



Université Abderahmane Mira de Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Microbiologie

Réf :

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme de Master

En microbiologie

Option : Microbiologie Moléculaire et Médicale

Thème

Impact des souches d'*E. coli* résistantes aux antibiotiques sur les paramètres spermatiques

Présenté par : *JOUINI Tareket HADJ BRAHIM Omar*

Date de soutenance : 19 juin 2017

Devant le jury composé de :

Mme SOUAGUI

MAA

Présidente

Mr TOUATI A.

Professeur

Examinatrice

Mlle MEZHOUD H.

MAA

Encadreur

2016/2017

Dédicace

*À la plus belle créature que Dieu a créée sur terre,
À cette source de tendresse, de patience et de générosité,*

À ma mère !

*À qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et
de privations pour m'aider à avancer dans la vie*

À mon père !

*Merci mon père pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent
venu de toi.*

*Mes frères et sœurs : Fatima zohra, Ilyes, Mohamed, Islam, Saleh, Anes
et Aicha qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de
courage et de générosité.*

À mes beaux parents et à toute ma famille

*À tous mes amis et collègues : Tarek, Alaa, Hamid, Oussama, Zino, Smail,
Abderrahman, Youness, Mustapha et Hamada,*

À tous les étudiants de la promotion 2016/2017

Option : microbiologie moléculaire et médicale

*Mes professeurs de département de microbiologie qui doivent voir dans ce
travail la fierté d'un savoir bien acquis.*

A tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer

OMAR HB

Dédicace

*À la plus belle créature que Dieu a créée sur terre,
À cette source de tendresse, de patience et de générosité,*

À ma mère !

*À qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et
de privations pour m'aider à avancer dans la vie*

À mon père !

*Merci mon père pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent
venu de toi.*

*Mes frères Bilel, Imad et ma sœur qui n'ont cessé d'être pour moi des
exemples de persévérance, de courage et de générosité.*

À mes profs, Mr Chawki Toualbia et Mr Farid Zerkak

À toute ma famille

*À tous mes amis et collègues, Omar, Alla.B, Oussama, Hamid, Hama, Reyad,
Alaa, Akrem, Hicham, Naceur, Aissa, Naim, Ali, Mouh, Hakim, Sofian,
Bikham,*

À tous les étudiants de la promotion 2016/2017

Option : microbiologie moléculaire et médicale

*Mes professeurs de département de microbiologie qui doivent voir dans ce
travail la fierté d'un savoir bien acquis.*

A tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer

J. TAREK

Remerciements

Toute la gratitude et les remerciements à Dieu Allah, notre créateur qui nous a donné la force et le courage pour effectuer ce travail.

Nous adressons tout d'abord nos remerciements les plus sincères, au Mlle MEZHOUD.H, qui a très volontier accepté d'être la promotrice de ce projet. Ainsi que son expérience, a joué un rôle important dans la conception de ce travail.

Nous remercions les membres de jury ayant accepté d'examiner et de juger notre travail.

Nos remerciements s'adressent également à Mme Rahmani et Inouri les techniciennes du laboratoire du Bloc 09 et 12 pour leurs aides.

Nous tenons également à remercier vivement Pr Iguerouada et Dr Moualek qui nous ont accueillis dans leurs laboratoires sans oublier toute l'équipe du laboratoire Dr Moualek, Mr Kiki, Mr Bendriss, Mr Houcin, Lamia, Silya...

Ainsi qu'aux personnes qui ont contribués de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction.....	1
PARTIE 1 – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	3
II .1.INFECTION BACTERIENNE DU TRACTUS UROGENITAL MASCULIN.....	3
II.1.1.Urétrite	3
II.1.2.Prostatite.....	3
II.1.3.Epididymite	4
II.1.4.Orchite.....	4
II.2. IMPACTE DE LA CONTAMINATION BACTERIENNE SUR LA FERTILITE MASCULINE.....	4
II.2.1. Impact direct.....	4
II.2.2. Impact indirect.....	7
II.2.2.1. Role du stress oxydatif	7
II.2.2.2. Apoptose/nécrose	8
II.2.2.3. Role des réactions immunitaire/auto-immunitaire.....	8
PARTIE 2 – MATERIEL ET METHODES	9
III.1.ETUDE RETROSPECTIVE ET RECUEIL DE DONNEES.....	9
III.2.INFECTION ARTIFICIEL DE LA SEMENCE.....	9

III.2.1.Souches bactériennes	9
III.2.2.Préparation des échantillons	10
III.2.3.Analyse informatique de la mobilité et de la cinétique des spermatozoides	11
PARTIE 3 – RESULTATS.....	12
IV.1.DONNEES DE L'ETUDE RETROSPECTIVE	12
IV.1.1. Données épidémiologiques	12
IV.1.2.Résultats des paramètres spermatiques.....	12
IV.1.2.1.Résultats macroscopiques.....	12
IV.1.2.2.Résultats microscopiques	14
IV.1.2.2.1. Nombre de spermatozoides par mL	14
IV.1.2.2.2. Mobilité.....	14
IV.1.2.2.3. Cytologie	16
IV.1.2.3.Résultats microbiologique.....	17
IV.2.IMPACTE DE BACTERIES RESISTANTES AUX ANTIBIOTIQUES SUR LES PARAMETRES SPERMATIQUE	20
PARTIE 4 – DISCUSSION	23
PARTIE 5 – CONCLUSION	25

Référence bibliographique

Glossaire

Liste des abréviations

AR : réaction d'acrosome.

ATP : adénosine triphosphate.

CASA : Computer assisted sperm analysis.

DRO : Dérivés réactifs d'oxygène.

E. coli : *Escherichia coli*.

GB : Globule blanc.

GR : Globule rouge.

IUG : Infection urogénitale.

LPS : lipopolysaccharide.

PS : Phosphatidylsérine.

ROS : Reactif oxygene species.

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

SIF :Facteur d'immobilisation du sperm.

SPA : Sperm class analyser.

Spz : spermatozoïde.

VAP : Velocity average pathway.

VCL : Velocity curvilinear path.

VSL : velocity straight line.

Liste des tableaux

Tableaux

Page

Tableau I: Tableau récapitulatif des mécanismes de résistance et de traits de virulence des différentes souches :	10
Tableau II : Tableau récapitulatif de la composition des échantillons du sperme étudiés : .	10
Tableau III : Résultats des spermocultures et des antibiogrammes pour 30 patients..	18

Liste des figures

Figures	Page
Figure 1 : Répartition de la population par âge.	12
Figure 2 : Répartition de la population selon le volume du sperme et l'écart type de pH. .	13
Figure 3 : répartition de l'équifation et la présence d'agglutinat par nombre des patients..	13
Figure 4 : Graphe en boîte de la concentration spermatique par millilitre.	14
Figure 5 : Représentation graphique des paramètres de mobilité spermatique.	15
Figure 6 : Répartition de GR par échantillon.....	16
Figure 7 : répartition des cellules rondes.....	16
Figure 8 : Répartition des résultats de la spermoculture par espèce.....	17
Figure 9 : répartition des résultats du spermogramme.....	19
Figure 10 : Paramètres spermatiques en présence des différentes souches <i>E. coli</i> en absence de D-mannose.....	21
Figure 11 : Paramètres spermatiques en présence des différentes souches <i>E. coli</i> en présence de D-mannose.	22

Introduction

Les infections des voies urogénitales sont un facteur étiologique important dans la stérilité masculine, représentant 5 à 12% des consultations sur l'infertilité (Schulz, Sánchez et al 2010). Bien que de nombreuses études aient examiné l'impact des infections des voies génitales sur la fertilité masculine, l'effet de la bactériospermie sur la qualité du sperme est encore controversé (Köhn et al., 1998).

Les inflammations des voies urogénitales et les infections sont censées être responsables de jusqu'à 15% des cas d'infertilité masculine. Les inflammations et les infections locales comprennent l'urétrite chronique, l'orchite, l'épididymite, la prostatite, la vésiculite et l'obstruction du tractus séminal (Fraczek & Kurpisz, 2015). Cependant, ceux-ci se produisent rarement dans une seule glande, ce qui complique leur diagnostic et le traitement approprié. Le processus inflammatoire et son effet néfaste sur le sperme dépend du type de facteur initiateur, du type et de l'activation des leucocytes infiltrants, de la durée de contact des spermatozoïdes avec des médiateurs inflammatoires et de la prédisposition génétique à la réponse inflammatoire. La majorité des troubles inflammatoires dans le tractus génital masculin sont d'origine infectieuse (Fraczek & Kurpisz, 2015).

Les bactéries, les virus et les champignons responsables de l'infection du sperme peuvent provenir des voies urinaires ou être transmissibles sexuellement; leurs rôles dans l'infertilité masculine a été discuté ces dernières années (Fraczek & Kurpisz, 2015). La plupart des données concernent les agents causaux bien connus d'infections du tractus urogénital, telles que *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma Hominis* et *Chlamydia trachomatis*. Cependant, certains auteurs ont suggéré que d'autres bactéries, responsables de la colonisation et de la contamination du tractus urogénital masculin, pourraient également contribuer à la diminution de la qualité du sperme (Fraczek & Kurpisz, 2015).

Le traitement antibiotique chez les patients atteints d'infections du tractus séminal ne doit pas être effectué principalement pour préserver les fonctions du sperme, mais aussi pour éviter l'infection de la partenaire féminine et les troubles cliniquement pertinents des testicules, des épидидymes et des glandes accessoires (Köhn et al., 1998). L'utilisation adéquate des antibiotiques permet d'améliorer les paramètres du sperme avec une réduction appropriée du nombre des leucocytes dans le liquide séminal et de la production des espèces

Introduction

réactives d'oxygènes(Clinic, Ave, Sinai, Angeles, & Urological, 2008).Mais aussi une amélioration de la réaction d'acrosome(Köhn et al., 1998).

Le phénomène de résistance aux antibiotiques est en émergence, le niveau de résistance des souches de l'espèce *E. coli* s'est considérablement modifié avec l'apparition dans les années 2000 de souches productrices de bêta-lactamases à spectre élargi surtout de type CTX-M conférant une résistances aux céphalosporines de troisième génération(Denamur & Picard, 2012).C'est dans ce contexte que s'inscrit notre projet qui se focalise sur l'utilisation de la cellule spermatique comme sujet d'étude de l'impact de souches bactériennes sensibles aussi que résistantes sur les paramètres spermatiques.

Pour ce faire, nous avons infecté*in vitro* le sperme humain par des souches sensibles et résistantes essentiellement aux bêta-lactamine et ensuite comparer les paramètres de mobilité spermatique à l'aide d'un outil informatique, sperme classe analyser SCA.

Cette étude est donc entreprise d'une part dans l'objectif de déterminer les espèces bactériennes incriminées dans les infections génitales masculines et d'autre part d'étudier l'impact des souches d'*E. coli* résistantes aux antidotiques et leurs profils de virulence sur les paramètres spermatiques.

I. Synthèse bibliographique

I.1 Infections bactériennes du tractus uro-génital masculin

I.1.1 Urétrite

L'urétrite est définie comme une inflammation de l'urètre, le canal conduisant l'urine depuis la vessie jusqu'à l'extérieur de l'organisme, et des glandes péri-urétrales. Elle est le plus souvent d'origine bactérienne et probablement sexuellement transmissible (Chanal, 2014). La décharge urétrale et les troubles de la vessie sont les symptômes prédominants de l'urétrite aiguë.

La symptomatologie est habituellement aiguë : après une incubation de 3 à 10 jours, il apparaît un écoulement urétral, un signe le plus fréquent, classiquement important, épais et purulent. Les signes généraux peuvent être marqués (fièvre si complication). Des troubles mictionnels sont fréquents : brûlures mictionnelles, brûlures et douleurs urétrales, pollakiurie, dysurie, impériosités mictionnelles (Ouattara et al. 2013).

Les urétrites sont le plus souvent causées par *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum* et *Mycoplasma genitalium* (Chanal, 2014). Dans certains cas, néanmoins, aucun germe pathogène n'y est responsable mais plutôt des germes banaux tels que les *Entérobactéries*, les *Streptococcus*, les *Staphylococcus*, les *Entérocoques*etc. (Kälin et al. 2009).

I.1.2 Prostatite

La prostatite est une inflammation du parenchyme de la glande prostatique, le plus souvent d'origine microbienne. La contamination bactérienne de la glande prostatique peut résulter d'une contamination urétrale, le plus souvent, ou d'une contamination par voie hématogène beaucoup plus rarement. Les bactéries à Gram négatif sont retrouvées dans 95 % des cas, largement dominées par *Escherichia coli* (80% des cas). Quant aux bactéries à Gram positif, elles représentent uniquement 5 % des infections bactériennes, essentiellement représentées par staphylocoques, streptocoques et entérocoques (Navratil, 1999).

La recherche épidémiologique au cours de la dernière décennie a indiqué que la «prostatite» était l'un des principaux problèmes de santé médicale en urologie. Ceci représente le diagnostic urologique le plus courant chez les hommes de moins de 50 ans (Weidner, Krause, & Ludwig, 1999).

I. Synthèse bibliographique

I.1.3 Épididymite

L'épididymite désigne l'inflammation de l'épididyme. Elle touche surtout l'adulte jeune avec un pic de fréquence entre 20 et 40 ans. Elle est bilatérale dans près de 10 % des cas. Le plus souvent, elle est secondaire à une infection et la voie habituelle de dissémination est rétrograde différentielle. De la puberté à 35 ans, l'épididymite est fréquemment sexuellement transmissible. Les germes en cause sont essentiellement *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae*. Avant la puberté et après 35 ans, l'épididymite entre dans le cadre habituel des infections urogénitales (IUG) dont les entérobactéries sont souvent responsables (Delavierre, 2009).

I.1.4 Orchite

L'orchite désigne l'inflammation du testicule. Le plus souvent, elle est également secondaire à une infection. La voie de dissémination est soit hématogène, notamment virale (l'exemple le plus typique est l'orchite ourlienne), soit directe au contact d'une épididymite, il s'agit alors d'une orchépididymite vraie (Delavierre, 2009).

I.2. Impacte de la contamination bactérienne sur la fertilité masculine

Les infections du tractus uro-génital masculin représentent jusqu'à 15% des cas de stérilité masculine (Moretti et al., 2009). Les processus infectieux uro-génital causés par certaines bactéries peuvent nuire à la fertilité par différents mécanismes, y compris la détérioration de la spermatogenèse, l'altération de la fonction du sperme et l'obstruction du tractus séminal (Keck et al, 1998). Les données cliniques et expérimentales suggèrent que la bactériospermie et la leucocytospermie peuvent inhiber la fertilité masculine en affectant les caractéristiques du sperme directement ou indirectement en agissant sur les systèmes de régulation (Fraczek & Kurpisz, 2015).

I.2.1. Impact direct

Les processus infectieux peuvent entraver la fertilité par différents mécanismes, y compris la détérioration de la spermatogenèse, l'altération de la fonction du sperme et l'obstruction du tractus séminal (Keck et al., 1998). Les micro-organismes peuvent affecter la

I. Synthèse bibliographique

fonction reproductrice masculine directement, en provoquant l'agglutination du sperme mobile, réduisant ainsi la capacité de réaction de l'acrosome et provoquant des altérations de la morphologie cellulaire (Moretti et al., 2009).

Il existe de nombreuses études démontrant que l'invasion bactérienne pourrait contribuer à la détérioration de la qualité du sperme visible dans l'analyse systématique du sperme, en particulier chez les hommes infertiles. L'adhésion étroite entre les bactéries et les gamètes mâles a été observée pour *E. coli*, *C. trachomatis*, *T. mycoplasma*, et *U. urealyticum* (Fraczek & Kurpisz, 2015). Dans une étude morphologique *in vitro*, l'adhésion de *Staphylococcus* (*S.*) *hémolytiques* et *Bacteroides ureolyticus* ont également été assistée. Particulièrement les souches d'*E. coli*, elles sont connues pour leur capacité à immobiliser et à endommager la morphologie des spermatozoïdes par contact direct, médié par des organites de fixation telles que les pilis et les fimbriae sensible au mannose, néanmoins, une forte incidence de souches d'*E. coli* productrices de P-fimbriae a été rapportée dans la prostatite aiguë (Fraczek & Kurpisz, 2015).

Les effets néfastes de nombreux agents pathogènes microbiens sur les spermatozoïdes résultent non seulement de l'adhérence étroite des cellules en interaction, mais aussi de l'expression d'autres facteurs de virulence, tels que les lipopolysaccharides (LPS), le facteur nécrosant cytotoxique, les α et β -hémolysines, et de la libération de facteurs spermatotoxiques solubles tels que le facteur d'immobilisation du sperme (SIF). Par exemple, les hémolysines des souches d'*E. coli* pourraient être impliquées dans le mécanisme moléculaire qui modifie l'intégrité de la membrane. À son tour, le SIF peut inhiber la motilité et la viabilité du spermatozoïde en réduisant l'activité de l'ATPase mitochondriale (Fraczek & Kurpisz, 2015). Cependant, une perte de motilité de spermatozoïde associée à l'intégrité du potentiel de la membrane mitochondriale du sperme au cours d'une infection expérimentale du sperme *in vitro* a également été signalée en présence de bactéries qui ne produisent pas de SIF, comme le pathogène connu *C. Trachomatis* et le *S. haemolyticus* conditionnellement pathogène et *B. ureolyticus* (Fraczek & Kurpisz, 2015).

Il existe une controverse constante concernant le rôle biologique des leucocytes présentés dans le sperme. Certains auteurs ont indiqué un manque de lien entre la leucocytospermie et la diminution de la qualité du sperme, cependant, la grande majorité des rapports cliniques et expérimentaux *in vitro* ont montré une association directe entre la

I. Synthèse bibliographique

leucocytospermie et la détérioration des paramètres du sperme, en termes du nombre total de spermatozoïdes, de motilité, de la morphologie et la viabilité du sperme. D'autre part, les altérations observées des paramètres de sperme standard accompagnant la leucocytospermie n'ont pas toujours été associées à une diminution de la capacité fertilisante du sperme, en particulier dans les procédures de conception assistée. Cependant, la diminution de la fonction du sperme reflétée dans le test de la pénétration du sperme « sperm penetration assay » (SPA), signifie le dosage de pénétration des spermatozoïdes, était visible lorsque des leucocytes étaient utilisés avec des bactéries (Fraczek & Kurpisz, 2015).

Près de 90% des leucocytes présentent dans le sperme pendant l'infection par le sperme bactérien sont des cellules phagocytaires telles que les granulocytes polymorphonucléaires (PMN) et les macrophages. À ce jour, on sait peu de choses sur les associations directes entre la présence de macrophages dans le sperme et l'infertilité masculine mais, certains auteurs ont suggéré que les macrophages activés sont fréquemment observés chez les hommes stériles non-leucocytospermiques et qu'ils peuvent être associés à des paramètres de spermatozoïdes altérés (Fraczek & Kurpisz, 2015). L'adhésion étroite des types de leucocytes, des neutrophiles et des macrophages à la surface du sperme entraîne un processus phagocytaire. Des études ont révélé que l'immobilisation des spermatozoïdes humains par les leucocytes activés peut être médiée par trois mécanismes différents: par fixation directe entre les spermatozoïdes et les leucocytes, par des processus leucocytaires au stade précoce de la phagocytose du sperme et par absorption des spermatozoïdes par la phagocytose qui s'accompagne de la formation d'espèces réactives d'oxygène et d'azote et de protéases (Fraczek & Kurpisz, 2015).

Dans l'infection bactérienne du sperme, l'induction de toutes les réactions inflammatoires dans le tractus séminal par l'activation des neutrophiles et des macrophages peut indirectement exercer un effet néfaste sur la fertilité masculine.

Les effets inhibiteurs d'*E. coli* sur la motilité du spermatozoïde ont été démontrés précédemment et ont été expliqués par des agglutination des spermatozoïdes, la liaison des bactéries aux spermatozoïdes ou la production d'un facteur d'immobilisation du sperme par *E. coli* (Köhn et al., 1998). En effet, le facteur d'agglutination du sperme isolé d'*E. coli* était capable de provoquer l'agglutination du sperme *in vitro* et la stérilité *in vivo* (Kaur et al., 2015). *Escherichia coli* réduit la motilité du sperme grâce à l'adhésion et à l'agglutination du sperme, provoque des changements morphologiques au niveau de la pièce intermédiaire, de la

I. Synthèse bibliographique

membrane plasmatique et de l'acrosome, altère la fonction du sperme et augmente la translocation de phosphatidylsérine (PS)(Schulz, Sánchez, Soto, Risopatrón, & Villegas, 2010).

L'effet des souches d'*E. coli* sur la réaction de l'acrosome pourrait être expliqué par des interactions spécifiques ou non spécifiques entre les bactéries et les spermatozoïdes. Puisque l'ionophore de calcium A23187 est un stimulateur assez peu spécifique de la réaction d'acrosome, une réaction d'acrosome inductible (Δ AR) réduit peut simplement indiquer une perte générale de qualité du sperme par *E. coli*. Cette souche est également connue pour se lier aux résidus des sucres qui se retrouvent à la surface des spermatozoïdes (mannose, galactose). Ces résidus sont également impliqués dans les interactions sperme-œuf (Köhn et al., 1998).

I.2.2. Impact indirect

I.2.2.1. Rôle du stress oxydatif

Les espèces réactives d'oxygène (ROS ou DRO) sont des produits physiologiques du métabolisme cellulaires qui peuvent devenir nuisibles pour de nombreuses cellules dont les spermatozoïdes une fois sa concentration est importante (Methorst, Huyghe, & Ros, 2014).

Le rôle des espèces réactives d'oxygène (ROS) dans la biologie des spermatozoïdes est hors doute. À des niveaux faibles, les ROS jouent un rôle physiologiquement important dans l'hyper activation du sperme, la capacitation et la réaction d'acrosome. À des niveaux plus élevés, ils provoquent un stress oxydatif qui limite le potentiel de fertilisation (Fraczek & Kurpisz, 2015).

Il est bien documenté que les bactéries elles-mêmes stimulent l'hyperproduction de ROS ce qui induire le stress oxydatif responsables de la destruction des membranes de spermatozoïdes, entraînant une Sous-fécondité exprimée en réduction des ovocytes pénétrés (Fraczek & Kurpisz, 2015).

I. Synthèse bibliographique

I.2.2.2. Apoptose / nécrose

L'apoptose est un processus naturel qui régule le nombre de spermatozoïdes à travers les étapes de la spermatogenèse, c'est l'un des principaux mécanismes par lesquels les spermatozoïdes anormaux ou morts sont éliminés. Cependant, l'induction d'un processus apoptotique dans le sperme humain éjaculé est encore controversée. Plusieurs auteurs ont suggéré l'implication de l'apoptose des spermatozoïdes dans la fertilité masculine altérée avec des conséquences pour réduire le potentiel de fertilisation des spermatozoïdes. Il existe de fortes hypothèses disant que le contact direct des bactéries et de leurs toxines avec des spermatozoïdes est un signal initial pour la mort des spermatozoïdes par le processus apoptotique. Ceci est mis en évidence par des études expérimentales dans lesquels différents types de souches bactériennes ont directement augmenté les caractéristiques apoptotiques dans les spermatozoïdes humains éjaculés. L'effet pro-apoptotique des bactéries sur les spermatozoïdes peut être la conséquence d'endotoxines bactériennes, tels que les LPS, les porines et les peptidoglycanes (Fraczek & Kurpisz, 2015).

I.2.2.3. Rôle des réactions immunitaires / auto-immunitaires

Une interaction entre les systèmes immunitaire et reproductif est impliquée dans le mécanisme des dommages des spermatozoïdes, conséquence d'une inflammation ou d'une infection locale. La participation des facteurs immunitaires, y compris les cytokines, les chimiokines et les facteurs de croissance, doit également être prise en compte. (Fraczek & Kurpisz, 2015).

La principale source de facteurs immunitaires dans le tractus reproducteur masculin est les testicules, où ils sont impliqués dans la régulation de la spermatogenèse et le maintien de l'immunosuppresseur privilégié des gonades. La production locale de cytokines dans les glandes sexuelles secondaires: la prostate, glandes de Cowper et les vésicules séminales, indépendamment de la spermatogenèse, a également été postulée. Les cytokines produites et libérées en grande quantité par des leucocytes infiltrés (comme les macrophages, les lymphocytes, les monocytes et les cellules dendritiques) soutiennent les mécanismes de défense de l'hôte dans les cas d'infection locale, mais participent également à diverses réactions physiopathologiques comme l'altération des spermatozoïdes (Fraczek & Kurpisz, 2015).

II. Matériel et méthodes

L'impact de l'infection bactérienne sur la fertilité masculine est évident, néanmoins, et à ce jour, aucune étude n'a démontré l'effet que pourrait avoir les bactéries résistantes aux antibiotiques sur les paramètres spermatiques humains. Cette étude est donc entreprise d'une part dans l'objectif de déterminer les espèces bactériennes incriminées dans les infections génitales masculines et d'autre part d'étudier l'impact des souches d'*E. coli* résistantes aux antibiotiques sur les paramètres spermatiques. Pour ce faire, nous avons réalisé en premier lieu une étude rétrospective et en deuxième lieu, nous avons infecté artificiellement une semence humaine par des souches d'*E. coli* résistantes aux antibiotiques.

II. 1. Etude rétrospective et recueil de données

La première partie de notre travail est une étude rétrospective réalisée sur une période de deux ans allant du mars 2015 au mars 2017 au niveau du laboratoire d'analyses médicales de Dr. Moualek de la wilaya de Bejaia. Cette étude a inclus les patients du sexe masculin consultants pour un problème d'infertilité lié à une infection bactérienne. Pour chaque patient consultant, les données suivantes sont recueillies :

- Age du patient,
- Couleur du sperme,
- Volume du sperme,
- Viscosité, léquifaction et la motilité,
- Nombre des spermatozoïdes,
- La présence de certaines cellules (GB, GR, cellules rondes),
- Les anomalies qui touchent les spermatozoïdes (la tête ou bien le flagelle),
- Certains paramètres spermatiques de la mobilité,
- Les germes isolés ainsi que le résultat de l'antibiogramme réalisé.

II.2. Infection artificiel de la semence

II.2.1 Souches bactériennes

Les souches d'*E. coli* S02, S04, MB337, *E. coli* NDM et la souche *E. coli* KPC résistantes aux antibiotiques ainsi que la souche de référence *E. coli* ATCC 25922 sensible à tous les antibiotiques ont été utilisées. Les mécanismes de résistance ainsi que leurs traits de virulence sont récapitulés dans le tableau ci-dessous. Pour chaque souche une suspension bactérienne de 10^8 UFC/mL est préparée dans de l'eau physiologique stérile ou dans une solution stérile de D-mannose à 4%.

II. Matériel et méthodes

Tableau I: tableau récapitulatif des mécanismes de résistance et de traits de virulence des différentes souches d'*E. coli* :

Souche	Mécanisme de résistance aux antibiotiques	Nombre de gène de virulence (groupe phylogénique)
S02	CTX-M-1	5 (A)
S04	CTX-M-1	19 (B1)
MB337	CTX-M-15	17(D)
NDM	NDM	ND
KPC	KPC	ND
ATCC 25922	Sensible	32 (B2)

Légende : (A) et (A1) : commensaux, (B2) : *E. coli* pathogène extra-intestinale (ExPEC), (D) : Intermédiaire entre commensalité et infectiosité, (ND) : non déterminée.

II.2.2.Préparation des échantillons

Deux séries de sept tubes éppendorf sont aliquotés par 100 µl de la semence humain à (206 millions) spermatozoïdes/ml. Par la suite, pour une série, 100 µl de chacune des suspensions bactériennes préparées dans l'eau physiologique sont ajoutées pour chaque tube. Quant à la deuxième série, c'est la suspension bactérienne préparée en présence de D-mannose qui est ajoutée. Le septième tube de chacune des deux séries est considéré comme témoin (sans bactéries). La composition, la concentration spermatique et bactérienne de chaque échantillon sont données par le tableau ci-dessous.

Tableau II :Tableau récapitulatif de la composition des échantillons du sperme étudiés :

Echantillons	[sperme] spz/ml	Souche bactérienne	[bactérienne] UFC/ml
A	$1.03 \cdot 10^8$	Sans bactérie	0
B	$1.03 \cdot 10^8$	<i>E.coli ATCC</i>	$0.5 \cdot 10^8$
C	$1.03 \cdot 10^8$	<i>S 02</i>	$0.5 \cdot 10^8$
D	$1.03 \cdot 10^8$	<i>S 04</i>	$0.5 \cdot 10^8$
E	$1.03 \cdot 10^8$	<i>MB 337</i>	$0.5 \cdot 10^8$
F	$1.03 \cdot 10^8$	<i>E.coli NDM</i>	$0.5 \cdot 10^8$
G	$1.03 \cdot 10^8$	<i>E. coli KPC</i>	$0.5 \cdot 10^8$

II. Matériel et méthodes

II.2.3. Analyse informatique de la mobilité et de la cinétique des spermatozoïdes :

L'analyse de la cinétique des spermatozoïdes en présence des différentes souches bactériennes est effectuée par l'analyseur informatique ou le système CASA (Computer Assisted Sperm Analysis), dont quatre répétitions ont été réalisées, pour chaque répétition un intervalle de 1h30 allant de T0 à T5, pour générer un certains nombres de paramètres qui sont les suivants :

- 1- Le pourcentage de spermatozoïdes mobiles
- 2- VSL (velocity straight line)
- 3- Type de mobilité

III. Résultats

III.1. Données de l'étude rétrospective

III.1.1. Données épidémiologiques

Durant notre étude rétrospective réalisée sur une période de deux ans au laboratoire de Dr. Moualek, uniquement 30 patients ont consulté pour un problème lié à une infection bactérienne. La répartition de cette population par âge a montré que l'âge des patients varie entre 23 à 62 ans avec une moyenne de 38 ans \pm 9 ans. La figure N° 01 montre que la catégorie d'âge « 33 à 40ans » est la catégorie d'âge qui souffre le plus du problème d'infection bactérienne du sperme.

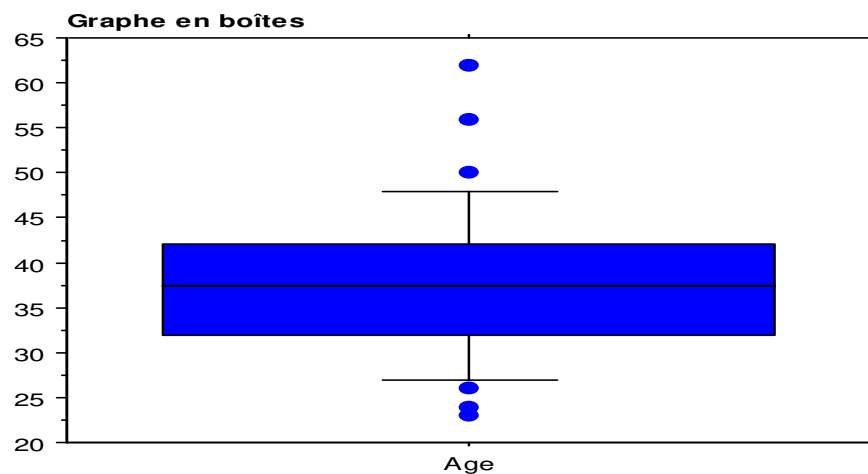


Figure 1 : Répartition de la population par âge.

III.1.2. Résultats des paramètres spermatiques

III.1.2.1. Résultats macroscopiques

Le volume du sperme recueilli était compris entre 0.5ml et 6ml avec une moyenne de 3.33 ml \pm 1. Selon l'OMS (2010), le volume du sperme devrait être compris entre 1,5 ml et 06 ml. Nous avons noté une hypospermie (<1.5mL) chez 07 patients. Le pH moyen du sperme était de 7,8. Il doit être compris entre 7.2-8, selon l'OMS 2010. Un pH alcalin supérieur à 8 est observé chez 03 patients. Un pH au-dessous 7.2 est observé chez 7 patients. Concernant la couleur et la viscosité du sperme, aucune anomalie n'est observée. La liquéfaction était complète dans 19/30 échantillon et l'agglutination est absente dans 26/30 échantillon. Les

III. Résultats

figures N° 02 et N°3 montre les résultats macroscopiques (pH, volume, liquéfaction et la présence d'agglutinat).

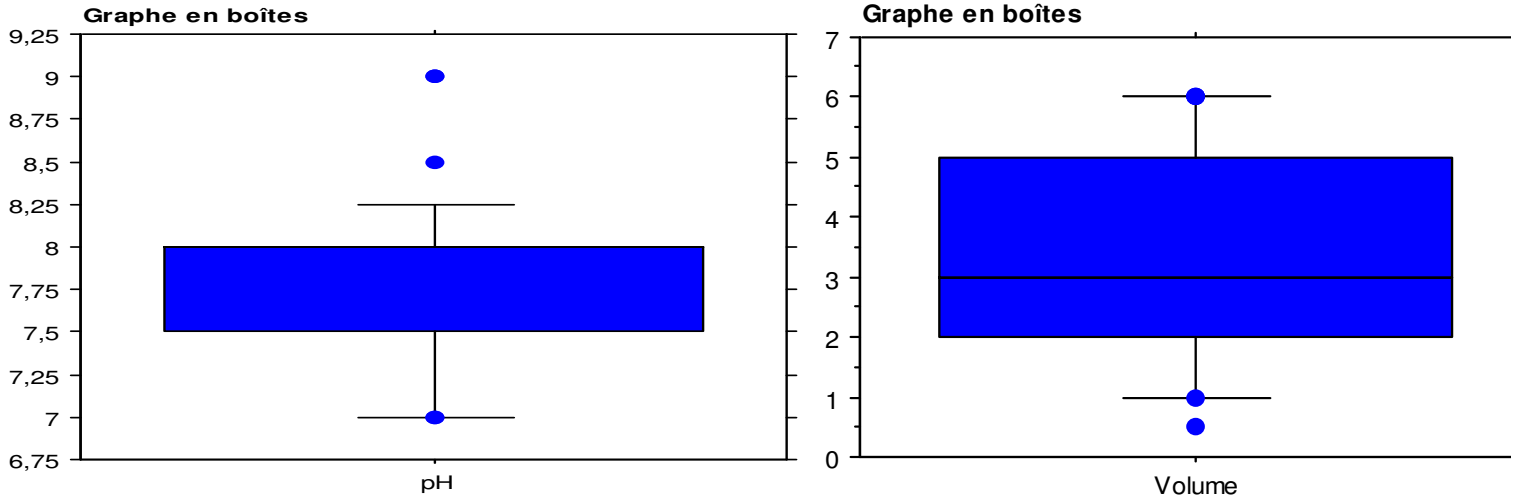


Figure 2 : Répartition de la population selon le volume du sperme et l'écart type de pH.

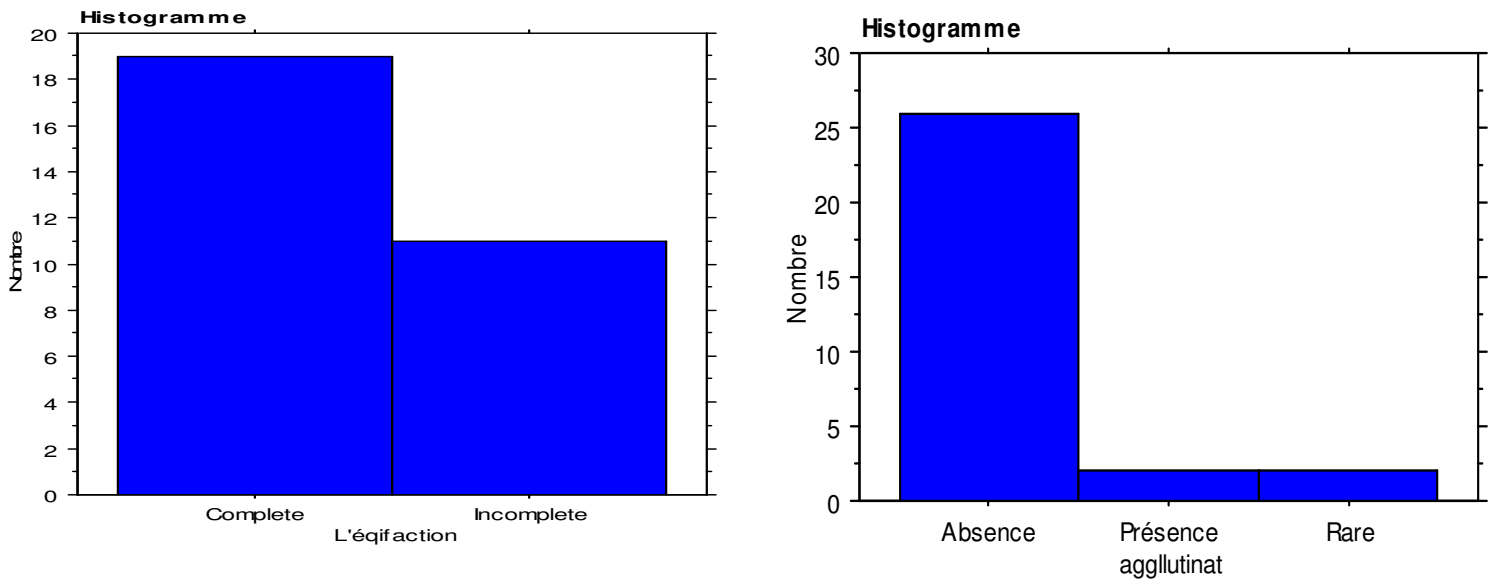


Figure 3 : répartition de l'équifaction et la présence d'agglutinat par nombre des patients.

III. Résultats

III.1.2.2. Résultats microscopiques

III.1.2.2.1. Nombre de spermatozoïdes par mL :

Au cours de cette étude, le nombre de spermatozoïdes est compris entre [0.5-210 millions/mL] avec une moyenne de 49.62 ± 46.26 millions. La figure N°04, représente la distribution du nombre de spermatozoïdes par millilitre. Selon l'OMS, le nombre normal de spermatozoïdes doit être supérieur à 15million/ml. Les résultats montrent que la plus part ont un nombre entre 5 et 80 millions/mL. De ce fait, seulement 08 patients sont oligospermiques (0-15 millions/mL), parmi eux, 3 patients ont une oligospermie sévère (<5millions/ml) et aucun patient n'est caractérisé comme étant polyspermique (>213mL).

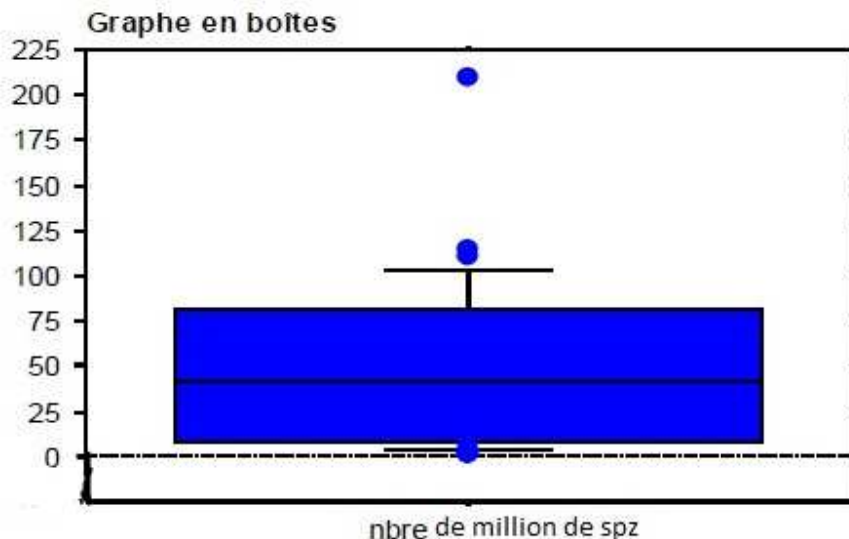


Figure 4 : Graphe en boîte de la concentration spermatique par millilitre.

III.1.2.2.2. Mobilité.

Le taux total de spermatozoïdes mobiles varie entre 0 et 90% avec une moyenne de $54\% \pm 25$ (figure N° 05). Selon l'OMS le taux de spermatozoïdes mobiles totaux doit être égal ou supérieur à 40%, il est calculé comme suit : la somme des spermatozoïdes mobiles de type (a + b + c) rapide, moyen et lente respectivement. Quant aux spermatozoïdes progressifs rapides, leur taux varie entre 0 à 70 % avec une moyenne de $34\% \pm 20$. La VSL varie entre 0 et

III. Résultats

51 $\mu\text{m/s}$ avec une moyenne de $30 \pm 15 \mu\text{m/s}$. La VSL à coté du pourcentage des progressifs rapides sont considérés comme les indicateurs les plus fiables de la qualité du sperme.

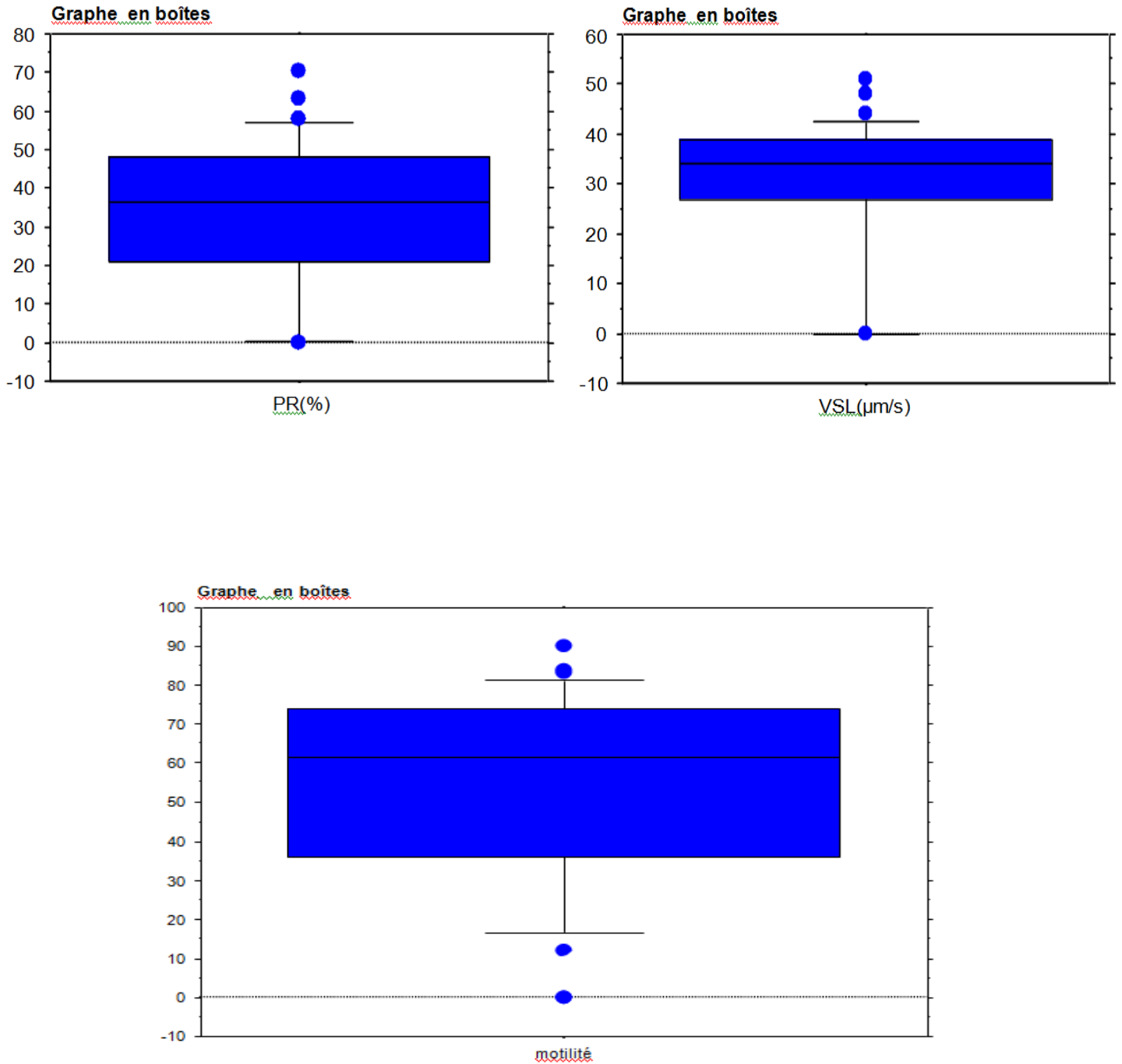


Figure 5 : Représentation graphique des paramètres de mobilité spermatique.

III. Résultats

III.1.2.2.3. Cytologie :

L'hémospermie, ou la présence du globule rouge dans le sperme, est observée chez 07 patients. Concernant la leucospermie, ou les cellules rondes, le nombre de cellules rondes varie entre une valeur minimale de 0 à 33 cellules avec une moyenne de 4.56.

L'OMS considère comme significatif d'inflammation, et surtout s'il est associé à une bactériospermie, un compte de leucocytes proche de 1 000 000 leucocytes par mL (seuil considéré par tous les auteurs comme trop élevé). Des travaux ont montré que la leucospermie pouvait n'être que transitoire et ne pas affecter la fertilité (Cottell, 1998). D'autres auteurs ont trouvé qu'une leucospermie entre un et trois millions/mL n'affecte pas la fonction des spermatozoïdes (Kaleli et al., 1998).

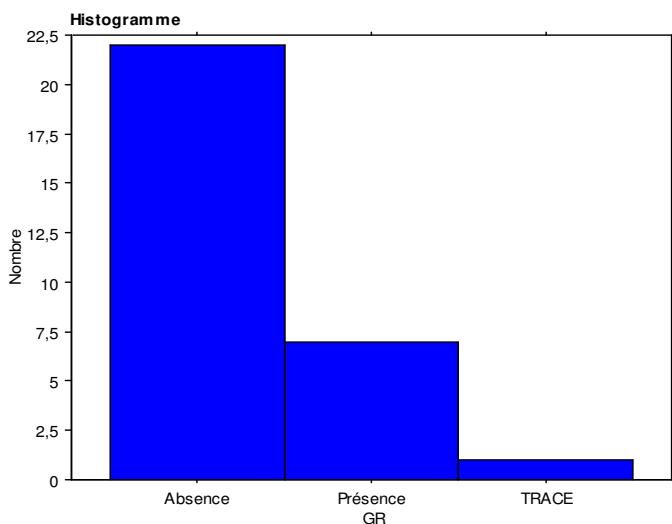


Figure 6 : Répartition de GR par échantillon.

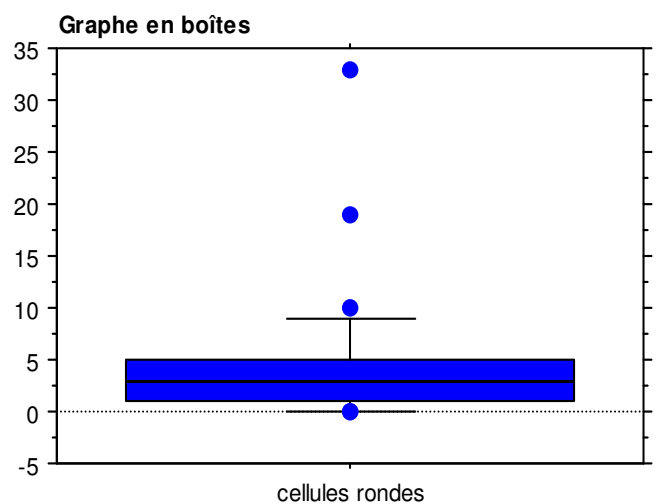


Figure 7 : répartition des cellules rondes.

III. Résultats

III.1.2.3. Résultats microbiologique

Les résultats de la spermoculture ont indiqué la dominance des bactéries à Gram positif (*S. aureus* (18 souches) ; *S. Saprophyticus* (1 souche) ; et *Streptococcus sp.* (1 souche)), suivie par les entérobactéries (*E. coli* (5 souches) ; *Klebsiella sp.* (2 souches) et *Proteus mirabilis* (1 souche)). Uniquement 2/30 souches étaient identifiées comme *Ureaplasma sp.* Nous constatons alors que 28/30 des germes isolés sont des germes banaux et non pas de transmission sexuelle. La figure N° 08, montre la répartition des souches isolées par espèces.

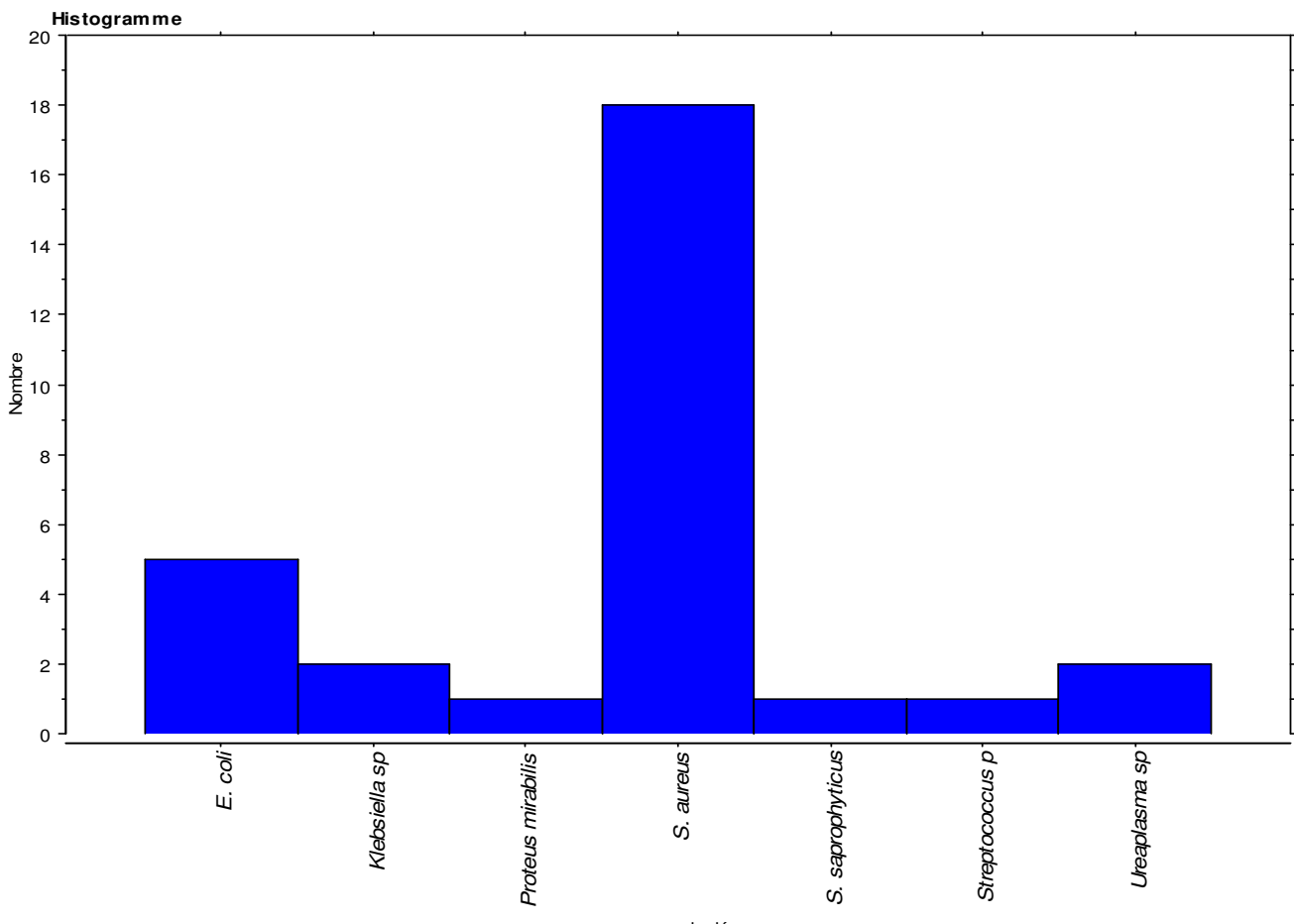


Figure 8 : Répartition des résultats de la spermoculture par espèce.

III. Résultats

Les souches isolées du sperme ont présenté une résistance à certaines molécules d'ATB. Les résultats d'antibiogramme des souches isolées sont résumés par le tableau III.

Tableau III : Les résultats des spermocultures et des antibiogrammes pour 30 patients :

Patients	germes isolés	Sensible	Résistance
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	GEN	ERY-CLI-TCY-FUS
2	<i>Staphylococcus aureus</i>	GEN-ERY-CLI-TCY-FUS	//
3	<i>Staphylococcus aureus</i>	FOX-GEN-CLI-PRI	ERY
4	<i>Klebsiella Oxytoca</i>	FOX-CIP-AMC-GEN-COL	AMX-AMP
5	<i>Ureaplasma SPP</i>	ERY-ROX-ATM-OFX	CIP
6	<i>Staphylococcus aureus</i>	AMX-CIP-OFX-GEN	PEN-SXT-CLI-TET-FUS
7	<i>Staphylococcus aureus</i>	OFX-CIP-CFM	SXT
8	<i>Staphylococcus aureus</i>	GEN-OFX-SXT-AMK-CIP	PEN-CLI-FUS
9	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	ROX-AZM-DO-OFX	CIP-
10	<i>E. coli</i>	IPM-SXT-GEN-CFM-CTX-CIP	AMX-AMC
11	<i>E. coli</i>	IPM-SXT-GEN-CFM-CTX-CIP	AMX-AMC
12	<i>Staphylococcus aureus</i>	FOX-SXT-CIP-FUS-	SP-PT-FOS
13	<i>Staphylococcus aureus</i>	CIP-GEN-SP-PT	SXT-FOX-OXA
14	<i>Staphylococcus aureus</i>	OFX-SXT-CIP-FUS-GEN	SP-PT-FOS-OXA
15	<i>Proteus mirabilis</i>	IMP-GEN-CTX-CIP	AMP-AMX-SXT-AMC-COL
16	<i>E. coli</i>	GEN-IMP-CTX-CFM-S-CIP	AMP-AMX-AMC
17	<i>Staphylococcus aureus</i>	FUS-CIP-OXA-SXT	OFX-CLI-VAN
18	<i>E. coli</i>	IPM-GEN-CTX-CIP-CFM-SXT	AMP-AMX-AMC
19	<i>E. coli</i>	IMP-OFX-AMC-CIP-CTX	AMP-AMX-SXT-NA
20	<i>Streptocoque d</i>	VAN-SR-GEN	AM-RP-AMC-ERY-RE-RTE
21	<i>Staphylococcus aureus</i>	OFX-SXT-VAN-CIP-GEN	CLI-SP-FUS-OXA-FOS-ERY
22	<i>Staphylococcus aureus</i>	OFX-SXT-CIP-SP-FUS-GEN	PT-ERY-OXA-FOS
23	<i>Staphylococcus aureus</i>	OFX-SXT-CIP-SP-GEN	FC-PRY-ERY-OXA-FOS
24	<i>Staphylococcus aureus</i>	OFX-SXT-CIP-SP-GEN	DA-FC-PRY-OX-ERY-
25	<i>Staphylococcus aureus</i>	OFX-SXT-CIP-CLI-VAN-GEN	SP-ERY-OXA-FOS
26	<i>Staphylococcus aureus</i>	OFX-SXT-GEN-VAN	SP-PT-OX-FOS
27	<i>Staphylococcus aureus</i>	OFX-SXT-VAN-FC-PT-FOS	SP-ERY-OXA
28	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	//	SXT-SP-PT-ERY-OXA-FOS
29	<i>Staphylococcus aureus</i>	OFX-SXT-VAN-GEN	FOS-DA-ERY-OX-SP
30	<i>Klebsiella oxytoca</i>	GEN-IPM-CTX-CFM-CIP-AMC	AM-AMX-SX-MA-NI

Légende : GEN :gentamycine. ERY : érythromycine. CLI : clindamycine. TCY : tétracycline. FUS : acide fusidique. FOX : céfoxitine. PRI/PT : pristinamycine. CIP : ciprofloxacine. AM : ampicilline. AMC : amoxicilline-acide clavulanique. AMX : amoxicilline. NA : acide nalidixique. FOS : fosfomycine. COL : colistine. AZM : azithromycine. OFX : ofloxacine. CTX : céfotaxime. PEN : pénicilline. CFM : céfixime. SXT : triméthoprime/sulfaméthoxazole. ROX : roxythromycine. VAN : voncomycine. SP : spiramycine. DO : doxycycline. RE : rifampicine. OX : oxacilline. ATM : aztréonam. NI : nitroxoline, TET : tetracycline, IPM : imipénème,

III. Résultats

La présence des bactéries dans le sperme est associée à la normospermie dans 16 des cas : 08 souches de *S. aureus* ; 04 souches d'*E. coli* ; 02 souches *Kleibseilla oxytoca* et une souche pour *Strptococcus d et Ureaplasma spp*, ce qui affirme que dans certaines situations la bactériospermie n'altère pas les paramètres spermatiques. La répartition des résultats du spermogramme sont montrés par la figure N° 09.

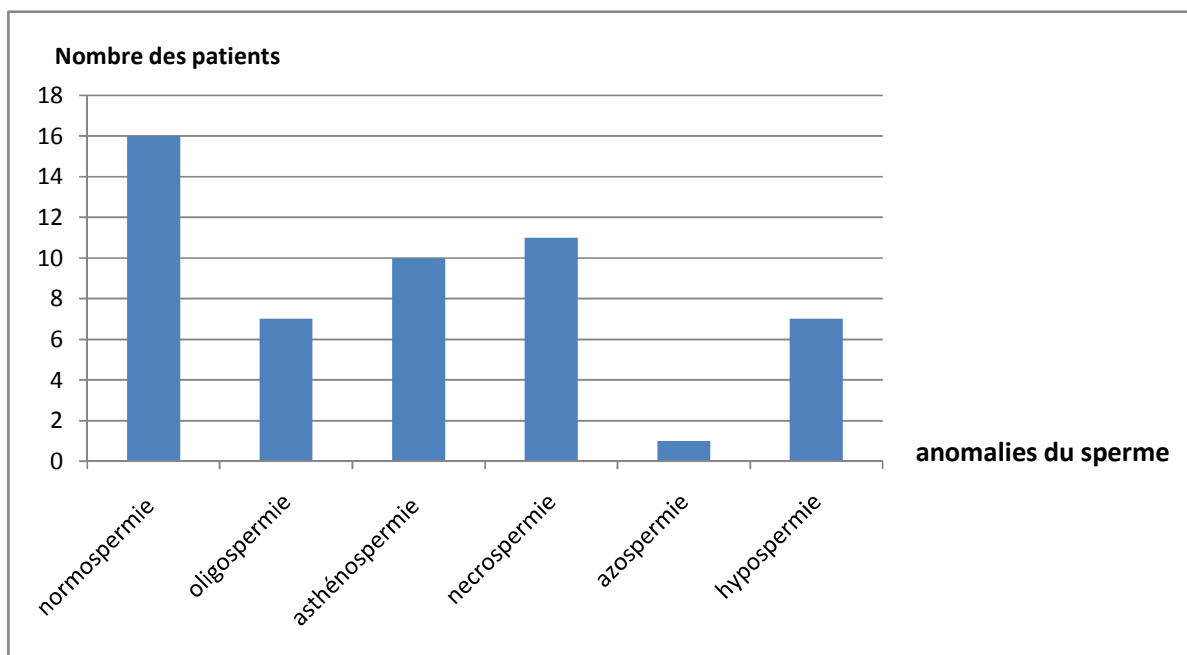


Figure 9 : répartition des résultats du spermogramme

III. Résultats

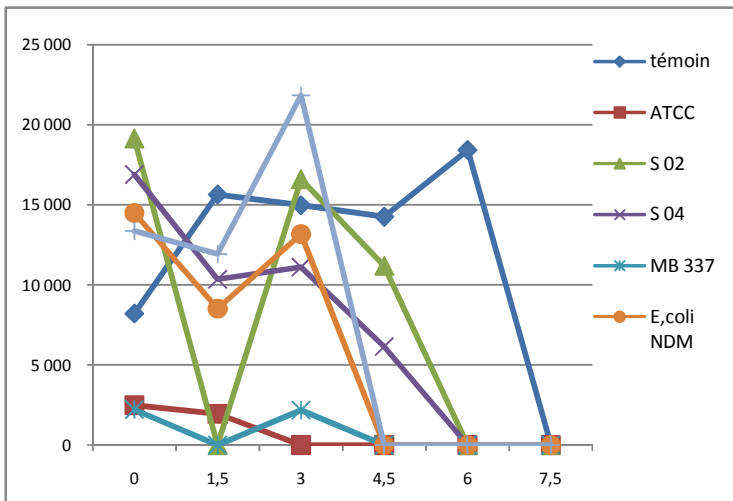
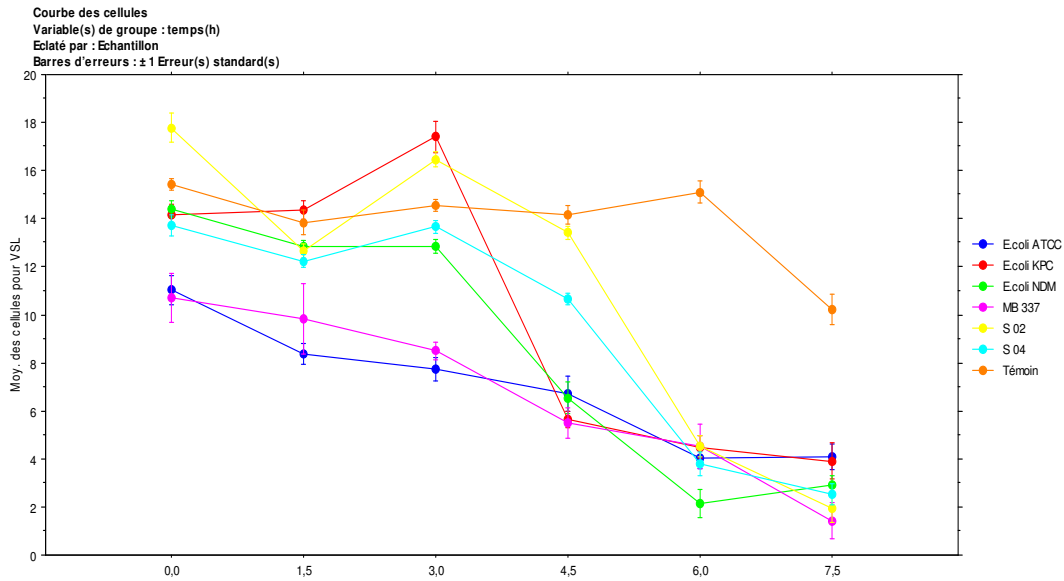
III.2. Impacte de bactéries résistantes aux antibiotiques sur les paramètres spermatiques

Les résultats de l'étude des paramètres spermatiques, représentées par la VSL ($\mu\text{m/s}$), le taux des spermatozoïdes totaux (%) et le taux des progressifs rapides (%), en présence de différentes souches bactériennes de différents profils de résistance aux antibiotiques et de traits de virulence, effectuée en présence et en absence de D-mannose, sont montrés par les figures N° 05 jusqu'à N°10 .

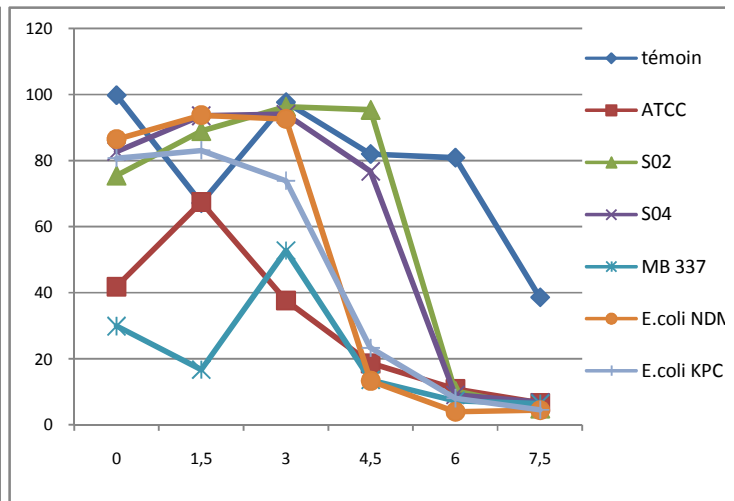
D'après ces résultats, nous constatons, en absence de D-mannose, la souche de référence d'*E.coli* ATCC 25 922 (groupe B2), et la souche MB 377 (groupe D) productrice de CTX-M-15 affectent de plus les paramètres spermatiques comparés au témoin et aux autres souches d'*E. coli* résistantes aux antibiotiques. Les souches d'*E.coli* S02 (groupe A), S04 (groupe B1), NDM et KPC, ont tendance à faire un seul groupe qui affectent moins les paramètres spermatiques comparé à la souche d'*E. coli* sensible aux antibiotiques et la souche MB 337.

En présence de D-mannose, les souches d'*E.coli* KPC, NDM et MB377 semblent affecter le plus les paramètres spermatiques suivie par *E. coli* sensibles aux antibiotiques et les souches S04 et S 02, respectivement. Le contrôle ou le tube témoin semble ne pas être affecté par la présence de D-mannose.

III. Résultats



PR%



Taux de mobilité %

Figure 10 : Paramètres spermatiques en présence des différentes souches *E. coli* en absence de D-mannose.

III. Résultats

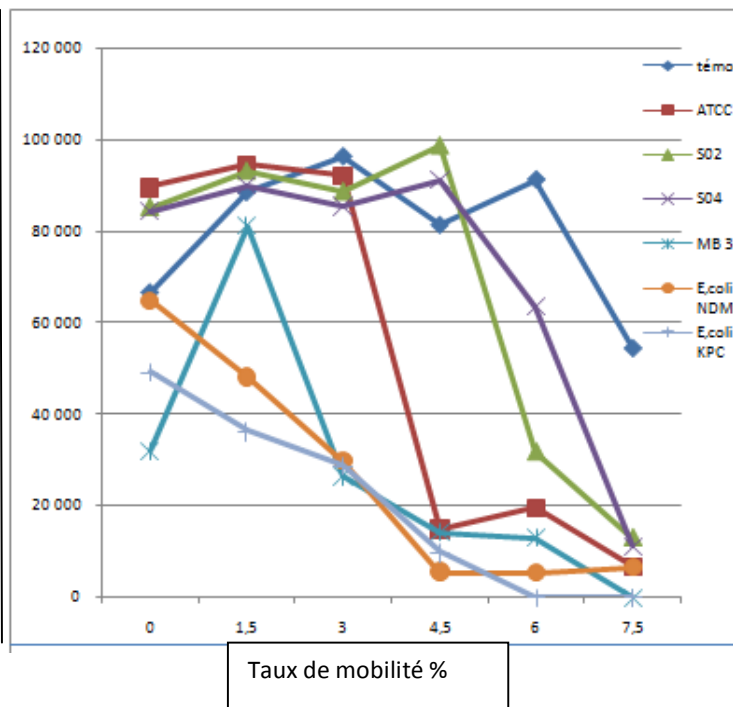
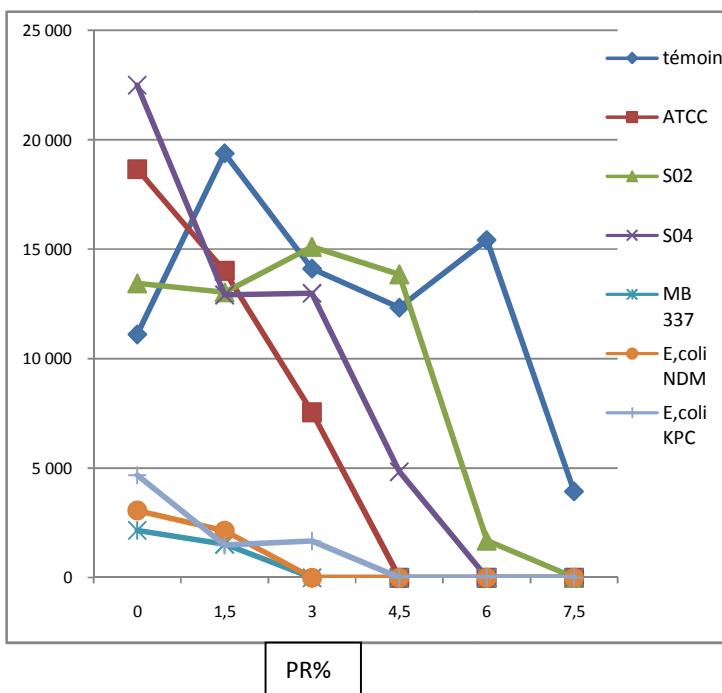
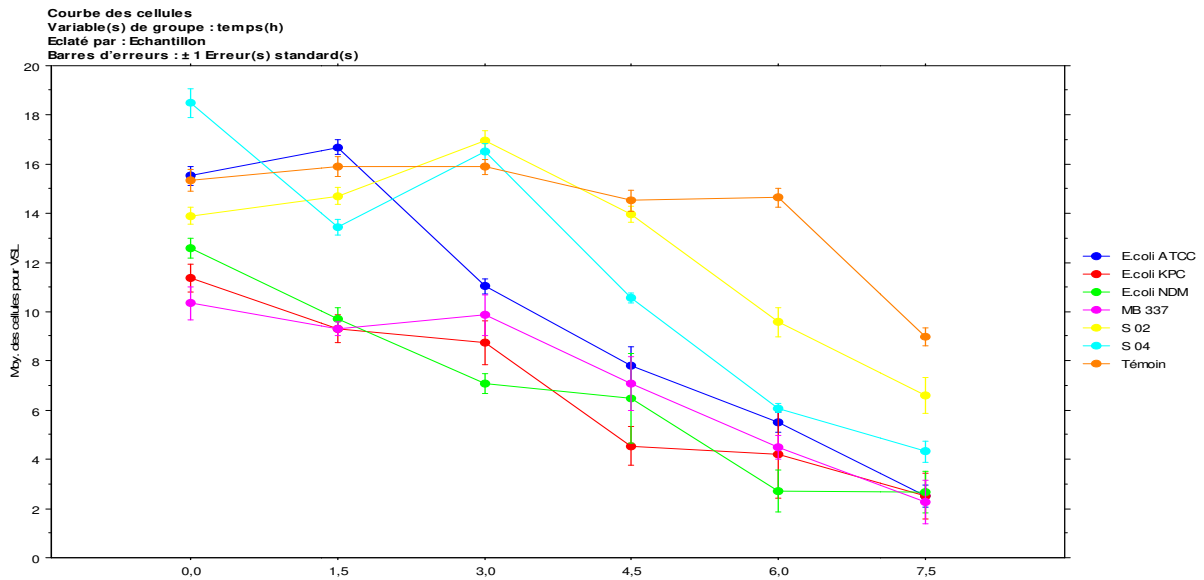


Figure 11 : Paramètres spermatiques en présence des différentes souches *E. coli* en présence de D-mannose.

IV. Discussion

Le sperme est un liquide physiologique stérile à l'état naturel. Néanmoins, il pourrait être infecté suite à une infection de la sphère génitale ou une contamination par les pathogènes ou les commensaux des voies génitales basses.

Selon les résultats de l'étude rétrospective, les bactéries à Gram positif représentées principalement par les souches de *Staphylococcus* sont les bactéries les plus isolées à partir des échantillons du sperme des patients consultants (19/30). Les souches d'entérobactéries sont également isolées chez 8/30 des patients. Plusieurs études ont rapporté l'implication de ces bactéries dans les infections uro-génitales masculines (Moretti et al., 2009). *E. coli* parmi les bactéries les plus isolées chez les patients ayant une spermoculture positive car il a été identifié comme l'agent causal de plus de 60% des infections urinaires masculines (Lang et al., 2013)

Le test de sensibilité aux antibiotiques a montré que ces bactéries présentent une résistance à certaines molécules à savoir l'ampicilline, amoxicilline, et l'association amoxicilline-acide clavulanique, Gentamicine, Kanamicine acide clavulanique, ciprofloxacine, ...

La résistance aux antibiotiques des bactéries isolées du sperme humain est peu rapportée par la littérature comparée à la résistance aux antibiotiques des souches isolées du tractus urinaire. En effet, une étude rétrospective, entre 2003 et 2008, incluant 14.119 spermocultures et 1.376 tests de sensibilité, a montré la dominance du phénotype sensible dans le CHU de Nantes (France) (Leterrier et al., 2011). En revanche, Bouya et coll (2015) ont observé des pourcentages élevés (>40%) de résistance à des antibiotiques tels que l'ampicilline, l'amoxicilline acide clavulanique, l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole et les fluoroquinolones dans le CHU de Brazzaville (la République du Congo) (Bouya et al., 2015).

Beaucoup d'études ont étudiés l'impact des infections génitales sur le potentiel reproducteur masculin, cependant, l'effet des bactéries sur la qualité du sperme est encore controversé (Mankveld et Kruger, 1998). Dans notre étude rétrospective, la présence des bactéries dans le sperme est associée à la normospermie dans 16 des cas, ce qui confirme que la présence des bactéries dans le sperme n'est pas toujours néfaste. Des études ont montré que l'impact négatif des bactéries sur les paramètres spermatiques dépend de la nature et la concentration du germe (Sepúlveda et al., 2013 ; Úbedaa et al., 2013).

IV. Discussion

L'impact des bactéries sur les paramètres spermatiques est déjà invoqué mais, à ce jour, l'impact de bactéries résistantes aux antibiotiques sur les paramètres spermatiques reste peu étudié, surtout que la résistance aux antibiotiques et la virulence bactérienne semblent être deux caractéristiques antagonistes. Nous avons donc tenté d'étudier certains paramètres spermatiques en présence de différentes souches d'*E. coli* de différents mécanismes de résistance aux antibiotiques et de différents phylogroupes. Nous avons noté que malgré que la souche d'*E. coli* ATCC 25922 et la souche MB337 de deux phénotypes de résistance antagonistes (sensible vs résistante, respectivement) mais elles affectent de la même manière les paramètres spermatiques étant donné qu'elles appartiennent à deux groupes phylogéniques proches. En effet, il est connu que les souches extra-intestinales d'*E. coli* appartiennent majoritairement au groupe phylogénique B2 et dans une moindre mesure au groupe D (Johnson & Russo, 2005). La souche MB 337, est une souche isolée à partir d'une infection urinaire masculine. Quant aux souches S02 et S04, appartenant aux groupes A et B1 respectivement, sont des souches commensales isolées à partir de tube digestif de l'espèce aviaire.

Ces résultats semblent ne pas coïncider avec les résultats de Mezhoud et al. (2015) qui suggèrent que les bactéries résistantes aux antibiotiques affectent le moins les paramètres spermatiques comparé aux bactéries sensibles aux antibiotiques. Nos résultats, montrent que les paramètres spermatiques sont affectés par la présence des souches d'*E. coli* quel que soit son phénotype de résistance aux antibiotiques mais dépend plus au moins du phylogroupe de la souche.

Concernant les paramètres spermatiques en présence de D-mannose, le résultat attendu n'est malheureusement pas atteint. Le D-mannose est ajouté dans le but d'inhiber les agglutinations spermatiques et par conséquent améliorer les paramètres spermatiques, néanmoins, ils ne le sont pas pour des raisons inconnues.

Conclusion

D'après les résultats obtenus au terme de ce travail, nous concluons que les bactéries contaminant la semence humaine sont majoritairement les *Staphylococcus* et les entérobactéries. *In vivo*, la présence de ces bactéries dans le sperme ne possède pas un effet délétère chez certains patients (normospermie). Le test de sensibilité aux antibiotiques a révélé que les bactéries infectant la semence sont résistantes à certaines molécules d'antibiotiques telles que l'ampicilline, amoxicilline, l'association amoxicilline-acide clavulanique, gentamicine et kanamicine.

Le test d'infection artificielle de la semence humaine *in vitro* par des souches d'*E. coli* sensibles ou résistantes aux antibiotiques de différents groupes phylogéniques a montré que les souches extra intestinales d'*E. coli* affectent le plus les paramètres spermatiques et ceci indépendamment du profil de résistance aux antibiotiques. Les souches d'*E. coli* intestinales affectent les paramètres spermatiques beaucoup plus moins comparés aux souches extra-intestinales. Nos résultats affirment alors que la présence de souches bactériennes dans le sperme humain a un effet délétère *in vitro*. Cet effet dépend de la nature de la souche est non pas de son profils de résistance aux antibiotiques.

Cette étude reste préliminaire, elle doit être complétée par un ensemble de tests afin de confirmer l'effet de la présence de souches résistantes telle que la détermination du pH du sperme infecté au cours du temps, la détermination du taux de vitalité des spermatozoïdes et l'effet de cette souche sur l'état de l'acrosome.

Il serait également intéressant de tester un nombre important de souches uropathogènes dont les mécanismes de résistance sont différents.

Références bibliographiques

B

- **Bruyère, F., Cariou, G., Boiteux, J. P., Hoznek, A., Mignard, J. P., Escaravage, L., ... & Coloby, P. (2008).** Prostatites aiguës. *Progrès en Urologie*, **18**, 19-23.

C

- **Clinic, C., Ave, E., Sinai, C., Angeles, L., & Urological, G. (2008).** The Natural History of Seminal Leukocytes in Men Seeking Infertility Evaluation, **14**, 25–29.
- **Cottell, E., Harrison, R.F., McCaffrey, M., Walsh, T., Mallon, E., Barry-Kinsella, C., (2000).** Are seminal fluid microorganisms of significance or merely contaminants? *Fertil. Steril.* **74**, 465–470.

D

- **d’Urologie, F. (2014).** Stress oxydant et infertilité masculine: physiopathologie et intérêt thérapeutique des antioxydants. *Progrès en urologie*, **24**, 4-10.
- **Denamur, E., & Picard, B. (2012).** Virulence et résistance: deux caractéristiques antagonistes chez *Escherichia coli*?. *Réanimation*, **21**, 249-251.

F

- **Fraczek, M., & Kurpisz, M. (2015).** Mechanisms of the harmful effects of bacterial semen infection on ejaculated human spermatozoa: potential inflammatory markers in semen. *Folia Histochem Cytobiol*, **53**, 201-17.

J

- **Johnson, J. R., & Russo, T. A. (2005).** Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic (uropathogenic) *Escherichia coli*. *International journal of medical microbiology*, **295**, 383-404.

K

- **Kaleli, B., Özden, A., Aybek, Z., & Bostanci, B. (1998).** The effect of L-arginine and pentoxifylline on postoperative adhesion formation. *Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica*, **77**, 377-380.
- **Kaur, K., Kaur, S., & Prabha, V. (2015).** Exploitation of sperm-*Escherichia coli* interaction at the receptor-ligand level for the development of anti-receptor antibodies as the vaginal contraceptive. *Andrology*, **3**, 385-394.

Références bibliographiques

- **Keck, C., Gerber-Schäfer, C., Clad, A., Wilhelm, C., & Breckwoldt, M. (1998).** Seminal tract infections: impact on male fertility and treatment options. *Human Reproduction Update*, **4**, 891-903.
- **Köhn, F. M., Erdmann, I., Oeda, T., El Mulla, K. F., Schiefer, H. G., & Schill, W. B. (1998).** Influence of urogenital infections on sperm functions. *Andrologia*, **30**, 73-80.

L

- **Lang, T., Dechant, M., Sanchez, V., Wistuba, J., Boiani, M., Pilatz, A., ... & Tchatalbachev, S. (2013).** Structural and functional integrity of spermatozoa is compromised as a consequence of acute uropathogenic *E. coli*-associated epididymitis. *Biology of reproduction*, **89**, 59.
- **Leterrier, M., Fréour, T., Guillouzouic, A., Juvin, M. E., Barriere, P., Reynaud, A., & Corvec, S. (2011).** Semen cultures analysis: retrospective study during a 6-year period and interest in the management of infertility. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, **30**, 401-406.

M

- **Menkveld, R., Stander, F. S. H., & Kruger, T. F. (1998, June).** Comparison between acrosome index and teratozoospermia index as additional criteria to sperm morphology in the prediction of expected in-vitro fertilization outcome. In *HUMAN REPRODUCTION*. **13**, pp. 52-52.
- **Mezhoud, H., Boyen, F., Touazi, L. H., Garmyn, A., Moula, N., Smet, A., ... & Touati, A. (2015).** Extended spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* in broiler breeding roosters: Presence in the reproductive tract and effect on sperm motility. *Animal reproduction science*, **159**, 205-211.
- **Moretti, E., Capitani, S., Figura, N., Pammolli, A., Federico, M. G., Giannerini, V., & Collodel, G. (2009).** The presence of bacteria species in semen and sperm quality. *Journal of assisted reproduction and genetics*, **26**, 47.

O

- **Odzebe, A. W. S., Bouya, P. A., & Banga-Mouss, R. B. (2015).** Profil cyto-bactériologique du sperme des patients consultant pour infertilité dans le

Références bibliographiques

service d'urologie-andrologie du CHU de Brazzaville. *Revue Africaine d'Urologie et d'Andrologie*, *1*(4).

R

- **Rennemeier, C., Frambach, T., Hennicke, F., Dietl, J., & Staib, P. (2009).** Microbial quorum-sensing molecules induce acrosome loss and cell death in human spermatozoa. *Infection and immunity*, **77**, 4990-4997.

S

- **Schulz, M., Sánchez, R., Soto, L., Risopatrón, J., & Villegas, J. (2010).** Effect of *Escherichia coli* and its soluble factors on mitochondrial membrane potential, phosphatidylserine translocation, viability, and motility of human spermatozoa. *Fertility and sterility*, **94**, 619-623.
- **Sepúlveda, L., Bussalleu, E., Yeste, M., Torner, E., & Bonet, S. (2013).** How do different concentrations of *Clostridium perfringens* affect the quality of extended boar spermatozoa?. *Animal reproduction science*, **140**, 83-91.

U

- **Úbeda, J. L., Ausejo, R., Dahmani, Y., Falceto, M. V., Usan, A., Malo, C., & Perez-Martinez, F. C. (2013).** Adverse effects of members of the Enterobacteriaceae family on boar sperm quality. *Theriogenology*, **80**, 565-570.

W

- **Weidner, W., Krause, W., & Ludwig, M. (1999).** Relevance of male accessory gland infection for subsequent fertility with special focus on prostatitis. *Human Reproduction Update*, **5**, 421-432.

Glossaire

Terme	Définition
Stérilité	Incapacité pour un être vivant de se reproduire, de procréer, due à des troubles fonctionnels, à des lésions organiques des organes génitaux ou à une stérilisation volontaire.
Fertilité	correspond à la capacité pour un couple de débiter une grossesse autrement dit de concevoir.
Infertilité	est l'incapacité d'un couple à obtenir une grossesse après environ une année de rapports sexuels réguliers non protégés
Subfertilité	L'état d'être moins fertile mais encore capable d'effectuer une fertilisation.
Spermogramme	Un spermogramme est un examen médical au cours duquel on analyse le sperme d'un homme, généralement dans le cadre d'un bilan de stérilité d'un couple.
Acrosome	est la partie antérieure du spermatozoïde qui libère les enzymes permettant la pénétration du spermatozoïde dans l'ovule lors de la fécondation.
Réaction d'acrosome	Modification enzymatique intervenant entre le moment de l'éjaculation et la fécondation et consistant principalement en une ouverture de l'acrosome qui coiffe la partie supérieure du noyau du spermatozoïde.
Spermatogenèse	désigne la production des spermatozoïdes. Elle s'effectue dans les testicules et débute au cours de la puberté.
Leucospermie	est une anomalie du spermogramme qui se caractérise par une présence de leucocytes en quantité disproportionnée, c'est-à-dire supérieure à 1 million/mL de sperme. Ce type de trouble témoigne généralement d'un processus inflammatoire.
Necrospermie	Ou Nécrozoospermie. Pourcentage des formes mortes de spermatozoïdes qui dépasse 30 %.
Asthénospermie	définie comme une « fatigue » des spermatozoïdes qui sont moins mobiles qu'en conditions normale, selon l'OMS une asthénospermie définie par une mobilité des spz $\leq 40\%$.
Azoospermie	absence complète de spermatozoïdes dans l'éjaculat.
Oligospermie	Selon l'OMS, elle correspond à un nombre de spermatozoïdes

Glossaire

	inférieur à 15 millions/ml ; on considère qu'un nombre inférieur à 10 millions/ml peut être responsable d'une infertilité.
Tératospermie	est une altération séminale dans laquelle il existe un nombre élevé ($\geq 96\%$) de spermatozoïdes avec des formes anormales ou atypiques.
Hypospermie	est une diminution de la quantité de sperme. Plus précisément, elle correspond à un volume du liquide séminal recueilli inférieur à 1.5 ml sur au moins deux spermogrammes successifs.
Hyperspermie	terme médical caractérisant une éjaculation de sperme de très grande quantité, soit plus de 6 ml.
Ionophore de calcium	appelé ionomycine est un antibiotique produit par la bactérie <i>Streptomyces conglobatus</i> . Ayant un spectre étroit, cet antibiotique cible les bactéries à Gram positif en perméabilisant leur membrane plasmique.
Facteur d'immobilisation de sperme	Produit par <i>E. coli</i> provoque une immobilisation des spermatozoïdes.
Le test de pénétration des spermatozoïdes (SPA)	Le test de pénétration des spermatozoïdes (SPA) analyse la capacité du sperme d'un homme à se lier ou à attacher à la membrane de l'œuf, à pénétrer l'œuf et subir une décondensation. Ce sont les premières étapes nécessaires de la fertilisation réelle.
Phosphatidylsérine	Est un phospholipide, indispensable pour le maintien de toutes les fonctions cellulaires, en particulier dans le cerveau, et permet une meilleure réponse hormonale : plus de testostérone.
D-mannose	est un sucre simple, cousin du glucose qui recouvre les cellules du tractus urinaire, présente une solution efficace aux infections urinaires à <i>E. coli</i> .
Sperm class analyser	Le système SCA® CASA est un logiciel informatique qui permet une évaluation précise, répétitive et automatique des paramètres de spermatozoïdes suivants: motilité,

Glossaire

	concentration, morphologie, fragmentation de l'ADN, vitalité et réaction d'acrosome.
Velocity straight line (VSL)	Vitesse de la trajectoire entre deux points du centroïde pris entre n intervalle de temps.
Spz type a	Spermatozoïdes ayant une vitesse rapide.
Spz type b	Spermatozoïdes ayant une vitesse moyenne.
Spz type c	Spermatozoïdes ayant une vitesse lente.
Spz type d	Spermatozoïdes immobiles.
lipopolysaccharides	est un composant essentiel de la paroi bactérienne des bactéries à Gram négatif. le LPS, extrêmement toxique, représente l'endotoxine des bactéries à Gram négatif.
α et β -hémolysines	une substance (le plus souvent une protéine) susceptible de causer une hémolyse, c'est-à-dire une destruction des globules rouges. Elles sont produites par divers organismes: des bactéries (α -hémolysine de <i>Staphylococcus aureus</i>) ou des champignons ¹ par exemple
Apoptose	(ou mort cellulaire programmée) est le processus par lequel des cellules déclenchent leur autodestruction en réponse à un signal. C'est l'une des voies possibles de la mort cellulaire, qui est physiologique, génétiquement programmée, nécessaire à la survie des organismes multicellulaires.
Porines	est une protéine transmembranaire des bactéries permettant le passage des ions et autres petites molécules hydrophiles.

Résumé

Le présent travail a comme objectif l'étude de l'impact des bactéries résistantes aux antibiotiques sur les paramètres spermatiques. D'abord les infections du tractus urogénital semblent être responsables de 15% de cas d'infertilité. D'une part les résultats obtenus après l'étude rétrospective montre une grande incidence des souches *E. coli* et *S. aureus*, d'autre part une contamination artificielle du sperme humain par des *E. coli* résistantes et sensibles aux antibiotiques a été réalisée, en absence et en présence de D-mannose.

Un outil informatique d'analyse du sperme SCA est utilisé pour suivre la qualité de la mobilité spermatique et des vitesses de progression (VSL) au cours du temps.

Les résultats obtenus montrent que les paramètres spermatiques sont affectés par la présence des souches d'*E. coli* quel que soit son phénotype de résistance aux antibiotiques. Ceci probablement est non lié au statut de résistance mais aux phylogroupes des souches. En effet l'ajout de D-mannose na rien changé sur la qualité des spermatozoïdes pour des raisons inconnues.

Mots clés : sperme, *E. coli*, résistante, sensible, VSL, SCA, phylogroupe, D-mannose.

Abstract:

The aim of this paper is to study the impact of antibiotic-resistant bacteria on sperm parameters. First, infections of the urogenital tract appear to be responsible for 15% of cases of infertility. The results obtained after the retrospective study show a high incidence of the *E. coli* and *S. aureus* strains and an artificial contamination of the human sperm by resistant and antibiotic-sensitive *E. coli* was realized, in the absence and presence of D-mannose.

A computer tool for SCA sperm analysis used as a monitor of the quality of sperm mobility and progression rates (VSL) over time.

The results obtained show that the spermatic parameters are affected by the presence of *E. coli* regardless of its phenotype of resistance to antibiotics. This probably it is not related to the resistance status but to the phylogroups of the strains. Indeed the addition of D-mannose has changed nothing on the quality of the spermatozoa for reasons unknown.

Keywords: Sperm, *E. coli*, resistant, sensitive, VSL, SCA, phylogroup, D-mannose.