

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université ABDERRAHMANE MIRA – Béjaia**

**Faculté des sciences de la nature et de la vie**  
**Département de Microbiologie**  
**Filière : Sciences biologiques**  
**Option : Microbiologie en Secteur Biomédical et Vétérinaire**



**Mémoire De Fin De Cycle**  
En Vue de L'obtention du Diplôme  
**MASTER**

**Thème**

***Etude de la résistance des souches bactériennes  
isolées de la semence humaine au niveau du  
laboratoire privé du Dr KADI Ahcène Sidi Aich***

Présenté par :

**SEDDAOUI Dyhia & SADAOUI Djamila**

Soutenu le : **15 juin 2016**

Devant le jury composé de :

M<sup>me</sup> BELHADI. K

MAA

Encadreur

M<sup>me</sup> MEZHOUD.H

MAB

Examineur

M<sup>me</sup> YAHIAOUI.H

MAA

Présidente

**Année Universitaire : 2015-2016**

## Remerciements

*Nos remerciements s'adressent d'abord aux membres de jury, la présidente Mme Yahiaoui et l'encadreur Mme Belhadi.*

*Un grand merci pour notre examinatrice M<sup>me</sup> MEZHOUD H. pour sa patience, ses encouragements et ses nombreux conseils. Elle mérite toute notre gratitude et occupe une place majeure dans l'accomplissement de ce travail.*

*Nous remercions également le Dr. Kadi A. ainsi que tous les membres de son laboratoire pour leur hospitalité, en particulier Meriem, Rosa et Khadidja pour nous avoir permis de mener à bien nos analyses.*

*Merci à Mme. SEDDAOUI F. pour nous avoir conseillées et soutenues durant la réalisation de ce travail.*

*Nous adressons également un grand merci au Professeur IGUER OUADA M. pour sa disponibilité et pour nous avoir fait bénéficier de sa connaissance et de sa bonne humeur.*

*Enfin, nous tenons à remercier tous nos enseignants qui ont su nous former durant cinq merveilleuses années à l'université, ainsi que tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à l'accomplissement de notre travail de recherche.*

## *Dédicaces I*

*Je dédie ce travail à mes chers parents Mr. et Mme. SADAoui qui m'ont soutenue tout au long de ma vie.*

*A mes sœurs : Zahia et son mari Brahim ainsi que leur bébé adoré Wassim, Assia la plus sage et Saida notre cadette ainsi qu'à Dyhia ma binome et mon sœur.*

*A mon unique frère Adel*

*A mes chers grands parents.*

*A mes tantes, mes oncles et leurs enfants.*

*A mes amies Hamza, Leila, Karima, Blanche, Yasmina et Yasmina.*

*A la personne que ne j'oublie jamais Meriem qui m'a aidée durant ce travail.*

**-Djamila-**

## *Dédicaces II*

*Je dédie ce travail à mes chers parents Mr. et Mme. SEDDAOUI pour leur immense amour et leur soutien dans tout ce que j'ai pu entreprendre*

*A mes sœurs : Djida, Nacera, Soraya, Katia et leurs maris ainsi qu'à ma petite sœur Zahra.*

*A mon unique frère Said celui qui m'a toujours poussée a travaillé dur que dieu te garde.*

*A Djamila ma binôme et ma sœur avec laquelle j'ai pu partager de merveilleux moments durant toute ma formation universitaire.*

*A toutes mes petites nièces et mes neveux*

*A mes amies Nesrine, Yasmina, Leila, Karima et Ounissa.*

*A mon cher et bien aimé Toufik mon fiancé, mon frère, mon prof que dieu le garde.*

*A toute ma belle famille.*

**-Dyhia-**

## Liste des figures :

**Figure 1 :** Protocol des étapes d'enrichissement et d'isolement des échantillons.

**Figure 2 :** Répartition de la population par âge des patients.

**Figure 3 :** Répartition du résultat du spermogramme en fonction de tranches d'âge.

**Figure 4 :** Représentation graphique en secteur des résultats de la spermoculture.

**Figure 5 :** Représentation des résultats du spermogramme en fonction du résultat de la spermoculture.

**Figure 6 :** Taux de résistance aux antibiotiques.

**Figure 7 :** Image de synergie chez une souche de *serratia sp.*

**Figure 8 :** Impact de bactéries sensibles ou résistantes aux antibiotiques sur la motilité et la viabilité spermatique.

**Figure 9 :** Impact de bactéries sensibles ou résistantes aux antibiotiques sur le volume et le pH spermatique.

## **Abréviations :**

- a :** Mobilité progressive rapide.
- AMC :** Amoxicilline-acide clavulanique.
- ATB :** Antibiotique.
- ASA :** Anticorps anti spermatozoides.
- b :** Mobilité progressive lent.
- BCP :** Gélose lactosé bromocrésol pourpre.
- BLSE :**  $\beta$  -lactamase à spectre élargi.
- CLSI :** Clinical and Laboratory Standards Institute.
- CTX :** Céfotaxime.
- C3G :** Céphalosporine de 3<sup>ème</sup> génération.
- DD- test:** Double disc test.
- D.O :** Densité optique.
- DS :** Déviation standard.
- EUCAST:** European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.
- I :** Intermédiaire.
- IL-1a :** Interleukines a
- IL-1b :** Interleukine b.
- IgA :** Immunoglobuline A.
- IgG :** Immunoglobuline G.
- KPC :** Klebsiella pneumoniae productrice de carbapénèmase.
- MC :** Milieu de culture.
- nm :** Nanomètre.
- OMS :** Organisation mondial de la santé.

- Oligo :** Oligospermie.
- R :** Résistant.
- ROS :** Radicaux libres oxygénés
- S :** Sensible.
- TNF-a :** Interférents -a.
- UFC:** Unité formant colonies.
- VRBG:** Gélose lactosé bilié au cristal violet et au rouge neutre.

# **INTRODUCTION**



Le sperme entier est une suspension de spermatozoïdes dans un milieu liquide nommé le plasma séminal. Les spermatozoïdes sont produits par les testicules et le plasma séminal par les glandes annexes (OMS, 1965). Le sperme est donc physiologiquement stérile. Les paramètres spermatiques peuvent être définis à partir d'un examen appelé spermogramme. Ce dernier inclut : le volume, le pH, la numération de spermatozoïdes par éjaculat et par mL, les formes atypiques, les leucocytes, les cellules rondes, la présence d'agglutinats et la mobilité (Grizar et Jimenez, 1997).

La capacité de reproduction des mammifères peut être modifiée sous l'influence d'états pathologiques provoqués par diverses infections de l'appareil génital mâle ou femelle. Les états pathologiques de l'appareil génital mâle peuvent entraîner : soit une stérilité par troubles de la spermatogenèse, l'obstruction des voies spermatiques, des altérations de la fonction spermatique du sperme à la suite de certaines infections (OMS, 1965).

La contamination du tractus génital, se fait par voie ascendante par la flore transmise lors du rapport sexuel et ayant passé le cap de l'urètre (*streptocoques B, Gardnerella, corynébactéries, Trichomonas, gonocoques, chlamydiae*) et par voie urinaire, cutanéomuqueuse, entérique et exceptionnellement par voie hématogène ou lymphogène (*streptocoques, coliformes, Haemophilus, Ureaplasma, staphylocoques, corynébactéries*) (Askienazy-Elbhar, 2005). Si les infections de la partie inférieure du tractus génital (urètre) ne sont pas traitées, dans ce cas, elles peuvent remonter par le canal déférent (conduite qui livre passage au sperme) vers les parties supérieures du tractus génital (épididyme et testicules, situés dans le scrotum où est produit le sperme).

Les infections de l'appareil reproducteur mâle peuvent inclure l'infection de la prostate (prostatite), de l'épididyme (épididymite), ou du testicule (orchite). Les infections du tractus génital supérieur bloquent parfois une partie ou l'intégralité des conduits du sperme et causent des problèmes au niveau de la production du sperme. Cela peut être à l'origine de faibles numérations de spermatozoïdes ou d'un sperme anormal, contribuant à la stérilité chez l'homme (Rowe et al., 2000).

Les infections masculines qui présentent un risque d'infertilité peuvent être aiguës en agissant sur la fécondance par les lésions épithéliales qu'elles provoquent, par la modification de composition du plasma séminal, favorisée par les germes, les leucocytes et/ou les anticorps anti spermatozoïdes. Les anticorps anti spermatozoïdes sont plus fréquemment détectés dans

la population masculine avec antécédents infectieux. Les lésions épithéliales au niveau de l'épididyme sont rarement compensées par une multiplication cellulaire réparatrice car l'activité mitotique de ces cellules s'arrête après la puberté. Ces lésions épithéliales modifient la sécrétion et la réabsorption liquidienne entraînant des oligozoospermies sévères. A contrario, au niveau des vésicules séminales et de la prostate, l'épithélium se régénère normalement après une infection.

Les infections masculines peuvent également être chroniques : tout processus inflammatoire chronique généré par les toxines bactériennes et les cytokines entraîne des scléroses des voies génitales, par fibrose des conduits avec obstruction canalaire secondaire ou des stases diminuant le nombre et/ou la mobilité et/ou la vitalité des spermatozoïdes dans l'éjaculat (oligo-asthénozoospermie, nécrozoospermie).

Les microorganismes infectieux provoquent des lésions tissulaires (épithélium et tissu conjonctif sous-jacent) soit directement, soit par l'intermédiaire de leurs produits de sécrétion. L'inflammation résulte aussi du nombre de leucocytes activés et des cytokines qu'ils sécrètent. Les radicaux libres oxygénés (ROS) libérés par ces cellules sont actuellement considérés comme une source d'altération membranaire et nucléaire des spermatozoïdes. Ces radicaux libres pourraient avoir des effets délétères sur toute cellule constitutive des épithéliums des différents organes de l'appareil génital masculin (Tremellen *et al.*, 2008).

L'infection des voies génitales est la cause la plus fréquente de l'infertilité masculine. Elle affecte non seulement la fonction des cellules du sperme, mais l'ensemble de la spermatogenèse (Henkel et schill, 1998 ; Urata *et al.*, 2001; Sanocka *et al.*, 2004). L'effet des bactéries sur la qualité du sperme est non négligeable, de ce fait un examen cyto-bactériologique sera la première intention pour le couple (Bouya *et al.*, 2015). L'examen permet d'évaluer le retentissement morphologique et fonctionnel de la bactériospermie sur les spermatozoïdes et de contribuer au diagnostic d'une infection génitale des glandes annexes masculines. Les bactériospermies pathogènes peuvent retentir à des degrés divers sur la spermatogenèse, la maturation spermatique, le transport des spermatozoïdes, les fonctions migratrices et fécondantes du spermatozoïde (Keck *et al.*, 1998).

Les souches bactériennes pathologiquement présentes dans le sperme peuvent agir directement sur les cellules du sperme. La concentration décroissante en sperme, la perte de motilité, les changements morphologiques du sperme, et l'affaiblissement des réactions acrosome sont les changements les plus fréquents indiqués dans les spermatozoïdes

attribuables aux bactéries en conditions *in vivo* et *in vitro*. La plupart des données concernent les agents causatifs bien connus des infections urogénitales telles que : les *Escherichia coli*, *Staphylocoque doré*, *Enterocoque faecalis*, *Ureaplasma urealyticum*, *mycoplasma hominis* et *Chlamydia trachomatis* (Jackson et Fowler, 1981).

Pendant l'infection bactérienne du sperme, la motilité du sperme et la perte de sa morphologie normale peuvent être des conséquences des phénomènes d'adhérence et de l'agglutinement du sperme. La surface du sperme est riche en glycoprotéines et est ainsi susceptible de provoquer des interactions entre spermatozoïdes et bactéries au niveau de récepteur-ligand (Monga, 1994).

*E. coli* est connue par sa capacité qui immobilise et endommage la morphologie des spermatozoïdes par le contact direct, et cela en présence d'organelles d'attachement telles que les pili et des interactions Récepteur-dépendante de mannose (Agarwal et al., 2012).

Le pouvoir pathogène d'*E.coli* sur les spermatozoïdes s'exprime essentiellement par des phénomènes d'adhésion (adhésine d'*E.coli* / récepteur saccharidique spermatique) induisant une agglutination des spermatozoïdes et une diminution de la mobilité spermatique voire une asthénospermie (Monga et al., 1994). De plus *E.coli* contient des facteurs d'immobilisations spermatiques (Prabha et al., 2010). La mise en contact de cette bactérie avec les spermatozoïdes induit une diminution de la mobilité spermatique (asthénospermie) par altération de la membrane plasmique (Diemer et al., 2000) et induit aussi l'apparition de vacuoles cytoplasmiques et des altérations de la fonction acrosomale (Prabha et al., 2010). Les facteurs solubles d'*E.coli* jouent un rôle dans la pathogénicité de la bactérie induisant une diminution de la mobilité et la vitalité spermatique (Schulz et al., 2010).

*Corynebacterium seminale* : Il est admis que *C. seminale* peut être impliqué dans certaines prostatites chroniques ou être présent à l'état commensal chez l'homme et serait parfois responsable d'une réduction de la mobilité des spermatozoïdes (Turk et al., 2007).

*Streptococcus spp* : Selon Moretti (2009), l'*Enterococcus faecalis* aurait un impact négatif sur la mobilité et la morphologie spermatique (Moretti, 2009).

*Staphylococcus aureus* : *S. aureus* serait responsable d'une agglutination et d'une immobilisation des spermatozoïdes, causée par la sécrétion d'un facteur d'immobilisation de nature probablement protéique (Ohri et al., 2005).

*Gardanella vaginalis* : Selon certains auteurs, *G. vaginalis* n'aurait pas d'impact sur les paramètres spermatiques (Andrade-Rocha, 2009). Mais pour d'autres, au seuil de 10<sup>3</sup> UFC/mL, la présence de *G. vaginalis* serait corrélée à la présence d'une leucospermie et la bactérie serait associée à une altération des principaux paramètres spermatiques (concentration, mobilité et morphologie spermatiques) en comparaison avec des patients témoins (Francesco et al., 2011).

*Neisseria gonorrhoeae* : Cette bactérie est connue par sa capacité de provoquer l'urétrite, cette dernière est rarement compliquée par des infections d'autres parties du tractus génital, notamment les testicules, ce qui pourrait nuire la fertilité masculine (Hughes et Fenton 2000). La production des Cytokines IL-1a, IL-1b et TNF-a- produites par les cellules épithéliales provoquée par *N.gonorrhoeae*, pourrait contribuer à la genèse de l'infertilité provoquée par les gonocoques (Maisey et al., 2003). Le gonocoque et *N. catarrhalis*, espèces sexuellement transmissibles, sont systématiquement recherchées, identifiées et soumises à la recherche de pénicillinase et à la résistance aux antibiotiques. Leur prévalence est faible (Askienazy-Elbhar, 2005).

*Chlamydia trachomatis* : Chez l'homme *C.trachomatis* peut causer une épидидymite – orchite, prostatite et une obstruction des voies du sperme, de cette façon altérant la fertilité masculine. Bien que beaucoup d'hommes infectés restent asymptomatique (Motrich et al., 2006). L'incubation des *C.trachomatis* avec les spermatozoïdes de l'homme *in vitro* cause une altération de la mobilité et la mort prématuré des spermatozoïdes (Eley et al., 2005). Les études *in vivo* ne montrent aucune relation entre la présence des IgA ou des IgG sériques dans le sperme dirigés contre *C.trachomatis* et l'altération des paramètres spermatiques (PennaVideau et al., 2001 ; Vigil et al., 2002). Il est prouvé que l'infection par *C.trachomatis* est liée à la production des anticorps anti sperme (ASA) (Witkin et al., 1995).

*Mycoplasme* : (*U. urealyticum*, *M. hominis* et moins fréquemment *U. parvum* ou *M. genitalium*). L'impact de ces bactéries sur les spermatozoïdes est discuté, alors que ces bactéries peuvent être commensales du tractus génital masculin à l'état normal (Purvis et al., 1993). La présence de *M. hominis* dans le sperme diminue la concentration spermatique, de la mobilité spermatique et du pourcentage de spermatozoïdes normaux (Gdoura et al., 2007). La présence d'*U. urealyticum* dans le sperme possède un impact négatif sur la numération, la mobilité et la morphologie spermatiques (Moretti et al., 2009).

La prise en charge des bacteriospermies pathogènes ou des contaminations spermatiques (flore polymorphe) débute par des mesures d'hygiène simples destinées à diminuer la concentration des germes présent en premier lieu puis passer à une antibiothérapie si nécessaire. Une antibiothérapie adaptée au germe et à l'antibiogramme. Le prescripteur veillera à choisir une classe d'antibiotiques possédant une bonne diffusion au niveau du tractus génital masculin et à adapter l'antibiothérapie à l'antibiogramme. Les antibiotiques administrables par voie orale sont les fluoroquinolones, les cyclines, l'association sulfaméthoxazole-triméthoprime et certains macrolides (érythromycine, azithromycine) (Courcol, 2010).

Le traitement par antibiotiques peut avoir des effets délétères propres sur la spermatogénèse, les paramètres spermatiques et les fonctions spermatiques de l'homme (Schlegel et al., 1991). Une antibiothérapie peut aussi induire la sélection d'autres espèces bactériennes ou la sélection, à long terme, d'espèces résistantes aux antibiotiques.

Depuis de nombreuses années déjà, la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération ne cesse de se renforcer notamment par l'acquisition de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE). De nombreuses recherches ont démontrées la progression continue à l'échelle mondiale de ce type de résistance (Coque et al., 2008).

Les  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) ont été décrites pour la première fois en 1983 (Kliece et al., 1985), et sont des enzymes plasmidiques, appartenant à la classe A de Ambler, qui confèrent une résistance à toutes les pénicillines, aux céphalosporines de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> génération et à au moins une céphalosporine de 3/4<sup>ème</sup> génération (C3/4G) ou à l'aztréonam (Robin et al., 2012)

Nous savons déjà que les BLSE sont définies comme des enzymes appartenant à la classe A (À l'exception des BLSE de type OXA classe D) de la classification d'Ambler, capables d'hydrolyser les pénicillines, céphalosporines de première, deuxième, troisième et quatrième génération (céfépime ou cefpirome) et l'aztréonam. Elles sont inhibées in vitro par les inhibiteurs des  $\beta$ -lactamases (acide clavulanique, tazobactam et sulbactam) (Livermore, 1995). Par contre, les BLSE sont sensibles aux céphamycines (céfotétan et cefoxitine) ainsi qu'aux carbapénèmes. Une co-résistance avec les aminosides, les tétracyclines et les fluoroquinolones est fréquente. Les bactéries possédant des BLSE sont dites multirésistantes (Paterson et Bonomo, 2005).

Par ailleurs, notre recherche s'intitule : « Etude de la résistance aux antibiotiques de souches bactériennes isolées de la semence humaine ». Nous nous interrogeons sur la résistance que peuvent développer certaines bactéries dans la semence humaine vis-à-vis des antibiotiques. Pour répondre à notre question, nous avons recueilli des données et des prélèvements que nous avons analysés et répertoriés en fonction des résultats observés.

## **Matériel et méthodes**

## **1. Présentation de l'organisme d'accueil :**

Le laboratoire d'analyses médicales privé du docteur KADI (Médecin biologiste), est situé à la Rue BESSAM AARAB Sidi Aïch –Bejaia. Le laboratoire dispose de trois salles de prélèvement pour l'accueil des patients. Il est doté de matériels très sophistiqués (VITEK pour l'identification bactérienne et antibiogramme, ARCHITECT plus pour la sérologie, immunologie et biochimie, ....) pour assurer la fiabilité des résultats. Son activité est la réalisation d'analyses médicales biologiques dans les disciplines suivantes : Biochimie, bactériologie, hématologie, immunologie, parasitologie, sérologie et hormonologie. Son personnel est composé de 20 employés parmi eux des biologistes, biochimistes et techniciens qui collaborent pour assurer la qualité de réalisation des analyses. Donc, des résultats fiables dans des meilleurs délais.

## **2. Recueil de données :**

Il s'agit d'une étude prospective menée sur une période allant du 27/02/2016 au 08/05/2016. Cette étude a inclus des patients du sexe masculin consultant pour un problème d'infertilité ou d'infection des voies génitales. A cet effet, les données concernant l'âge, le motif de consultation, âge de puberté, angines ou acnés durant l'enfance, date de mariage , date de naissance du premier enfant, type d'infertilité, infection urinaire du patient et de son conjoint, l'hospitalisation et l'antibiothérapie antérieures... etc. Sont notées dans un formulaire (Annexe I).

## **3. Prélèvements :**

Le recueil du sperme s'effectue après une absence d'éjaculation ou abstinence sexuelle de 3 à 4 jours idéalement au niveau du laboratoire et obligatoirement dans un flacon stérile (le réceptacle). Si exceptionnellement, le recueil se fait à domicile, le prélèvement doit être maintenu à une température de 20 à 30 °C et apporté au laboratoire dans la demi-heure qui suit le prélèvement (EI-Hamzaoui et Dikoumba, 2004). Ce recueil est réalisé après vidange vésicale totale qui permet d'éliminer les contaminants ou les germes éventuellement responsables d'urétrite.

Pour avoir l'origine de cette infection ; les urines des patients sont également récupérées dans des flacons stérile au cours de cette étude. Il est à noter qu'une toilette complète et soigneuse du méat, du gland, du sillon balano-préputialet du prépuce, ainsi que des mains, au savon antiseptique et à l'eau chaude sont effectués avant prélèvement. Le sperme,



normalement épais et visqueux, est mis à liquéfier 30 à 60 minutes à 37 °C puis traité après homogénéisation.

## 4. Analyse du sperme :

### 4.1. Analyses macroscopiques :

Elles sont réalisées pour nous donner une vision sur la qualité du sperme, telles que l'aspect, la couleur, l'odeur, le volume, le pH, la viscosité et la présence des flocculats.

- **Le volume** : est mesuré à l'aide d'une seringue calibrée et doit être compris entre 2 et 6 mL.
- **pH** : est mesuré à l'aide d'un papier indicateur de pH sur lequel on dépose une goutte de sperme, il est compris entre 7,2 et 8.
- **La viscosité** : elle nous donne une pré-estimation sur la mobilité des spermatozoïdes. La viscosité du sperme doit diminuer spontanément à partir de 30 minutes après la réalisation du prélèvement.

### 4.2. Analyses microscopiques :( analyse des cellules vivantes)

a) **La mobilité** : après avoir bien mélanger le sperme, on va réaliser un examen direct entre lame et lamelle. On dépose une goutte de 10 $\mu$ L du sperme sous microscope optique à faible grossissement ( $\times 40$ ), afin d'estimer le pourcentage des spermatozoïdes mobiles et vivants. Pour dire que le sperme est normal, il faut un pourcentage de spermatozoïdes à mobilité progressive rapides(a) et lent(b) soit supérieure à 50 %. Si la mobilité est normale, elle va nous orienter vers d'autres examens tels que la numération des spermatozoïdes.

b) **La numération** : on dépose 20 $\mu$ L du sperme dans un tube, on ajoute un volume de 380 mL d'eau afin d'immobiliser les spermatozoïdes. On mélange le tout et à l'aide d'une micropipette on en prend une goutte et on l'a dépose sur une cellule de malassez (hématimètre un quadrillage de 25 rectangles contenant eux-mêmes 20 petits carrés). On compte le nombre de cellules dans 10 carrés quadrillés, le volume d'un carré quadrillé étant de 0.01 $\mu$ L. Il suffit de multiplier le résultat par 10000 pour obtenir le nombre de cellules par mL. pour trouver le nombre dans l'éjaculat, on va multiplier le résultat par le volume total de l'éjaculat.

On dit que la numération est normale si le nombre de spermatozoïdes par mL est supérieur ou égal à 20 millions. Les mêmes étapes sont suivies pour la numération des cellules rondes.

- c) **La vitalité :** c'est le pourcentage des spermatozoïdes vivants. Elle est évaluée à l'aide d'un colorant vital l'éosine-negrosine. Une goutte de 10  $\mu$ L du sperme est ajoutée à 20  $\mu$ L de negrosine (pour colorer le fond de la lame) et on ajoute une goutte de 10  $\mu$ L d'éosine (pour la coloration des spermatozoïdes morts). On réalise un frottis et à l'aide d'un compteur cellulaire on compte 100 spermatozoïdes sur différents champs du frottis et on évalue le pourcentage de ceux qui sont mort « roses » ou vivants « blancs ».
- d) **Spermocytogramme :** C'est une analyse morphologique des spermatozoïdes dans laquelle on prépare un frottis, 10 $\mu$ L du sperme dans une lame, après la fixation on réalise une coloration de GIEMSA. Cette analyse détecte les anomalies de la tête, de la pièce intermédiaire et flagellaire. Il peut exister plusieurs anomalies sur le même spermatozoïde, y compris les leucocytes. Si on a 30% de formes normales, on dit que les spermatozoïdes sont de bonne qualité.

## 5. Mise en culture :

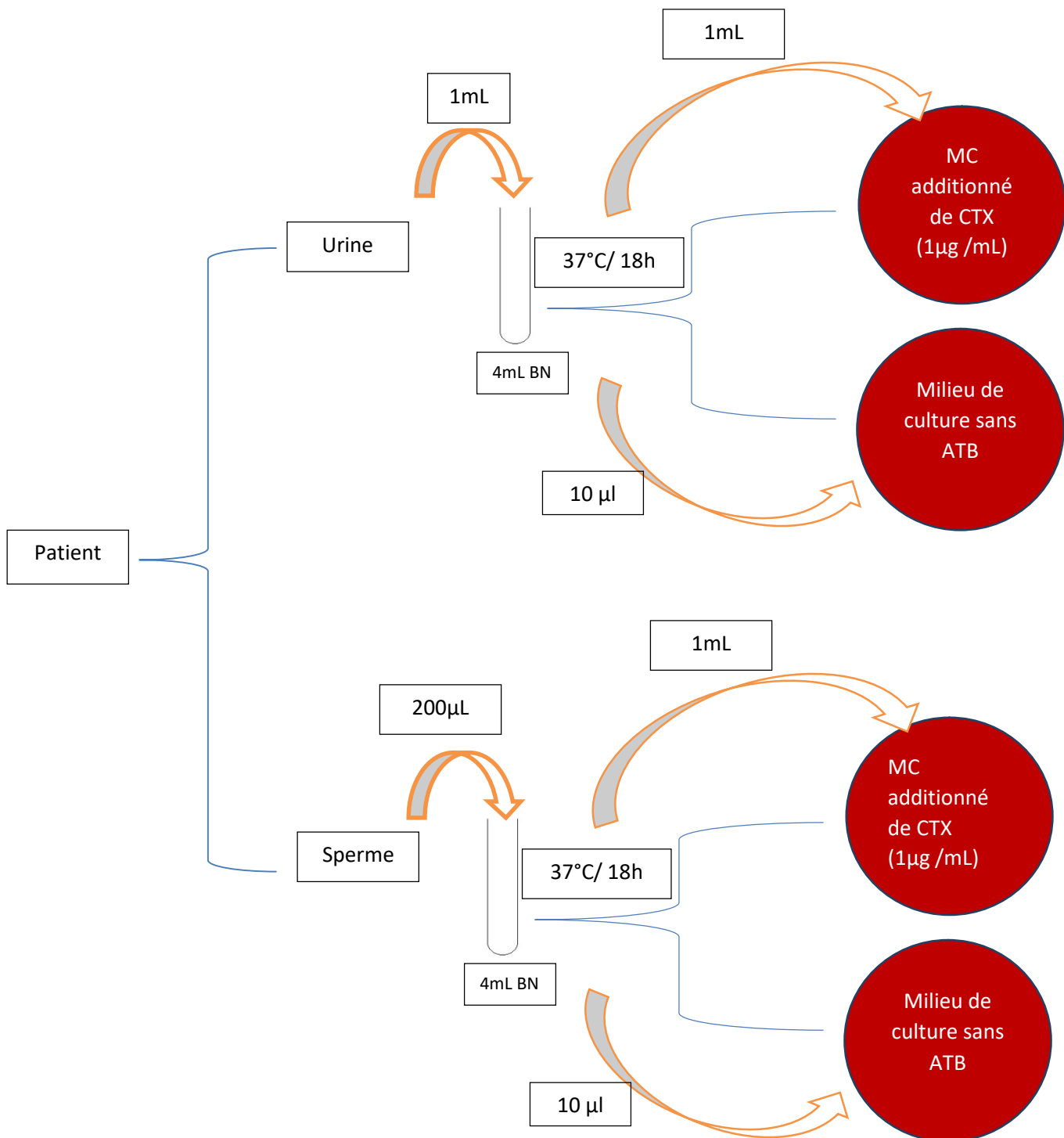
### 5.1. Enrichissement :

Afin d'enrichir les 200  $\mu$ L du sperme et 1 mL d'urines, nous les mettons dans des tubes de bouillon nutritif, ces derniers sont ensuite incubés à 37°C pour une nuit.

### 5.2. Isolement :

Après enrichissement, pour chaque échantillon, une boîte de milieu sélectif de bactéries à Gram négatif (Macconky, Drygalski, BCP, VRBG, selon leur disponibilité), sans addition d'antibiotique, estensemencée par environ 10 $\mu$ L du bouillon nutritif (une anse), par la technique d'épuisement. D'autre part, une boîte additionnée de 1 $\mu$ g/mL de céfotaxime, estensemencée par 1mL du bouillon nutritif. Les boîtes sont ainsi incubées à 37°C pour 18 à 24h (annexe II).

La figure N°1 récapitule les étapes d'enrichissement et d'isolement à partir de chaque échantillon.



**Figure N°1 :** Protocol des étapes d'enrichissement et d'isolement des échantillons.

### 5.3. Identification :

Après incubation, l'aspect des colonies ayant poussé sur le milieu de culture utilisé est examiné. Si la culture est polymicrobienne, des repiquages successifs sont réalisés afin de purifier les souches isolées. L'identification des souches est par la suite réalisée par des galeries API20E (Biomérieux).

### 6. Antibiogramme standard :

Toutes les souches d'entérobactéries obtenues à partir des trois types d'isolement ont fait l'objet d'un test de sensibilité aux antibiotiques par antibiogramme standard. L'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton est réalisé selon les recommandations de CLSI vétérinaire (2013).

#### \* Milieu :

Gélose Mueller Hinton d'une épaisseur de 4 mm (20 mL) est utilisée.

#### \* Inoculum :

A partir d'une culture pure de 18-24h sur milieu d'isolement, des colonies bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées à l'aide d'une anse, puis déchargées dans 5 mL d'eau physiologique stérile à 0,9% et bien homogénéisée afin d'obtenir une opacité équivalente à 0,5 Mc Farland ou à une D.O de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm ( $10^8$  UFC/mL).

#### \* Ensemencement :

Un écouvillon stérile est imbibé dans la suspension bactérienne diluée au 1/10, puis essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de décharger le maximum. Ensuite, l'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées. L'opération est répétée deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et passant sur la périphérie de la gélose. Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Petri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

#### \* Application des disques d'antibiotiques :

Chaque disque d'antibiotique est déposé à l'aide d'une pince afin de s'assurer de son application (annexe III).

Après incubation à 37°C pour 18h, les diamètres des zones d'inhibition sont interprétés en sensible (S), intermédiaire (I) ou résistant (R). Il est à noter que les diamètres des zones d'inhibition sont interprétés selon les critères définis par CSFM (2015), à l'exception de ceftiofure, antibiotiques à usage non vétérinaire.

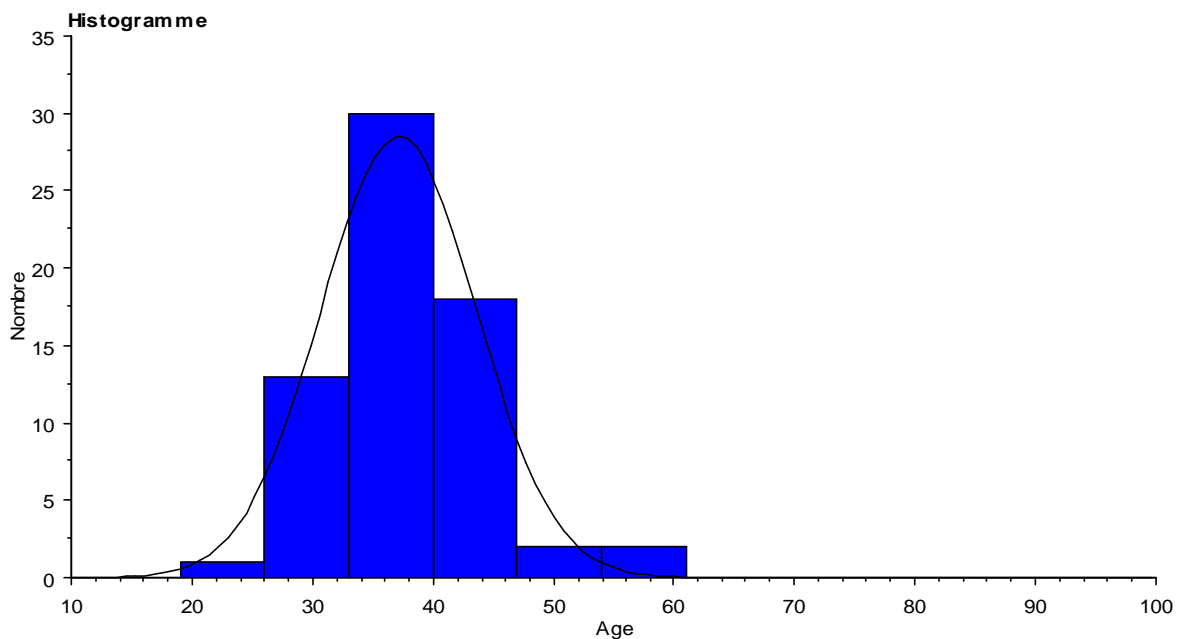
### **7. Recherche de $\beta$ -lactamases à Spectre Elargie (BLSE) par *DD- test (Test de synergie)* :**

La production d'une  $\beta$ -lactamase à spectre élargi a été détectée par l'épreuve de la synergie qui consiste à placer des disques de céphalosporine de troisième génération C3G (ceftiofur) et de quatrième génération (céfepime) (30  $\mu$ g chacun) à une distance de 20mm (centre à centre) d'un disque d'augmentin (amoxicilline/clavulanate) (20/10  $\mu$ g). L'augmentation de la zone d'inhibition entre le disque d'augmentin et les disques de céphalosporines indique la production d'une BLSE (Jarlier *et al.*, 1988).

## **Résultats et discussions**

## 1. Données épidémiologique :

Au cours de notre étude, nous avons reçu un total de 68 patients consultants pour un problème d'infertilité ou d'infection des glandes sexuelles. La répartition de cette population par âge a montré que l'âge des patients varie entre 19 à 56 ans avec une moyenne de 37 ans $\pm$ 6 ans. La **figure N°2** montre que la catégorie d'âge « 33 à 40ans » est la catégorie d'âge qui souffre le plus du problème d'infertilité. La majorité des patients sont mariés, venant pour vérification d'une stérilité primaire et la minorité pour une stérilité secondaire. L'âge de la puberté des patients est compris entre 11 et 18 ans avec une moyenne de 15ans $\pm$ 2ans. Seulement 10 patients se sont souvenus d'avoir souffert d'une acné durant leur adolescence.



**Figure N°2:** Répartition de la population par âge des patients.

## 2. Données cytologiques

### 2.1. Résultats macroscopiques :

Le volume du sperme recueilli était compris entre 0.9 mL et 9 mL avec une moyenne de 3 mL  $\pm$ 1 DS. Selon l'OMS (1999), quatre patients avaient une hypersepermie, un volume de sperme supérieur à 6 mL, l'hypospermie (<2mL) était observée chez 16 patients. Le pH moyen du sperme était de 8.3  $\pm$  0.5 DS. Un pH alcalin supérieur à 8 est observé chez 41 patients. La couleur de tous les spermes éjaculés est de couleur blanc gris sauf un échantillon qui était jaunâtre. Quant à l'odeur, aucun patient n'a présenté un sperme avec une mauvaise

odeur. La viscosité des échantillons est normale dans 88.2% des cas, 7.35% semi visqueux et 4.4% visqueux.

## 2.2. Résultats microscopiques :

**a) Le nombre de spermatozoïdes par mL :** Au cours de cette étude, le nombre de spermatozoïdes est compris entre [0.12 -345.6 millions/mL] avec une moyenne de  $81.6 \pm 68.2$  millions DS. Selon l'OMS, le nombre normal de spermatozoïdes doit être supérieur à 20millions/mL. De ce fait, seulement 11 patients sont oligospermiques (0-20 millions/mL), 5 d'entre eux ont une oligospermie sévère (<5millions/mL) et un patient est caractérisé comme étant polyspermique (>200mL).

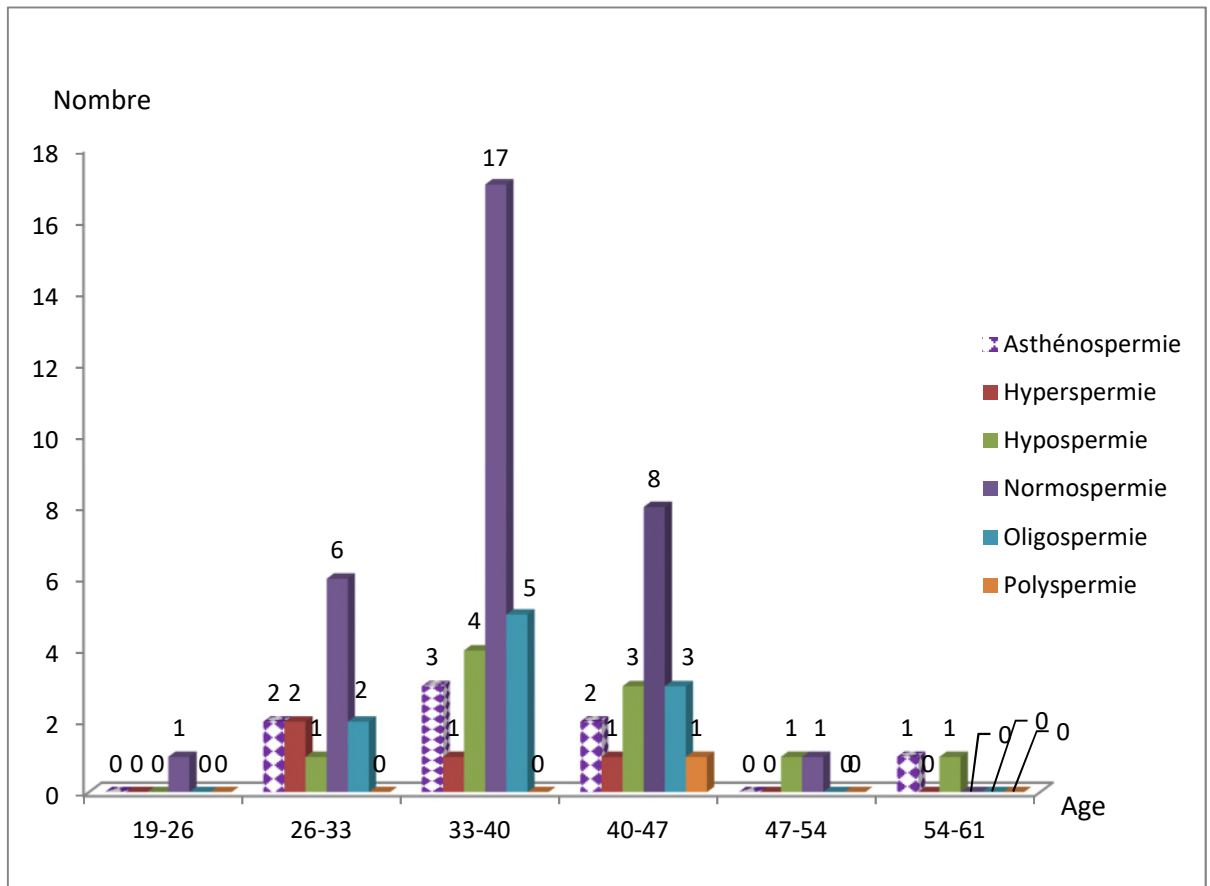
**b) La mobilité :** la mobilité des spermatozoïdes est normale chez la majorité des patients. Selon l'OMS, la mobilité est normale si la mobilité progressive de type a+b des spermatozoïdes est supérieur ou égale à 50%. De ce fait, 17 patients sont asthénosphériques (<50%).

**c) La viabilité :** Si l'on part du fait que la viabilité normale des spermatozoïdes doit être supérieure à 60% (OMS, 1999), on conclue que 43 patients ont des spermatozoïdes vivants, le reste des patients ont un nombre de spermatozoïdes inférieur à 60% et ces derniers ont un nombre très faible de spermatozoïdes par mL.

**d) Les spermatozoïdes normaux :** Selon l'OMS, la morphologie normale des spermatozoïdes doit être supérieure à 30%, celle-ci est détériorée dans la totalité de nos échantillons (< à 30%).

En conclusion, les résultats du spermogramme (**figure 3**) nous montrent que la normospermie est présente chez 33 patients de toutes les catégories d'âge, excepté celle des personnes âgées de plus de 54 ans. Les anomalies du sperme les plus fréquemment rencontrées au cours de cette étude étaient l'oligospermie et l'hypospermie notamment chez la catégorie des personnes âgées de 33 ans à 40 ans. L'asthénospermie est également observée chez 8 patients dont la plupart sont aussi de la catégorie d'âge « 33 à 40 ans » :





**Figure N°3 :** Répartition du résultat du spermogramme en fonction de tranches d’âge.

**e) Leucospermie:** Au cours de notre travail, nous avons trouvé 25 patients qui ont présenté une leucospermie et les résultats de spermogramme chez ces patients varient entre une normospermie, asthénospermie-oligospermie et hypospermie. Une association d’une leucospermie et bactériospermie (infection) est observée dans 16% des cas, et leurs spermogrammes varient entre une oligospermie-asthénospermie et hypospermie.

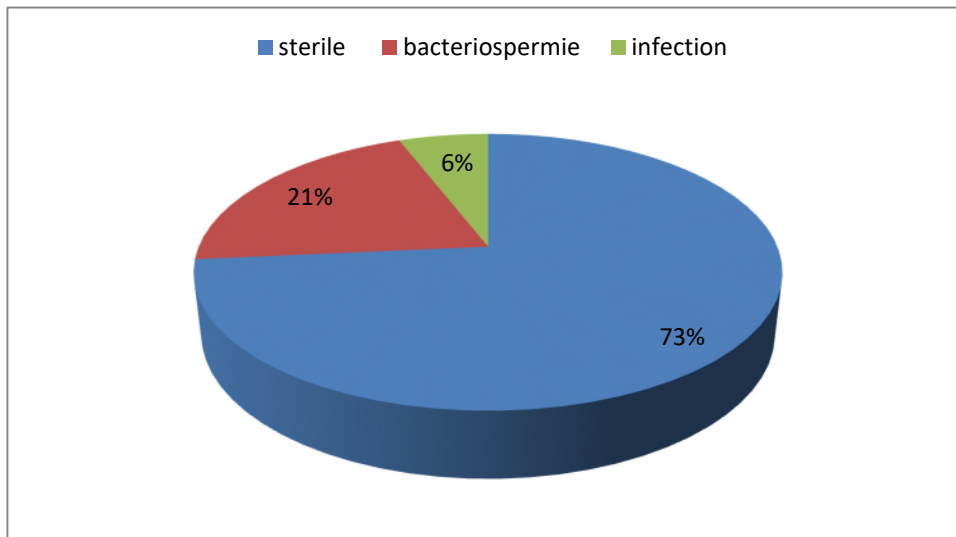
Une leucospermie qui varie entre 1% et 4% est observée chez la majorité des patients (84%). 12% des patients ont une leucospermie variant entre 4 à 14%. On remarque une valeur très élevée de leucocytes (34%) chez un seul patient. Ce dernier a une mobilité des spermatozoïdes très faible (Asthénospermie). 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 par mL (seuil considéré par tous les auteurs comme trop élevé). Des travaux récents 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).

En effet, Gonzales a trouvé une corrélation entre une asthénozoospermie, une hypofonction des vésicules séminales, et une spermoculture positive seulement lorsque celle-ci était accompagnée d'une leucospermie (Gonzales *et al.*, 1989).

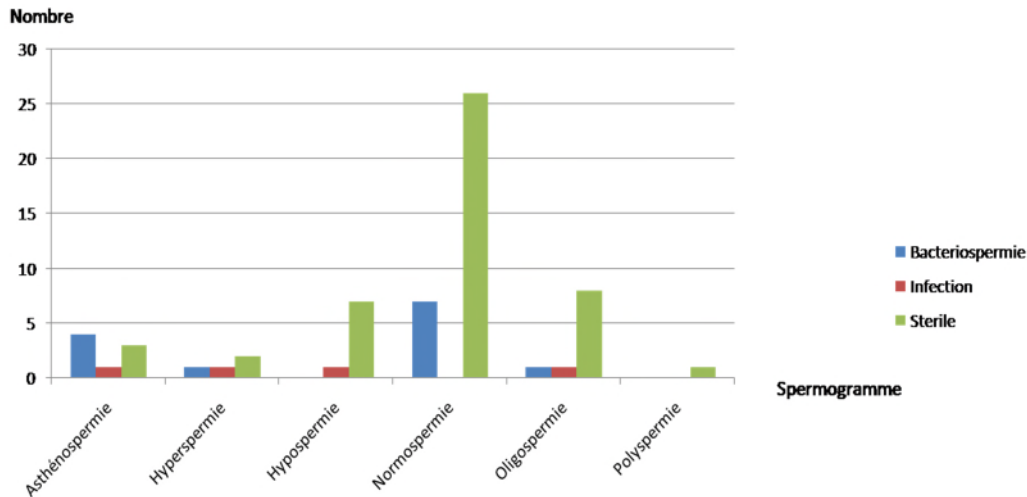
### 3. Données bactériologiques :

L'examen bactériologique (spermoculture) pour les 68 patients a révélé que 73% des patients avaient une spermoculture négative sur les milieux d'isolement utilisés, 21% possédant une bactériospermie, alors que 6% ont présenté une infection. Les résultats de la spermoculture sont montrés par la figure ci-dessous.



**Figure N°4 :** Représentation graphique en secteur des résultats de la spermoculture.

La figure ci-dessous (**figure 5**) présente les résultats du spermogramme en fonction du résultat de la spermoculture. Cette figure indique que la normospermie est souvent accompagnée d'une culture stérile mais elle peut aussi être accompagnée d'une bactériospermie (7 cas). La bactériospermie était également observée chez les patients atteints d'une asthénospermie.



Figure

**N°5 :** Représentation des résultats du spermogramme en fonction du résultat de la spermoculture.

Beaucoup d'études ont examiné 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). Au cours de notre travail, 20 souches d'entérobactéries ont été isolées dont 6 *E. coli*, 6 *Serratia sp*, 3 souches d'*Enterobacter sp*, 4 de *Klebsiella sp*, et une souche de *Citrobacter sp*.

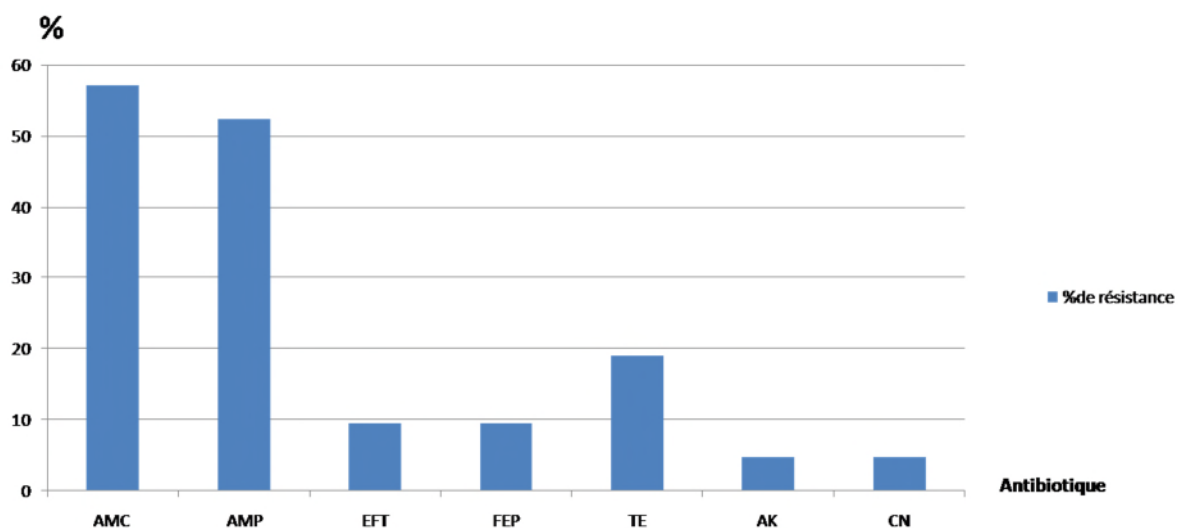
En effet, il est admis que le colibacille (*E. coli*) et l'entérocoque sont les deux aérobies endogènes les plus fréquemment trouvées dans la culture du sperme. Auroux et al. (1991) ont observé une asthénospermie associée à une oligospermie lors d'une infection expérimentale à *E. coli*, mettant en jeu des phénomènes d'adhérence dans cette infection et pas l'endotoxine. D'autres entérobactéries sont fréquemment découvertes, surtout *Proteus* et *Klebsielles*, de même origine et de même pouvoir pathogène que le colibacille (Auroux et al., 1991).

Il y a beaucoup de rapports démontrant que l'invasion bactérienne pourrait contribuer à la détérioration de la qualité du sperme qui est évidente dans l'analyse courante du sperme, particulièrement chez les hommes stériles (Sanocka et al., 2005). La concentration décroissante en sperme, la perte de motilité, les changements morphologiques du sperme (tétraspermie), sont les changements les plus fréquents indiqués dans les spermatozoïdes en contact avec la bactérie (Sanocka et al., 2005). La diminution de la mobilité, la perte de morphologie des spermatozoïdes dans un sperme infecté peuvent être des conséquences des

phénomènes d'adhérence et de l'agglutinement du sperme. La surface du sperme est riche en glycoprotéines et est ainsi susceptible aux interactions spermatozoïdes – bactéries au niveau du récepteur-ligant (Monga *et al.*, 1994).

Certains chercheurs croient que la présence de bactéries dans le sperme n'affecte pas la qualité du sperme, alors que les études *in vitro* ont montré un impact négatif (Moretti *et al.*, 2009 ; Santiago-Moreno *et al.*, 2009 ; Boitrelle *et al.*, 2012). L'impact de la bactériospermie sur les paramètres spermatiques est discuté mais, à ce jour, l'impact de la présence de bactéries résistantes aux antibiotiques sur les paramètres spermatiques reste peu étudié surtout que la résistance aux antibiotiques et la virulence bactérienne semble être deux caractéristiques antagonistes (Mezhoud *et al.*, 2015).

Au cours de la présente étude, les bactéries isolées ont fait l'objet d'un antibiogramme standard pour tester leur sensibilité aux antibiotiques. Nous avons noté des pourcentages élevés de résistance à des antibiotiques tels que l'Ampicilline (52.4%), l'Amoxicilline acide clavulanique (AMC) 57.1%. Les taux de résistance aux antibiotiques testés sont présentés par la **figure 6**. L'usage excessif de ces antibiotiques, la vente illicite dans nos régions et les mauvaises posologies pourraient expliquer en partie l'augmentation des résistances, le « sur usage » et les mauvaises indications des antibiotiques dans d'autres spécialités sont incriminées comme facteurs pouvant être responsable d'une augmentation des résistances (Hooton, 2003).



**Figure N°6** : Taux de résistance aux antibiotiques.

Au cours de notre travail, nous avons isolé une seule souche de *Serratia sp* productrice de  $\beta$ -lactamase à spectre élargi (BLSE). La production d'une BLSE a été détectée par l'épreuve de la synergie entre une céphalosporine de troisième génération (ceftiofur, ceftazidime, cefotaxime) et une AMC. La figure ci-dessous met en évidence la présence de BLSE.



**Figure N°7 :** Image de synergie chez une souche de *Serratia sp*.

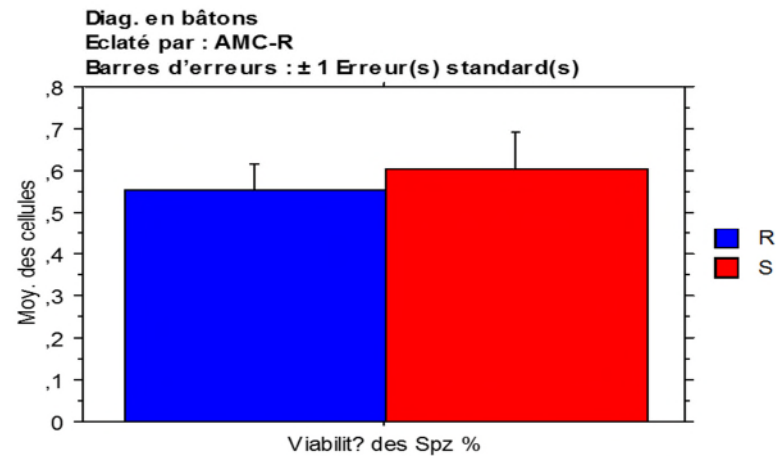
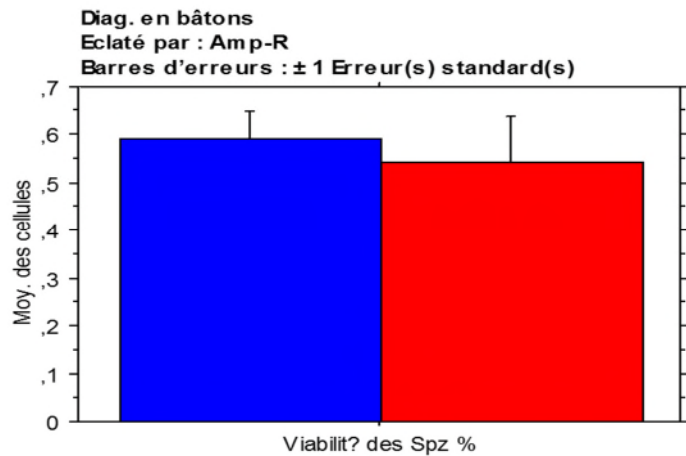
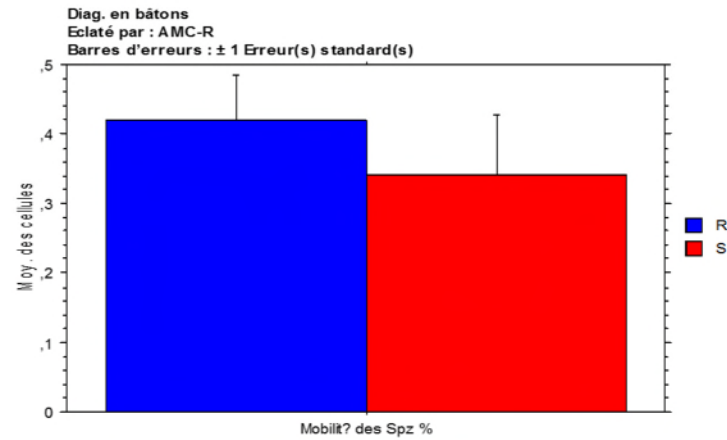
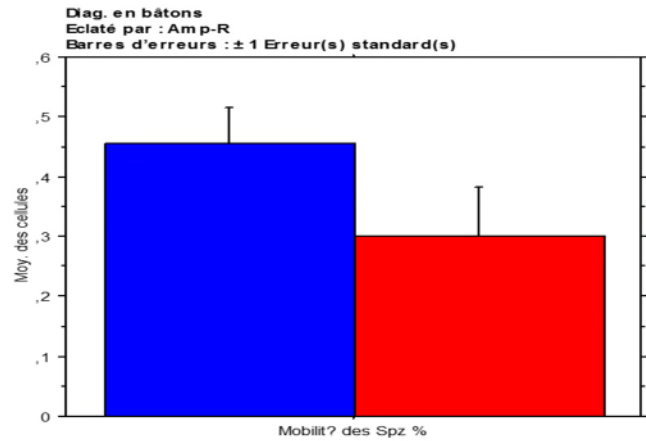
Les bactéries productrices de BLSE constituent une préoccupation majeure en milieu hospitalier ainsi qu'en communautaire en raison de leur diffusion épidémique et de leur multirésistance aux antibiotiques. En effet, les BLSE sont retrouvées chez une vaste proportion de bacilles à Gram négatif, mais les entérobactéries représentent les germes les plus incriminés (Gniadkowski, 2001).

#### **4. Impact de bactéries résistantes aux antibiotiques sur la qualité du sperme :**

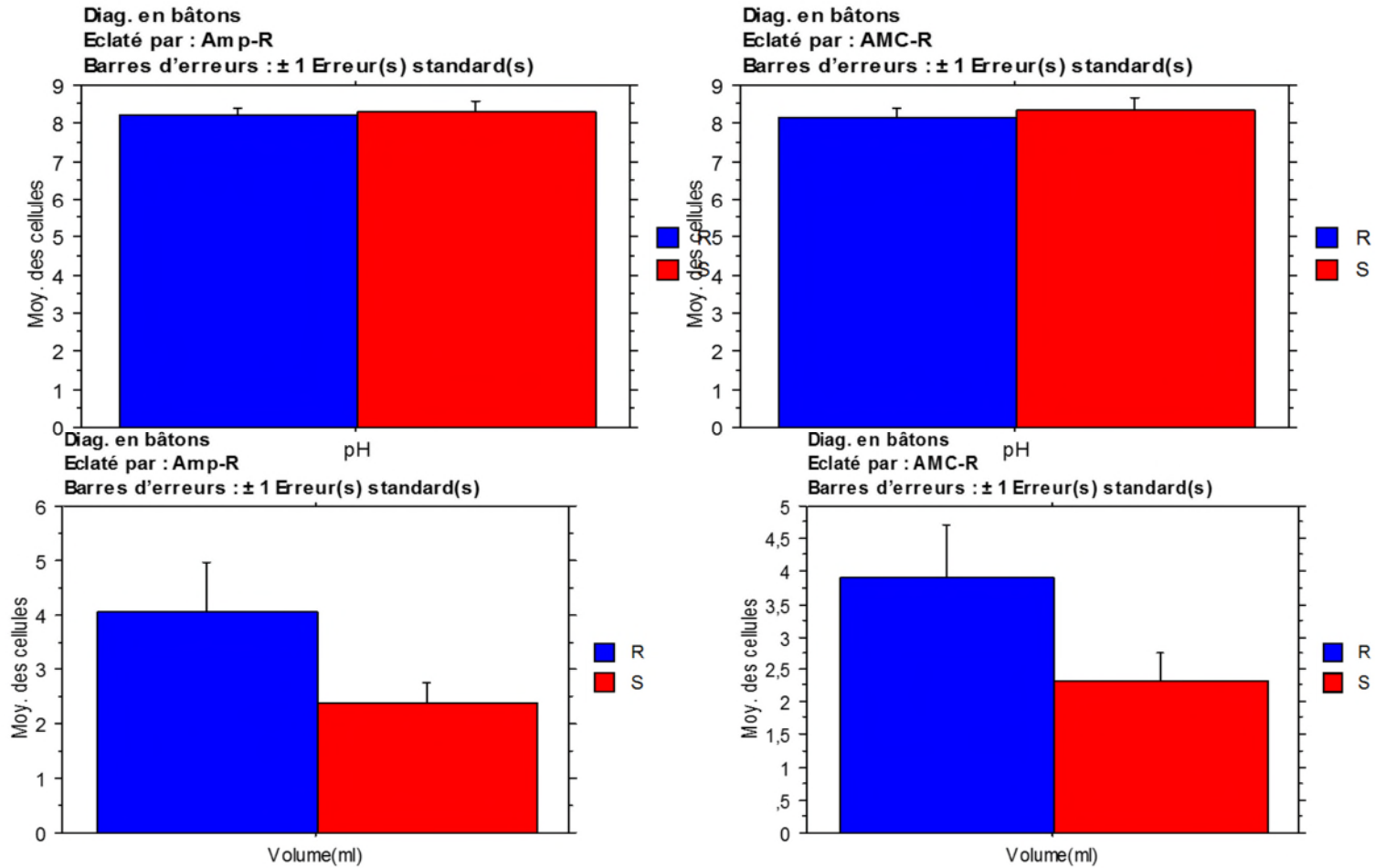
Nous voulons confirmer l'impact de bactéries résistantes aux antibiotiques sur les paramètres spermatiques tout en les comparant à l'impact de bactéries sensibles. Curieusement, la motilité spermatique (**figure 8**), la viabilité (**figure 8**) ainsi que le volume (**figure 9**) sont meilleurs dans les échantillons présentant des bactéries résistantes à

l'ampicilline comparés aux échantillons ayant des bactéries sensibles. Le même phénomène est observé lorsque ces souches sont résistantes à l'amoxicilline-acide clavulanique (AMC), à l'exception de la viabilité. Concernant le pH du sperme (**figure 9**), il semble identique en présence de bactéries sensibles ou résistantes aux antibiotiques.

La mobilité a été comparée entre un sperme contaminé avec une souche d'*E.coli* productrice de BLSE et une souche d'*E.coli* (ATCC 25922), ayant aucune résistance antimicrobienne acquise, la présence de cette dernière a diminué tous les paramètres de la mobilité (Mezhoud et al., 2015). Les résultats actuels ont montré que la mobilité du sperme n'a pas été affectée dans les échantillons inoculés avec des souches de *E. coli* productrices de BLSE c'est-à-dire des souches résistantes n'ont pas d'impact sur les paramètres spermatiques car elles sont considérées moins virulentes. Lavigne et al., (2006) ont montré que les facteurs de virulence étaient moins fréquents dans les souches productrices de BLSE par rapport aux souches d'*E.coli* non productrice de BLSE. Il a récemment été rapporté que les souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices de carbapénèmases (KPC) sont moins virulentes que la souche de *K. pneumoniae* ATCC10031 / CIP53153 cela indique que l'introduction d'un gène plasmidique bla KPC-2 diminue la virulence de la souche de référence.



**Figure 8:** Impact de bactéries sensibles ou résistantes aux antibiotiques sur la motilité et la viabilité spermatique.



**Figure 9 :** Impact de bactéries sensibles ou résistantes aux antibiotiques sur le volume et le pH spermatique.



# **Conclusion**

Au terme de cette étude, nous avons isolés 20 souches d'entérobactéries des échantillons du sperme des 68 patients. Ce travail, réalisé de façon prospective sur une période de deux mois dans un laboratoire d'analyses médicales privé, avait pour objectif de rechercher des bactéries résistantes dans le sperme et leur impact sur la qualité du sperme. De ce fait, nous avons réalisé un spermogramme pour évaluer les paramètres spermatiques d'une part et une spermoculture suivie d'un antibiogramme pour la mise en évidence des bactéries résistantes d'autre part.

L'effet des bactéries sur la qualité du sperme est non négligeable si le taux de ces derniers est élevé. L'infection de l'appareil génital masculin peut agir à quatre niveaux pour altérer la fertilité masculine: action directe des germes sur les spermatozoïdes, action des leucocytes de la réaction inflammatoire sur les spermatozoïdes, atteinte des voies séminales.

La contamination par cette bactérie peut être évitée grâce à une bonne hygiène.

Nous avons conclu durant notre travail que la présence de bactéries dans la semence humaine pourrait influencer les paramètres spermatiques. Nous avons, par ailleurs, remarqué que la présence de bactéries résistantes affecte moins les paramètres spermatiques, contrairement aux souches sensibles qui ont un impact négatif sur la qualité du sperme. L'acquisition de la résistance s'avère ne pas affecter les paramètres spermatiques in vivo, cela pourrait être dû à la perte de virulence.

Cette étude est la première qui porte sur l'émergence des souches d'entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) dans le sperme humain. La souche *serratia sp* productrice de BLSE présente un niveau de résistance élevé à la plupart des  $\beta$ -lactamines, excepté l'imipénème qui reste actif sur cette dernière.

Dans la plupart des cas, le traitement des bactéries dans le sperme comprend l'utilisation des antibiotiques. Le type exact de médicaments utilisés dépend du type de bactéries présentes.

# **Bibliographie**

- Agarwal J, Srivastava S et Singh M. (2012).** Pathogenomics of uropathogenic *Escherichia coli*. *Indian J Med Microbiol.* 30:141–149. Doi. 10.4103/0255-0857.96657.
- Andrade-Rocha FT. (2009).** Colonization of *Gardnerella vaginalis* in semen of infertile men: prevalence, influence on sperm characteristics, relationship with leukocyte concentration and clinical significance. *Gynecol Obstet Invest.* 68:134–6.
- Askienazy-Elbhar M. (2005).** Infection du tractus génital masculin : le point de vue du bactériologiste. *Gynecol Obstét Fertil.* 33: 691–697.
- Auroux MR, Jacques L, Mathieu D et Auger J. (1991).** Is the sperm bacterial ratio a determining factor in impairment of sperm motility: an in vitro study in man with *E. coli*. *Int J Androl.* 14:264–70.
- Boitrelle F, Robin G, Lefebvre C et al. (2012).** Les bactériospermies en AMP: comment réaliser et interpréter une spermoculture? Qui traiter? Pour quoi? Comment? *Gynecol Obstét Fertil.* 40 : 226–234.
- Bouya P, Odzebe S, Banga-Mouss R, Itoua A, Ontsira N, Atipo-Ondongo A et Ondziel-Opera A (2015).** sperm cytobacteriological profile of patient consultant for infertility in the service of urology andrology of Brazzaville CHU uro'andro .volume1.108-211.
- CLSI, 2013.** Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from Animals. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA (Suppl. VET01-S2).
- Cottell EC. (1998).** The significance of seminal leukocytes in male fertility. *Fertile Steril.* 70(3):P819 (1).
- Courcol R. (2010).** Référentiel en microbiologie médicale, Paris: Société Française de Microbiologie.
- Coque T, Baquerot F, and Canton R. (2008).** Increasing prevalence of ESBL – producing *Enterobacteriaceae* in Europe. *Eurosurveillance.* 13(47): 1–11.
- Diemer T, Huwe P, Ludwig M, Hauck EW et Weidner W. (2003).** Urogenital infection and sperm motility. *Andrologia.* 35:283–7.

- Eley A, Passey AA, Galdiero M, Galdiero M et Galdiero F. (2005).** Can Chlamydia trachomatis directly damage your sperm? *Lancet Infect Dis.* 5:53–7.
- EUCAST, 2014.** The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters. Version 4.0, <http://www.eucast.org>
- Francesco MA, Negrini R, Ravizzola G, Galli P et Manca N. (2011).** Bacterial species present in the lower male genital tract: a five-year retrospective study. *Eur J Contracept Reprod Health Care.* 16:47–53. doi: 10.3109/13625187.2010.533219.
- Gdoura R, Kchaou W, Chaari C et al. (2007).** Ureaplasma urealyticum, Ureaplasma parvum, Mycoplasma hominis and Mycoplasma genitalium infections and semen quality of infertile men. *BMC Infect Dis.* 7:129. PMID: 17988404.
- Gniadkowski M. (2001).** Evolution and epidemiology of extended spectrum beta-lactamases and ESBL producing micro-organisms. *Clin. microbial infect.* 7: 557 -608.
- Gonzales MA, Garcia-Harles, Guttierrez R, et al. (1989).** The secretory activity of the seminal vesicles and its relationship to sperm motility: effects of infection in the male reproductive tract. *Int J Androl.* 12:286–94.
- Henkel R et Schill, W.B. (1998).** Sperm separation in patients with urogenital infections. *Andrologia.* 30, 91–97.
- Hooton T.M. (2003).** Fluoroquinolones and resistance in the treatment of uncomplicated urinary tract infection. *Int J Antimicrob Agents.* 22: 65-72.
- Hughes G et Fenton KA. (2000).** Recent trends in gonorrhoea—an emerging public health issue? *Eur Surveill.* 5:1–2.
- Jarlier V, Nicolas M.H, Fournier G et Philippon A. (1988).** Extended broad-spectrum  $\beta$ -lactamases conferring transferable resistance to newer  $\beta$ -lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev. Infect. Dis.* 10, 867–878.
- Kaleli B, Ozden A, Aybek Z et Bostanci B. (1998).** The effect of L-arginine and pentoxifylline on postoperative adhesion formation. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 77:377 – 380.
- Keck C, Gerber-Schafer C, Clad A, Wihelm C et Breckwoldf M. (1998).** Seminal tract infections: impact on male fertility and treatment options. *Hum Reprod Update.* 4:891–903.

- Kliebe C, Nies B.A, Meyer J.F, Tolxdorff-Neutzling R.M, and Wiedermann B. (1985).** Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectrum cephalosporins. *Antimicrob. Agents Chemother.* 28: 302-307.
- Lavigne J.P, Blanc-Potard A.B, Bourg G, Moreau J, Chanal C, Bouziges N, O'callaghan D et Sotto A. (2006).** Virulence genotype and nematode-killing properties of extra-intestinal *Escherichia coli* producing CTX-M  $\beta$ -lactamases. *Clin. Microbiol. Infect.* 12,1199–1206.
- Livermore D.M. (1995).** "Beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance." *Clin Microbiol Rev.* 8(4): 557-584.
- Maisey K, Nardocci G, Immarai M, et al. (2003).** Expression of proinflammatory cytokines and receptors by human fallopian tubes in organ culture following challenge with *Neisseria gonorrhoeae*. *Infect Immun.* 71:527–32.
- Mankveld R et Kruger T.F. (1998).** Sperm morphology and male urogenital infections. *Andrologia* 30 (Suppl. 1). 49–53.
- Mezhoud H, Filip Boyenb, Leg-hel Touazic, An Garmynb, Nassim Moulad, Annemieke Smethb, Freddy Haesbrouckb, An Martelb, Mokrane Iguer-Ouadac et Abdelaziz Touatia . (2015).** *Animal Reproduction Science* 159. 205–211.
- Monga M et Roberts JA. (1994).** Sperm agglutination by bacteria: receptor-specific interactions. *J Androl.* 15:151–6.
- Moretti E, Capitani S, Figura N, Pammolli A, Federico MG, Giannerini V, et al. (2009).** The presence of bacteria species in semen and sperm quality. *J Assist Reprod Genet.* 26:47–56.
- Motrich RD, Cuffini C, Mackern Oberti JP, et al. (2006).** Chlamydia trachomatis occurrence and its impact on sperm quality in chronic prostatitis patients. *J Infect.* 53:175–83.
- Ohri M, Prabha V. (2005).** Isolation of a sperm-agglutinating factor from *Staphylococcus aureus* isolated from a woman with unexplained infertility. *Fertil Steril.* 84:1539–41.
- OMS, 1965. OMS1999.** Organisation mondiale de la santé.
- Paterson D.L, and Bonomo R.A. (2005).** Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev.* 18: 657-686.
- Penna Videau S, Cermeno Vivas J et Salazar N. (2001).** IgA antibodies to Chlamydia trachomatis and seminal parameters in asymptomatic infertile males. *Arch Androl.* 46:189–95.

- Prabha V, Sandhu R, Kaur S, Kaur K, Sarwal A, Mavuduru RS, et al. (2010).** Mechanism of sperm immobilization by *Escherichia coli*. *Adv Urol.* 2010:240268.
- Purvis K, Christiansen E. (1993).** Infection in the male reproductive tract. Impact, diagnosis and treatment in relation to male infertility. *Int J Androl.* 16:1–13.
- Rowe PJ, Comhaire FH, Hargreave TB, Mahmoud AMA. (2000).** WHO manual for the standardized investigation, diagnosis and management of the infertile male. Cambridge: Cambridge University Press.
- Robin F, Gibold L, and Bonnet R. (2012).** Résistances naturelles et acquises aux  $\beta$ -lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne. *Revue Francophone des laboratoires.* 445 : 47-58.
- Sanocka-Maciejewska D, Ciupiska M et Kurpisz M. (2005).** Bacterial infection and semen quality. *J Reprod Immunol.*
- Santiago-Moreno J, Astorga R.J, Luque I, Coloma M.A, Toledano-Díaz A, Pulido-Pastor A, Gómez-Guillamon F, Salas-Vega R et López-Sebastián A. (2009).** Influence of recovery method and microbial contamination on the response to freezing-thawing in ibex (*Capra pyrenaica*) epididymal spermatozoa. *Cryobiology* 59, 357–362.
- Schlegel PN, Chang TS et Marshall FF. (1991).** Antibiotics: potential hazards to male fertility. *Fertil Steril.* 55:235–42.
- Schulz M, Sánchez R, Soto L, Risopatrón J et Villegas J. (2010).** Effect of *Escherichia coli* and its soluble factors on mitochondrial membrane potential, phosphatidylserine translocation, viability, and motility of human spermatozoa. *Fertil. Steril.* 94, 619–623.
- Turk S, Korrovits P, Punab M et Mañdar R. (2005).** Coryneform bacteria in semen of chronic prostatitis patients. *Int J Androl.*
- Urata K, Narahara H, Tanaka Y, Egashira T, Takayama F et Mikiyawa I. (2001).** Effect of endotoxin-induced reactive oxygen species on sperm motility. *Fertil. Steril.* 76, 163–166.
- Vigil P, Morales P, Tappia A, Riquelme R et Salgado AM. (2002).** Chlamydia trachomatis infection in male partners of infertile couples: incidence and sperm function. *Andrologia.* 34:155–61.

**Witkin SS, Klingman I et Bongiovanni AM. (1995).** Relationship between an asymptomatic exposure to *Chlamydia trachomatis* and an autoimmune response to spermatozoa. *Hum Reprod.*10:2952–5.





---

# Table des matières

Liste des figures.....	i
Abréviations.....	ii
Introduction	
Matériel et méthodes	
1. Présentation de l'organisme d'accueil	
.....	16
2. Recueil de données	
.....	16
3. Prélèvements	
.....	16
4. Analyse du sperme	
.....	17
4.1. Analyses macroscopiques	
.....	17
4.2. Analyses microscopiques	
.....	17
5. Mise en culture	
.....	18
5.1. Enrichissement	
.....	18
5.2. Isolement	
.....	18
5.3. Identification	
.....	19
6. Antibiogramme standard	
.....	20

---

7. Recherche de $\beta$ -lactamases à Spectre Elargie (BLSE) par <i>DD- test (Test de synergie)</i> .....	21
---	----

Résultats et discussions

1. Données épidémiologique .....	23
2. Données cytologiques .....	23
2.1. Résultats macroscopiques .....	23
2.2. Résultats microscopiques.....	24
3. Données bactériologiques .....	26
4. Impact de bactéries résistantes aux antibiotiques sur la qualité du sperme.....	29

Conclusion

Bibliographie

Annexes

Résumé

---

Abréviations : .....	6
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>8</b>
<b>Chapitre I</b> : .....	Erreur ! Signet non défini.
<b>Matériel et méthodes</b> .....	<b>15</b>
1. Présentation de l'organisme d'accueil : .....	16
2. Recueil de données : .....	16
3. Prélèvements : .....	16
4. Analyse du sperme : .....	17
5. Mise en culture : .....	18
6. Antibiogramme standard : .....	20
7. Recherche de $\beta$ -lactamases à Spectre Elargie (BLSE) par <i>DD- test (Test de synergie)</i> : .....	21
<b>CHAPITRE II</b> : .....	Erreur ! Signet non défini.
<b>Résultats et discussions</b> .....	<b>22</b>
1. Données épidémiologique : .....	23
2. Données cytologiques.....	23
3. Données bactériologiques : .....	26
4. Impact de bactéries résistantes aux antibiotiques sur la qualité du sperme : .....	29
<b>Conclusion</b> .....	<b>33</b>
<b>Bibliographie</b> .....	<b>35</b>
<b>Table des matières</b> .....	Erreur ! Signet non défini.
<b>ANNEXES</b> .....	<b>45</b>

---

## **ANNEXES**

---

## Annexe I :

Code de prélèvement :	Date :
Age:	spz/spc :
Age de puberté :	Angines ou acnés récidivantes durant l'enfance : Oui/ Non
Date de mariage :	Date de naissance de premier enfant :
Infertilité/ Infection	Type d'infertilité : Autre maladie :
Infection urinaire ultérieure : Oui/Non	
Epouse souffrant d'une infection urinaire : Oui/ Non ; Germe isolé :	
Hospitalisation antérieure : Oui/ Non	
Antibiothérapie : Oui/Non	
Antibiotique administré :	Date de début :
<b>Qualité du sperme</b>	
Couleur du sperme :	Odeur : Normale/purulente
V (ml) sperme :	pH du sperme : viscosité :
Nombre de spz/mL :	Morphologie des spz :
Mobilité des spz :	Viabilité des spz :
Leucospermie :	
<b>Résultats du spermogramme :</b>	
<b>Résultat de la spermoculture :</b> bactériospermie/ infection	
Germe isolé :	

---

## Annexe II :

### La composition des milieux de culture

#### Bouillon Nutritif

- Extrait de viande .....10g
- Pepton .....5g
- Chlorure de sodium ..... 5g

(pH=7.3)

#### Gélose Drigalsky

- Extrait de viande ..... 5g
- Peptone ..... 10g
- Chlorure de sodium ..... 5g
- Thiosulfate de sodium .....1g
- Lactose .....15g
- Bleu de bromothymol .....0.08g
- Cristal violet ..... 0.005g
- Agar .....18g

(pH=7.5)

#### Gélose BCP

- Peptone .....5,0 g
- Extrait de viande de bœuf .....3,0 g
- Lactose .....10,0 g
- Pourpre de bromocrésol ..... 25 mg
- Agar .....15 g

(pH = 6,8)

---

### Gélose Mac conkey

- Peptone trypsique de la gélatine ..... 17 g
- peptone de caséine .....3 g
- Lactose .....10 g
- Sels biliaires ..... 5 g
- Chlorure de sodium .....5 g
- Rouge neutre .....0.03 g
- Crystal violet ..... 0.001 g
- Agar ..... 13.5 g

(pH =7.1 +/- 0.2)

### Gélose Mueller Hinton

- Infusion de viande de bœuf .....3g
- Hydrolysate de caséines.....17.5g
- Amidon.....1.5g
- Agar.....17g

(pH=7.4)



---

**Annexe III:**Liste d'antibiotiques.

Antibiotique	Abréviation	Charge du disque	Interpretation des diameters (mm)	
			S	R
Amoxicilline/acide clavulanique	Amc	20/10µg	≥21	<14
Ampecilline	Amp	10µg	≥18	<15
Céftiofure	EFT	/	≥26	<31
Céfépime	FEP	30µg	≥24	<21
Gentamicine	CN	10µg	≥17	<14
Amikacine	AK	30µg	≥18	<15
Tetracycline	TE	30µg	≥19	<17

---

### **Résumé :**

Au cours de cette étude déroulée au Laboratoire d'Analyses médicales à Sidi Aich, portant sur l'étude de la résistance des souches bactériennes isolées de la semence humaine, nous avons reçu 68 échantillons de sperme dont nous avons isolé 21 souches à culture positive. Les méthodes utilisées comportent la réalisation d'une spermoculture après enrichissement du sperme, suivi d'un spermogramme et enfin un antibiogramme pour les échantillons à culture positive.

Les résultats obtenus nous ont servis à faire une comparaison entre les paramètres du sperme infecté par les bactéries résistantes et sensibles. Parmi les 21 souches isolées, une s'avère productrice d'une bêta lactamase à spectre élargi. Nous avons conclu que les entérobactéries résistantes n'affectent pas la qualité du sperme, et les sensibles le détériorent.

**Mots clés :** sperme, Entérobactéries, résistance, Spermogramme, Spermoculture ; Antibiogramme ; BLSE.

### **Abstract:**

During this study which proceeded at the laboratory In this study conducted at the Laboratory of Medical tests in Sidi aich having on the study of isolated resistance of bacterial strains of the human seed, we received 68 semen samples we isolated 21 strains positives cultures. The methods used include achieving a spermoculture after sperm enrichment, followed by a semen analysis and finally susceptibility testing for samples positive culture.

The results obtained have served us to make a comparison among sperm parameters infected by resistant and susceptible bacteria. Of the 21 strains isolated turns a producer of beta lactamase élargi. Nous spectrum have concluded that resistant Enterobacteriaceae does not affect semen quality, and sensitive deteriorates.

**Key words:** sperm, Enterobacteriaceae, resistance, Semen, Spermogramme; spermocultur ESBL.