

# EXPLORATIONS EN INFERTILITÉ MASCULINE

A. DEMOULIN <sup>†</sup> (1)

**RÉSUMÉ :** Une cause masculine est impliquée dans 2/3 des problèmes d'infertilité du couple. La mise au point du partenaire masculin doit comporter une anamnèse soignée et un examen clinique très attentif. Parmi les examens supplémentaires à effectuer, on notera d'abord le spermogramme. Outre l'estimation du nombre, de la mobilité et de la morphologie des spermatozoïdes, l'examen comportera un spermocytogramme, des tests d'immunité anti-spermatozoïdes et une analyse bactériologique du sperme. La biologie du plasma séminal permettra d'apprécier l'intégrité des différents étages de la formation des spermatozoïdes et le transit des cellules germinales vers les voies excrétrices génito-urinaires. L'examen au microscope électronique des spermatozoïdes est important en cas d'asthénospermie. Les bilans hormonal et génétique revêtent aujourd'hui une importance considérable. La biopsie testiculaire avec cryopréservation de tissu testiculaire et la démonstration d'une éventuelle varicocèle peuvent aussi, dans certains cas, constituer des gestes de grande utilité. Du résultat de l'ensemble de ces investigations dépendra la stratégie thérapeutique adaptée.

Sauf en cas d'anomalies majeures, un couple qui désire une grossesse doit commencer à s'inquiéter après un an de rapports réguliers sans protection. En effet, il a été estimé, qu'à chaque cycle, une femme avait 25 % de chance de tomber enceinte. Après un an, 90 % des couples auront obtenu la grossesse souhaitée et, après deux ans, il n'en reste que 5 % qui n'ont pas réussi à assouvir leur désir de paternité. Les études épidémiologiques ont déterminé que 15 % des couples en âge de procréer étaient définitivement stériles.

Après une année de rapports réguliers, il est logique d'entreprendre une exploration des causes probables de l'infertilité du couple.

## INFERTILITÉ FÉMININE

La patiente consultera son gynécologue qui vérifiera la normalité des différents paramètres en rapport avec sa fertilité : un bilan hormonal évaluera la qualité du processus ovulatoire, une hystérosalpingographie s'assurera de la perméabilité des trompes de Fallope; un test après rapport contrôlera la normalité du spermogramme et, surtout, la qualité et la perméabilité de la glaire cervicale.

## INFERTILITÉ MASCULINE

L'examen féminin doit toujours être associé à une exploration de l'aptitude à procréer du par-

## INVESTIGATIONS OF MALE INFERTILITY

**SUMMARY :** In 2/3 of infertility problems, the male partner is, partially or entirely, responsible. His investigation starts with a careful history and is followed by a thorough physical examination. Then, comes the spermogram. In addition to an assessment of the number, motility, and morphology of spermatozooids, this examination must involve a spermocytogram, tests of anti-spermatozoid immunity, and a bacteriological analysis. The biological study of the seminal plasma is also of considerable value. Electron microscopy of sperm is valuable in asthenospermic men. A genetic and hormonal investigation is, nowadays, almost mandatory in all cases. Testicular biopsy with cryopreservation of testicular tissue and demonstration of a possible varicocele can also, in selected cases, be of great help. The overall strategy will be decided on the basis of the whole investigation.

**KEYWORDS :** *Male infertility - Spermogram - Spermocytogram - Antispermatozoid immunity - Seminal plasma - Electron microscopy of sperm - Hormonal assessment - Genetic assessment - Testicular biopsy - Testicular varicocele*

tenaire masculin du couple. En effet, si l'incapacité d'avoir un enfant trouve son étiologie chez la femme exclusivement dans 30 % des cas; dans les 70 % restants, il y a participation du partenaire dans le processus. La participation est isolée dans 30 % des cas; elle est mixte dans les autres.

La détermination de problèmes andrologiques doit inclure différentes étapes dans l'établissement du diagnostic et la mise en place d'un traitement. Après avoir réalisé une anamnèse complète, le patient sera soumis à un examen clinique soigneux des organes génitaux.

Ensuite, une biologie de base sera demandée: spermogramme, spermocytogramme, spermoculture, recherche d'immunisation contre les spermatozoïdes, biologie du plasma séminal, bilan hormonal, caryotype.

En fonction des découvertes obtenues au cours de cette première exploration, des examens complémentaires seront demandés: microscopie électronique des spermatozoïdes, biopsie testiculaire toujours accompagnée d'une congélation des spermatozoïdes découverts, échographie scrotale et des organes génito-urinaires intra-abdominaux, hormonologie additionnelle, phlébographie, déférento-vésiculographie, ...

## ANAMNÈSE ET EXAMEN CLINIQUE

Les tableaux I et II, repris à partir d'un dossier-type, font la liste des questions que doit comporter l'interrogatoire et le rappel des points importants de l'examen clinique.

(1) Université de Liège, Service de Gynécologie-Obstétrique (Pr. J.M. Foidart).

TABLEAU I. ANAMNESE

Nom:	Prénom:	
Date de Naissance:	Profession:	
Adresse:		
Téléphone:		
Coordonnées de l'épouse:		
Date du mariage:	Durée du désir de grossesse:	
Gestité – Parité extraconjugale	G	P
Cryptorchidie: O/N	gauche/droite	âge de l'opération:
Oreillon avant la puberté O/N	âge:	orchite:
Hernie inguinale G / D	Dâge de l'opération:	
Antécédents chirurgicaux:		
Age de la première émission de sperme:		
Age du premier rapport:		
Fréquence des rapports:		
Pyurie	Pyospermie	Orchite
Nycturie O/N		
Problèmes rénaux ou urinaires O/N		
Traumatismes testiculaires O/N		
Méningite ou méningo-encéphalite		
Cuti +/-	Primo-infection +/-	
Traumatisme cranien O/N	Coma O/N	
Allergie (urticatoire, eczéma, asthme, rhume des foies)		
Diabète		
Etes-vous frileux ?	Constipé ?	Transpirez-vous anormalement ?
Troubles psychologiques ou psycho-sexuels		
Tabagisme		
Alcool		
Drogues		
Chaleur		
Intoxication médicamenteuse,	par les métaux, ou des produits volatils	
Sinusite	Bronchiectasie	
Prise de médicament		
Antécédents de la fratrie		

TABLEAU II. EXAMEN CLINIQUE

Taille:	Poids:	
Examen général	G	D
Testicules		
Position		
Rotation		
Volume		
Consistance		
Epididymes		
Tête		
Corps		
Queue		
Déférénts		
Scrotum		
Varicocèle		
Verge		
Vésicules séminales		
Prostate		
Gynécomastie		

**SPERMOGRAMME**

Caractéristiques du spermogramme :

Volume : 2 à 6 ml

Aspermie: 0 ml

Hypospermie: < 2 ml

Couleur : blanche à jaunâtre

Rouge: hémospERMIE

Odeur : spermine

Nauséabonde : infection séminale

*Liquéfaction :*

pH: 7.2 à 7.8

Numération : 20 à 200 millions/ml

Azoospermie: 0

Oligospermie: < 20 millions/ml

Hyperzoospermie: > 200 millions/ml

Mobilité : 50 à 60 %

Asthénospermie: < 30 %

Tératospermie : < 86 % (Kruger)

< 60 % (David)

< 80 % (OMS)

Vitalité : > 60 % après 1 h

> 50 % après 4 h

**NÉCROSPERMIE**

Le premier examen demandé sera bien entendu l'analyse des caractéristiques du sperme (1, 2). Cet examen est subjectif et dépend très fort de l'entraînement du laborantin (3). Il est indispensable de le répéter 2 à 3 mois plus tard afin d'en vérifier la normalité. Pour réaliser cet examen, il est impératif de respecter certaines conditions. Après avoir réalisé une toilette soignée des mains et de la verge avec une solution antiseptique, idéalement, la collecte doit être réalisée par masturbation, après 2 à 4 jours d'abstinence, dans un local approprié situé à proximité du laboratoire. Le patient aura uriné avant la collecte afin d'éliminer les bactéries qui pourraient se trouver dans l'urètre. Le sperme sera collecté dans un flacon stérile préchauffé à température du corps; l'absence de toxicité du flacon sera vérifiée; il sera ensuite déposé dans le laboratoire où l'on notera l'heure d'émission, le délai d'abstinence, ainsi que les éventuelles difficultés rencontrées lors de ce prélèvement, ainsi que les épisodes de maladies, fièvre, prise de médicaments, ... durant la période qui a précédé la collecte. L'échantillon sera ensuite laissé dans le laboratoire afin de déterminer la durée nécessaire à sa liquéfaction. Celle-ci est approximativement de 30 minutes. Le pH sera mesuré (normal : 7.2 à 7.8). S'il est plus acide, il y a essentiellement prédominance de la sécrétion prostatique. S'il est alcalin, la sécrétion des vésicules séminales ou des glandes de Cowper est excessive. Ensuite, on mesurera, à la pipette Pasteur, le volume (normal de 2 à 6 ml), si celui-ci est significativement diminué, on pensera à rechercher une infection séminale.

Il est possible de réaliser les étapes d'estimation du nombre, de la mobilité et de la morphologie des spermatozoïdes au moyen d'un système automatisé d'analyse (CASA HAMILTON). Cependant, dans la majorité des labora-

toires, l'examen sera réalisé de manière manuelle, qui présente d'ailleurs une supériorité sur le comptage automatisé, surtout pour les valeurs basses. Une goutte de l'éjaculat sera déposée sur une lame de comptage : cellule de Makkler, cellule de Thomas ou de Neubauer (ces deux dernières étant surtout appréciées lors de numération faible). Une numération normale sera > 20 millions de spermatozoïdes par millilitre. Si l'on constate une absence de spermatozoïde, on procédera à une centrifugation du liquide séminal avant la réalisation du comptage. Au cours des dernières décennies, une diminution de la concentration en spermatozoïdes a été observée chez le sujet normal (4). Ensuite la mobilité est estimée et appréciée. Les spermatozoïdes auront soit une mobilité normale et progressive (50 à 60 % dans les quatre premières heures, 90 à 40 % à la cinquième heure), soit une mobilité réduite (asthénospermie), ou ils seront immobiles. Enfin, la vitalité est mesurée après coloration à la nigrosine.

Eventuellement, on recherchera l'absence membranaire de la protéine P34h qui paraît être un bon marqueur de l'infertilité (5).

Cette première batterie d'examen est ensuite complétée par la réalisation d'un spermocytogramme. Une goutte de sperme est déposée sur une lame et étalée pour réaliser un frottis qui est ensuite coloré selon la méthode de Giemsa ou de Schorr. Plusieurs types de classifications ont été proposés (3); la dernière est actuellement la plus utilisée, car elle est la seule à posséder un pouvoir prédictif sur la fertilité du patient. Il est admis que lorsque 14 % des spermatozoïdes présentent une structure normale, la fertilité du patient est probable. D'autres types de cellules peuvent être mises en évidence: leucocytes, cellules de la lignée germinale. Une réaction à la peroxydase permettra d'estimer l'importance de la leucospermie. Si la culture est négative, l'examen sera recommencé après un traitement préalable par un anti-inflammatoire pour dégager les conduits excréteurs.

L'auto-immunité anti-spermatozoïdes s'évalue grâce au MAR-test, technique d'agglutination consistant à mélanger des billes de latex conjuguées à des anti IgG humaines avec des spermatozoïdes frais non traités. La formation des particules agglutinées démontre la présence d'anticorps fixés sur les spermatozoïdes.

L'examen sera alors complété par une analyse bactériologique du sperme. La recherche de germes aérobies et anaérobies pathogènes sera effectuée, ainsi qu'une culture en vue de la recherche de mycoplasmes et une détection du

TABLEAU III. PRÉSENCE DE GERMES DANS LE SPERME

Germes commensaux : staphylococcus epidermidis, enterococcus, corynebacterium
Chlamydia trachomatis, candida albicans, trichomonas, klebsiella, proteus, pseudomonas
Germes pathogènes : staphylococcus aureus, escherichia coli, colibacille, enterobacteriaceae, enterococcus, streptococcus du groupe B

Chlamydia trachomatis par PCR; si cela s'avère nécessaire, un antibiogramme sera réalisé. Il faut savoir que les voies génitales, tant masculines que féminines, contiennent une microflore banale. Il est important de noter qu'une infection s'accompagne généralement d'une chute significative de la mobilité des spermatozoïdes. L'examen pourra judicieusement être complété par une analyse bactériologique urinaire avant et après massage prostatique. Le tableau III récapitule les différents germes le plus fréquemment détectés.

Il faut remarquer l'absence de corrélation entre la présence de germes dans le sperme et les résultats obtenus en fécondation *in vitro*. Ceci est dû au fait de la préparation du sperme et principalement au passage sur gradient de Percoll (6, 7).

#### TESTS DE PÉNÉTRATION CROISÉS

Si la réalisation du test postcoïtal (TPC, test Sims-Hunner) est pathologique (suite à une infection ou un problème immunologique), on réalisera *in vitro* des tests de pénétration croisés entre le sperme du patient et une glaire cervicale témoin ou entre un sperme témoin et la glaire de la patiente.

#### BIOLOGIE DU PLASMA SÉMINAL

La présence de différents marqueurs sera recherchée et leur concentration estimée (8), afin de déterminer l'intégrité des différents étages de la formation des spermatozoïdes et le transit des cellules germinales vers les voies excrétrices du système génito-urinaire. On procédera au dosage des phosphatases acides qui reflètent les capacités de synthèse des protéines prostatiques ou du zinc, témoin de la captation glandulaire, ou du citrate qui témoigne de la fonction mitochondriale, du fructose pour étudier la qualité des vésicules séminales, et de la carnitine ou de l'alpha 1-4 glucosidase pour vérifier l'intégrité de l'épididyme. L'élastase séminale, métalloprotéase issue des granules des leucocytes, permettra de conclure à la présence d'une inflammation.

## BILAN HORMONAL

Le taux sérique des hormones hypophysaires gonadotropes, ainsi que celui des hormones stéroïdes testiculaires seront mesurés. Le taux des inhibines A et B complètera l'étude. Le dosage primordial est celui de la FSH, car elle est le témoin de la spermatogenèse. Si les taux de gonadotrophines sont limites, on procèdera à la réalisation d'un test au LHRH.

## LE BILAN GÉNÉTIQUE

Dans un premier temps, on demandera la réalisation d'un caryotype sur leucocytes périphériques. On trouve 5.1 % d'anomalies chez les hommes infertiles, alors que chez les sujets normaux, la fréquence est de 0.39 %. Les anomalies portent surtout sur les chromosomes sexuels (27 fois plus fréquents chez les azoospermes) et sur les autosomes (5 fois plus fréquents chez oligospermes). Les anomalies les plus généralement observées sont les anomalies de nombre. Les translocations robertsoniennes sont découvertes dans 1.6 % des caryotypes des oligospermiques (normal: 0.08 %).

Des études cytogénétiques permettent aussi de mesurer des microdélétions au niveau du chromosome Y (9). Le dépistage des microdélétions se fait par amplification de la région spécifique du chromosome. Cet examen est positif dans 8.2 % des infertilités avec diminution du nombre de spermatozoïdes (< 2 millions/ml). Elle se localise au niveau de la région Yq11, il s'agit de AZFa, AZFb et AZFc (Azoospermia Factor). D'autres anomalies ont également pu être détectées : les gènes RBM (RNA binding motif), DAZ/SPGY (detected in azoospermia/spermatogenesis gene on the Y).

## MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE DES SPERMATOZOÏDES

Cet examen (10) se justifie en présence d'une asthénospermie importante. Outre l'observation de l'ultrastructure des spermatozoïdes (malformation de l'acrosome, trouble de la condensation chromatinienne, présence de cytoplasme résiduel), elle permet la détection d'anomalies morphologiques au niveau des bras de dynéine dans la pièce intermédiaire. Cette malformation est souvent associée au syndrome de Kartagener.

## LA BIOPSIE TESTICULAIRE

Cet examen présente actuellement un moindre intérêt depuis l'apparition des dosages hormonaux sériques. En effet, si une azoosper-

mie s'accompagne d'un taux de FSH sérique augmenté, on peut immédiatement conclure à l'existence d'une azoospermie sécrétoire. Cependant, on peut, aujourd'hui, tenter la réalisation d'une fécondation *in vitro* après injection intracytoplasmique d'un spermatozoïde ou d'un spermatide rond ou allongé, obtenu par ponction intratesticulaire. Cette ponction devra toujours être associée à une cryopréservation du tissu restant en cas d'échec et de la réalisation d'une nouvelle tentative de FIV (11, 12). Le prélèvement est réalisé chirurgicalement et porte sur un fragment d'environ 30 mm<sup>3</sup>. Celui-ci est immédiatement fixé (Bouin), inclus à la paraffine et coupé à 4 à 6 microns d'épaisseur. Après coloration, une lecture est effectuée. Celle-ci est soit simplement descriptive, ou semi-quantitative, ou encore, quantitative (3).

## EXPLORATION DE LA VARICOCÈLE

Après une mise en évidence ou une suspicion par l'examen clinique (13), différents examens pourront être envisagés afin d'étayer le diagnostic d'une varicocèle :

- La thermographie : elle peut mettre en évidence une réduction du gradient thermique abdomino-scrotal;
- Le doppler qui dépiste un reflux veineux lors d'une manœuvre de Valsalva;
- L'échographie scrotale qui permet de détecter une dilatation veineuse;
- La phlébographie rétrograde qui est positive dans quasi 100 % des cas (14);
- La scintigraphie après marquage des globules rouges par du pyrophosphate et injection de Tc-99 permettra une évaluation quantitative de l'importance de cette varicocèle (15).

## CONCLUSIONS

Impliquées dans 2/3 des problèmes d'infertilité du couple, les causes d'infertilité masculine doivent faire l'objet d'une mise au point soignée et exhaustive, au plan clinique d'abord, au plan biologique ensuite. Du résultat de ces investigations dépendra en effet l'approche thérapeutique, médicale (hormonothérapie, antibiothérapie, ...), chirurgicale (cure de varicocèle), recours à l'insémination artificielle intraconjugale (IAC) ou à des techniques plus sophistiquées de procréation médicalement assistée (fécondation *in vitro*, microinjection intracytoplasmique avec spermatozoïdes épидидymaires ou testiculaires).

## RÉFÉRENCES

1. WHO laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. Cambridge University Press, 1987
2. Ombelet W, Basmans E, Janssen M, et al.— Semen parameters in a fertile versus subfertile population: a need for change in the interpretation of semen testing. *Hum Reprod*, 1997, **12**, 987-993
3. Marmod D.— La biopsie testiculaire. in *Andrologie I*. Ed. G. Arvis Maloine, 1987.
4. De Mouzon J.— Decline in sperm concentrations. *IVF news*, 1999, **10**, 33
5. Debry JM.— Les andrologues en marge de l'ICSI. *L'Agenda de Gynécologie*, 2001, **23**, 1-03
6. Mbuyi AI.— *L'infection séminale: son impact sur la fertilité masculine*. Mémoire de Spécialisation en Gynécologie-Obstétrique; 1994
7. Bussen S, Zimmermann M, Scheyer M, Steck T.— Relationship of bacteriological characteristics to semen indices and its influence on fertilization and on pregnancy rates after IVF. *Acta Obst Gyn Scand*, 1997, **10**, 964-968
8. Wolf JO.— Marqueurs séminaux et plasmatiques. *Conceptions ISFR*, 2000, **11**, 12-14
9. van Steirteghem A, Liebars I, Camus M.— Infertilités masculines d'origine génétique. *Rev Prat*, 1999, **49**, 1309-1313
10. Raick-Mignolet D, Baeckeland E.— Predictive value of electron microscopy of sperm for IVF. *Mol Androl*, 1992, **4**, 71-80
11. Crabbe E, Verheyen G, Tournaye H, van Steirteghem A.— Freezing of testicular tissue as a minced suspension preserves sperm quality better than whole-biopsy freezing when glycerol is used as cryoprotectant. *Int J Androl*, 1999, **22**, 43-48
12. Gianaroli L, Magli MC, Selman HA, et al.— Diagnostic testicular biopsy and cryopreservation of testicular tissue as an alternative to repeated surgical openings in the treatment of azoospermic men. *Hum Reprod*, 1999, **14**, 1034-1038
13. Demoulin A.— *La varicocèle*. Focus in reproduction, 1998
14. Comhaire F, Vermeulen A.— Plasma testosterone in patients with varicocele and sexual inadequacy. *J Clin Endocrinol*, 1975, **40**, 824-829
15. Zukerman Z, Neiss DB, Lupa S, et al.— A new method for quantitative analysis of testicular varicocele by scintigraphy. Abstract International Symposium on male sterility for mobility disorders: etiological factor and treatment. Abstract P2, January 30 – 31 1998.

Les demandes de tirés à part sont à adresser au Pr. J.M. Foidart, Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital de la Citadelle, Boulevard du 12<sup>ème</sup> de Ligne, 4000 Liège.