stage)
 - Use of Ph Eur or USP grade products if applicable
- A certificate of analysis is available on request.

STORAGE INSTRUCTIONS

- Store between 2-8°C
- Do not freeze before use
- Keep away from (sun)light
- After opening the container do not use the product longer than 7 days
- Do not use after expiry date

WARNINGS AND PRECAUTIONS

Standard measures to prevent infections resulting from the use of medicinal products prepared from human blood or plasma include selection of donors, screening of individual donations and plasma pools for specific markers of infection and the inclusion of effective manufacturing steps for the inactivation/removal of viruses. Despite this, when medicinal products prepared from human blood or plasma are administered, the possibility of transmitting infective agents cannot be totally excluded. This also applies to unknown or emerging viruses and other pathogens. There are no reports of proven virus transmissions with albumin manufactured to European Pharmacopoeia specifications by established processes.

Handle all specimens as if capable of transmitting HIV or hepatitis. Always wear protective clothing when handling specimens.

The above media do not contain antibiotics, always work under strict hygienic conditions (laminary flow) to avoid contamination, or add your own antibiotics (gentamicin) at 10mg per mL.

Don't use media if cloudy.

BOVINE SOURCED HYALURONIDASE

The Pharmaceutical grade hyaluronidase used in this product is sourced bovine testis. It is certified not to contain any neuronal tissue.

According to the "WHO guideline on Transmissible Spongiform Encephalopathies in Relation to Biological and Pharmaceutical Product", and according to EC directive 2004/C24/03 "Note for guidance on minimising the risk of transmitting animal spongiform encephalopathy agents via human and veterinary medicinal products (EMA/410/01) adopted by the Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP) and by the Committee for Veterinary Medicinal Products (CVMP)", testis material from bovine source is classified as a "Category C: Tissues with no detected infectivity" product.



FertiPro N.V.
Industriepark Noord 32
8730 Beernem, Belgium.

URL: <http://www.fertipro.com>

E-mail: info@fertipro.com

Annexe 4. Fiche technique de 10 % PVP in FertiCultFlushing Medium :

10% PVP in FertiCult Flushing Medium

VISCOUS MEDIUM FOR REDUCING SPERM MOTILITY

This product is sterilised by sterile filtration **STERILE A**

Document reference : FP09 I17 R01 B.3

Update: 08/04/08

GENERAL INFORMATION

Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) requires the capture of individual sperm cells in a glass pipette for injection into the oocyte.

This procedure is facilitated by first immobilizing the sperm. The most widely used method of immobilizing the sperm cells is by placing them in a viscous medium prior to nicking the tail to immobilize the sperm completely.

10% (w/v) dialysed Ph Eur grade PVP in FertiCult Flushing medium is a viscous medium that can be used in ICSI procedures.

For use in human assisted reproduction techniques.

MATERIAL INCLUDED IN THE KIT

Product Code : PVP001

1x 1mL 10% PVP in FertiCult Flushing medium

Product code: PVP0.2

5x 0.2mL 10 % PVP in FertiCult Flushing medium

MATERIAL NOT INCLUDED IN THE KIT

Incubator at 37°C (no CO₂)

Petri dishes

Glass pipettes

FertiCult Mineral Oil

FertiCult Flushing medium

PRODUCT SPECIFICATIONS AND QUALITY CONTROL

10% PVP in FertiCult Flushing medium is manufactured according to these specifications:

- pH: 7.20 - 7.60
- Osmolality: 280 - 320 mOsm/kg
- Endotoxin: < 1.0 EU/mL
- Sterility assurance level: 10⁻³
- Mouse-embryo test: ≥ 80% blastocysts after 30 min exposure
- Viscosity: > 170 cP at 25°C
- Use of Ph Eur or USP grade products if applicable

A certificate of analysis for this product is available on request.

10% PVP in FertiCult Flushing medium has been evaluated by an independent test laboratory using the ISO10993-5/USP30-NF 25 Agar Diffusion test for cytotoxicity. The product was considered non-cytotoxic.

INSTRUCTIONS FOR USE

Standard procedure

1. Warm the PVP solution to a temperature of 37°C.
2. Place a small drop of PVP solution (5µL-10µL) in a dish and cover with FertiCult Mineral Oil.
3. Add a small volume (1-2 µL) of washed sperm into the centre of the PVP droplet.
4. Incubate for a few minutes to allow sperm to migrate to the periphery of the droplet.
5. Select and recover the spermatozoa for injection.

Alternative procedure with extra washing step

1. Warm the PVP solution and FertiCult Flushing medium to a temperature of 37°C.
2. Place a small drop of PVP solution (5µL-10µL) and 1 or more small drops FertiCult Flushing medium in a dish and cover with FertiCult Mineral Oil.
3. Add a small volume (1-2 µL) of washed sperm into the centre of the PVP droplet.
4. Incubate for a few minutes to allow sperm to migrate to the periphery of the droplet.
5. Select the spermatozoa for injection and nick (break) the tail of the spermatozoon with the tip of the glass pipette.
6. Transfer the spermatozoon into one of the FertiCult Flushing medium droplets and wash by transferring the sperm cell in and out of the Flushing medium several times.
7. Suck the sperm cell into the glass pipette and use for ICSI procedure.

Notice : Do not incubate in a CO₂ incubator. 10% PVP in FertiCult Flushing medium is HEPES-buffered. Incubation in a CO₂ incubator will lower the pH.

STORAGE AND CONSERVATION

Store product upon arrival at 2-8°C.

Keep from light.

WARNING AND PRECAUTION

All human, organic material should be considered potentially infectious.

Handle all specimens as if capable of transmitting HIV or hepatitis. Always wear protective clothing when handling specimens.

The above media do not contain antibiotics, always work under strict hygienic conditions (laminary flow) to avoid contamination, or add your own antibiotics (e.g. penicillin at about 100 units per mL).

Don't use media if cloudy.

Bibliography

Gianaroli L., et al, *ESHRE guidelines for good practice in IVF laboratories*, Hum Rep (2000), Vol.15, no.10, pp.2241-2246

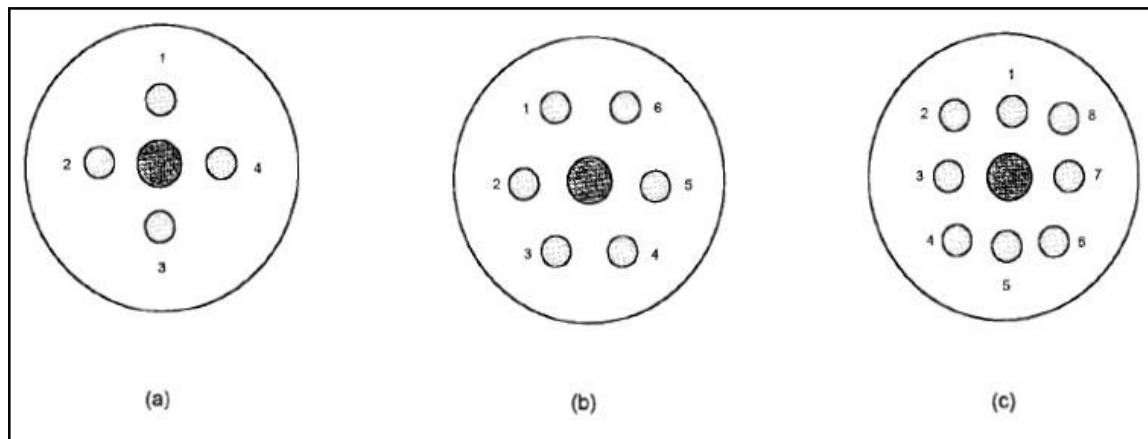
Textbook of in vitro fertilization and assisted reproduction, The Bourn Hall Guide to Clinical and Laboratory Practice 3rd Edition, Ed: Brinsden PR, Taylor and Francis, 2005, pp. 342-343

10% PVP in FertiCult Flushing medium is produced by:
FertiPro N.V., Industriepark Noord 32
8730 Beernem, Belgium.

URL: <http://www.fertipro.com>

E-mail: info@fertipro.com

Annexe 5. Placement des gouttelettes de milieu de culture des ovocytes et de milieu visqueux PVP :



(a) quatre gouttelettes de milieu de culture entourant la gouttelette de PVP ; (b) six gouttelettes de milieu de culture entourant la gouttelette de PVP ; (c) huit gouttelettes de milieu de culture entourant la gouttelette de PVP.

Annexe 6. Fiche technique de FertiCult™ IVF medium :

FertiCult™ IVF medium

Cell culture medium for *in vitro* culture of human embryos, during the first 48 hours in culture

Document reference: FP09 I07 R01 B.2, Update: 01/OCT/2012



GENERAL INFORMATION

FertiCult IVF medium is a ready to use formulation for the *in vitro* culture of mammalian embryos. It is designed for short term culture only (up to 48 hours in culture). The medium is complete and needs no further additives.

If preferred 10 % patient serum *v/v* can be added.

FertiCult IVF medium is suitable for micro-droplets under oil or equally suited to culture in Falcon 3037 organ culture dishes (also 4-well Nunc culture dishes).

As with all IVF media, FertiCult IVF medium has to be pre-incubated in CO₂ incubator with 5% CO₂ for 24 hours before use (with lid opened).

MATERIAL INCLUDED WITH THE KIT

Product code	Product description
FECU020	5 x 20ml FertiCult IVF medium
FECU050	5 x 50mL FertiCult IVF medium
FECU100	3 x 100mL FertiCult IVF medium
FECU020PHR	5 x 20ml FertiCult IVF medium w/ phenol red
FECU050PHR	5 x 50mL FertiCult IVF medium w/ phenol red
FECU100PHR	3 x 100mL FertiCult IVF medium w/ phenol red
FECU020PHR_G	5 x 20ml FertiCult IVF medium w/ phenol red and Gentamicin
FECU050PHR_G	5 x 50mL FertiCult IVF medium w/ phenol red and Gentamicin
FECU100PHR_G	3 x 100mL FertiCult IVF medium w/ phenol red and Gentamicin

MATERIAL NOT INCLUDED WITH THE KIT

- Incubator at 37°C (5% CO₂)
- Petri dishes (e.g. Falcon 3037)
- Mineral oil (e.g. FertiCult Mineral Oil)
- Laminar flow bench (ISO5 environment)
- Microscope
- Test tubes

PRODUCT SPECIFICATIONS

- Chemical composition
- pH: between 7.20 - 7.50 (37°C - 5 % CO₂)
- Osmolality: 270 - 290 mOsm/kg
- Sterility: sterile (SAL 10⁻³)
- Endotoxins: < 0.25 EU/ml
- Mouse Embryo Assay (blastocysts after 96h culture): ≥ 80% (48h exposure from zygote stage)
- Use of Ph Eur or USP grade raw materials if applicable
- Certificate of analysis and MSDS are available upon request

PRE-USE CHECKS

- Do not use the product if it becomes discoloured (if medium contains phenol red), cloudy, or shows any evidence of microbial contamination
- Do not use the product if seal of the container is opened or defect when the product is delivered

STORAGE AND CONSERVATION

- Store between 2-25°C, once opened store between 2-8°C
- Do not freeze before use
- Keep away from (sun)light
- After opening the container do not use the product longer than 7 days
- Do not use after expiry date

WARNINGS AND PRECAUTION

FertiCult IVF medium contains human serum albumin. Source materials from which this product was derived was found negative when tested for antibodies to HIV and HCV and non-reactive for HbsAg, HBV RNA, HCV RNA, HIV-1 RNA and syphilis. No known test method can offer assurance that products derived from human blood will not transmit

infectious agents. Therefore, handle all specimens as if capable of transmitting HIV or hepatitis.

Always wear protective clothing when handling specimens.

Always work under strict hygienic conditions (ISO 5 environment, e.g. LAF-bench) to avoid possible contamination, even when FertiCult IVF medium contains Gentamicin.

METHOD

PREPARATIONS FOR USE OF MICRO-DROPLETS

For micro-droplets, between 100-250µl of FertiCult IVF medium may be dispensed around the culture dish, up to 8 per 60mm dish.

The dish is then filled with 5ml of pre-washed and pre-equilibrated light mineral oil (nontoxic and preferably embryo tested, e.g. FertiCult Mineral Oil).

One oocyte is usually placed with about 10 000 sperm cells per micro-droplet, so if each patient during the next day is expecting 16 oocytes, at least two dishes per patient should be prepared. The dishes are then placed in the incubator (usually non-humidified) to equilibrate overnight at 37°C and under an atmosphere of 5% CO₂ in air.

Overnight equilibration is highly recommended.

PREPARATIONS FOR USE IN OPEN SYSTEMS

In open systems such as with the Falcon or Nunc dishes, about 1ml of medium is placed in each well.

A further 3ml is placed in the reservoir surrounding the wells. This helps to maintain humidity as well as providing medium with which to wash the oocytes and embryos.

Up to five oocytes per dish (or well if using Nunc dishes) may be cultured together, usually with about 100 000 sperm cells.

So if each patient during the next day is expecting 15 oocytes at oocyte collection, at least six dishes per patient should be prepared (three for initial holding and cleaning of oocytes during collection and then three dishes for overnight culture).

When using Nunc dishes, two would be enough (since there are 4 wells per dish, the resulting 8 wells would be more than enough).

The dishes are then placed in the incubator to equilibrate overnight at 37°C and under an atmosphere of 5% CO₂ in air.

As with the micro-droplets method described above, **equilibration overnight is highly recommended.**

In the open system, paraffin oil is not necessary, but sometimes a 1ml layer of mineral oil may be added over the medium in the inner well. When using such an open system the incubator must be humidified.

CULTURE

After equilibration overnight, the prepared dishes are ready for use.

During oocyte collection, oocytes are identified in the follicular aspirates and then washed before placing into the wells or droplets in the dish (as appropriate). Once oocyte collection is over, oocytes will be checked and may be rewashed, before then being placed into fresh droplets/wells for overnight culture.

Generally, within 6 hours of oocyte collection, oocytes will be inseminated with prepared sperm and then left overnight in the incubator.

The procedures described above are for the first 24 hours of culture. Once embryos have been identified by the presence of two pro-nuclei, they are usually placed into fresh dishes containing fresh medium.

In the past, where people have used cord serum or patient serum, the initial medium contains 10% and the changeover (after fertilisation has been confirmed) 15%.

When using FertiCult IVF medium no extra protein is required at changeover. Dishes should be prepared as described above, equilibrated overnight, after which they will be ready to receive the newly fertilised embryos.

NB. Test tube culture is now rare, but for those still using this method, place 1ml of FertiCult IVF medium in each tube and then follow the same procedure as for Falcon or Nunc dishes.



FertiPro N.V. - Industriepark Noord 32 - 8730 Beernem,
Belgium
Tel +32 (0)50 79 18 05 - Fax +32 (0)50 79 17 99
URL: <http://www.fertipro.com> - E-mail: info@fertipro.com

Annexe 7. Fiche technique de FertiCultMiniralOil :

Mineral Oil

FertiCult Mineral Oil

Light mineral oil for use in IVF, ICSI and related ART procedures

FertiCult Mineral Oil is

sterilized by filtration and aseptic filling

STERILE A

Document reference: FP09 I20 R01 A.9

Update: 29/10/2009

GENERAL INFORMATION

FertiCult Mineral Oil is pre-washed, ready to use, light mineral oil (d=0.83-0.86g/mL) for use in IVF, ICSI and related artificial reproductive techniques.

FertiCult Mineral Oil has to be pre-incubated in a CO₂ incubator for 24 hours before use (with lid open).

INTENDED USE

Culture medium overlaid with oil was first used in the early 1960's as a technique for the culture of mammalian embryos. The oil permits small volumes of medium to be used for fertilization and embryo culture.

Use of oil prevents the evaporation of media, thereby reducing the harmful effects of increased osmolality. Furthermore, the use of an oil overlay reduces changes in pH caused by loss of CO₂ from the medium when culture dishes are taken out of the incubator for embryo examination. Finally, culture of multiple embryos in small volumes of medium under oil promotes the concentration of autocrine growth factors secreted by the developing embryos, leading to enhanced rates of embryo development.

MATERIAL INCLUDED WITH THE KIT

Productcode: MINOIL50

1 x 50mL FertiCult Mineral Oil

Productcode: MINOIL100

1 x 100mL FertiCult Mineral Oil

Productcode: MINOIL500

1 x 500mL FertiCult Mineral Oil

MATERIAL NOT INCLUDED WITH THE KIT

- CO₂ Incubator
- Petri dishes
- Cell culture media
- Laminar flow
- Microscope
- Test tubes

PRODUCT SPECIFICATIONS AND QUALITY CONTROL

FertiCult Mineral Oil is manufactured according to these specifications:

- density: 0.83-0.86g/mL
- viscosity: < 30 cP at 30°C
- endotoxin: < 0.25 EU/mL

- sterility: SAL 10^{-3}
- mouse-embryo assay: $\geq 80\%$ blastocysts after 96 hours in culture
- use of pharmaceutical grade mineral (parafin) oil

A certificate of analysis is available upon request.

PRE-USE CHECKS

- do not use the product if it becomes (dis)coloured or shows any evidence of microbial contamination
- do not use the product if seal of the container is opened or defect when the product is delivered

INSTRUCTIONS FOR USE

FertiCult Mineral Oil is pre-washed so no further preparations are necessary. Simply place a bottle of FertiCult Mineral Oil in a CO₂ incubator at 5-6% CO₂ 24 hours prior to use.

FertiCult Mineral Oil can be used together with FertiCult IVF medium (FertiPro productcode: FECU020/050/100) and FertiCult G3 medium (G3020/050/100), contact FertiPro for more information about these products.

STORAGE AND CONSERVATION

Store FertiCult Mineral Oil between 15-25°C. When not in use store in original carton box to avoid prolonged exposure to light. After opening do not use the product for longer than 7 days. Do not use after expiry date. Keep away from sunlight.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

All human, organic material should be considered potentially infectious. Handle all specimens as if capable of transmitting HIV or hepatitis. Always wear protective clothing when handling specimens. Always work under strict hygienic conditions (laminar flow) to avoid contamination.

The oil may appear cloudy if removed from the incubator and allowed to stand at room temperature for extended periods of time. Such cloudiness usually disappears if the oil is re-equilibrated by replacing it in the incubator for several hours, if it does not disappear discard the product.



FertiPro N.V.
Industriepark Noord 32
8730 Beernem / Belgium
Website: www.fertipro.com
E-mail: info@fertipro.com

CE
0344

Année Universitaire : 2018/2019

Présenté et soutenu par : Milat Houssem Eddine

Azoospermie Non Obstructive : Facteurs Prédicatifs De L'injection Intra-Cytoplasmique Des Spermatozoïdes (ICSI)

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master en biologie cellulaire et moléculaire
Spécialité: physiologie Cellulaire et Physiopathologie

Introduction : La première opération réussie de récupération des spermatozoïdes en combinaison avec l'injection de sperme intracytoplasmique (ICSI) a été rapportée en 1994. L'utilisation des spermatozoïdes récupérés chirurgicalement du testicule ou épiddidyme avec l'ICSI est devenue possible pour les patients atteints d'azoospermie.

Objectif : Etudier les facteurs qui pourraient être des prédicteurs de succès de l'ICSI chez les patients atteints d'azoospermie non obstructive (Âge, taux de FSH, de LH, de testostérone, volume testiculaire, présence de varicocèle, histologie testiculaire et l'utilisation de la pentoxifylline).

Matériel et méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective menée sur 136 patients qui ont tous fait une ICSI avec des spermatozoïdes issus d'une biopsie testiculaire (TESE) pour une assistance médicale à la procréation (PMA). Les critères étudiés sont : l'âge, taux de FSH, de LH, de testostérone, volume testiculaire, présence de varicocèle, le diagnostic histologique et les facteurs des femmes des patients.

L'étude de la relation entre les facteurs prédictifs et le résultat d'ICSI est faite par une analyse statistique par SPSS.

Resultat : Les facteurs masculins n'ont aucun impact sur les résultats de l'ICSI sauf l'utilisation de la pentoxifylline et les facteurs féminins qui ont une relation significative avec les résultats d'ICSI.

Discussion – conclusion : Une fois les spermatozoïdes sont trouvés à partir d'une biopsie testiculaire, cela suffit pour faire une ICSI. Il faut juste vérifier que les spermatozoïdes sont vivants avec la pentoxifylline avant l'injection.

Mots clés :

Infertilité masculin, Azoospermie non obstructive, injection intracytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI), pentoxifylline.

