

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Béjaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Spécialité Microbiologie Fondamentale



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Impact des bactéries résistantes aux
antibiotiques sur les paramètres
spermatiques**

Présenté par :

AOUDJEGHOUT Imane & OUSADI Souad

Soutenu le : **26 Juin 2018**

Devant le jury composé de:

Mr. IGUER-OUADA M.

Mme. Mezhoud H.

Melle. Yanat B.

Professeur

MCB

MCB

Président

Encadreur

Examineur

Année universitaire : 2017 / 2018

Dédicace

Je dédie ce travail en premier À MES CHERS PARENTS : Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorde santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

*À MES CHERS ET ADORABLE SŒURS **Nesrine**, la prunelle de mes yeux et **Amina Nada**, la douce, au cœur ma petite sœur que j'adore, que j'aime profondément. En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.*

*UNE SPECIALE DEDICACE A CETTE PERSONNE QUI COMPTE ENORMEMENT POUR MOI, ET POUR QUI JE PORTE BEAUCOUP DE TENDRESSE ET DE RESPECT A toi **Abderrahim** Mon conseiller, et ami fidèle, qui m'a assisté dans les moments difficiles et m'a pris doucement par la main pour traverser ensemble des épreuves pénibles.*

À LA MEMOIRE DE MON GRAND-PERE J'aurais tant aimé que vous soyez présents. Que Dieu ait vos âmes dans sa sainte miséricorde

À MA GRAND MERE CHERIE Qui m'a accompagné par ses prières, sa douceur, puisse Dieu lui prêter longue vie et beaucoup de santé et de bonheur dans les deux vies. À mes grands-parents que dieu vous prête une longue vie et beaucoup de santé et de bonheur

À MES CHERS ONCLES ET EPOUSES, À MES TANTES ET LEURS EPOUX, À MES CHERS COUSINS COUSINES. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

*À MES AMIS DE TOUJOURS : **BAYA, ASMA, LINA, MENNOUNE, NOURJA, SAIDA, TINHINANE, THIZIRJ, LAHNA ET BILLAL.** Ainsi que ma Binôme **Souad**. En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble.*

À TOUTES LES PERSONNES QUI ONT PARTICIPÉ À L'ÉLABORATION DE CE TRAVAIL.

A. Imane

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A mes chers parents qui ont su m'inculquer la valeur des études, et qui n'ont cessé de me soutenir et encourager tout au long de mon parcours.

A mes chers frères : Nassim, Khellef et Nabil.

A ma chère et unique sœur Kahina et sa petite famille.

A mes amis pour leur soutien moral et leurs Encouragements

Souad

Remerciement

À DIEU, le Tout Puissant de nous avoir donné la foi, la force, et la patience pour réaliser ce modeste travail.

*Nous tenant à exprimer nos sincères considérations et remerciements à notre promotrice Madame **Mezhoud H.** de nous avoir procuré un encadrement rigoureux et si précieux. Nous vous souhaitons, Madame, que du succès et de bonheur*

*Au Professeur **IGUER-OUADA M.** De nous avoir fait l'honneur de présider le jury. Ainsi Pour ses conseils pertinents et pour nous avoir honoré par sa connaissance.*

*À Madame **Yanat B.** D'avoir accepté de consacrer son temps pour l'examen du présent travail*

*À Toute l'équipe du laboratoire de Microbiologie du Bloc 9, sans oublier la technicienne Madame **Rahmani**
À Toute l'équipe du laboratoire de recherche associé en écosystèmes marins et aquatiques du Bloc 12*

Enfin, nous tenons à remercier tous nos enseignants qui ont su nous former durant cinq merveilleuses années à l'université.

Pour tous ceux et toutes celles qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail, qu'ils trouvent ici l'expression de nos sincères remerciements.

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Synthèse bibliographique

I.	Infections bactériennes du tractus uro-génital masculin.....	3
II.	Impacte de la contamination bactérienne sur la fertilité masculine.....	4
II.1	Altération des spermatozoïdes.....	4
II.2.	Agglutination des spermatozoïdes mobiles	5
II.3.	Le stress oxydatif.....	6
II.4.	Induction de processus apoptotique.....	7
II.5.	Rôle du système immunitaire et les réactions auto-immunitaire.....	8
II.6.	Rôle du leucospermie	8
III.	Les techniques d'évaluation de la fertilité masculine.....	9
III.1.	L'examen physique	9
III.2.	Un spermogramme	9
III.3.	Le spermocytogramme	10
III.3.1.	Les paramètres du sperme :	10
III.4.	La spermoculture	11
III.5.	La recherche des anticorps anti spermatozoïdes.....	11
III.6.	Biochimie du liquide séminal.....	12
III.7.	La quantification des leucocytes dans le sperme.....	12

Matériel et méthodes

I.	Collecte du sperme.....	13
I.1	Dissection du testicule et isolation de l'épididyme	Erreur ! Signet non défini.
I.2	La collecte proprement dite.....	Erreur ! Signet non défini.
II.	Souche bactériennes :	Erreur ! Signet non défini.
II.1	Curage du plasmide	Erreur ! Signet non défini.
II.2	Infection artificielle de la semence	Erreur ! Signet non défini.
II.3	Analyse informatique de la mobilité et de la cinétique des spermatozoïdes :.....	Erreur ! Signet non défini.

II.4	Système CASA (Computer Assisted Sperm Analysis)	Erreur ! Signet non défini.
II. 5	Analyses statistiques.....	19

Résultat et discussion

I.	Impact de bactéries résistantes aux antibiotiques sur les paramètres de mobilité spermatique.....	20
	Conclusion.....	25

Références bibliographiques

Glossaire

Annexes

Résumé

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

BLSE : Béta-lactamase à spectre étendu.

CASA: Computer Assisted Sperm Analysis.

C. trachomatis : *Chlamydia trachomatis*

DAO : Dérivés actif d'oxygène.

DRO : Dérivés réactifs d'oxygène.

E. coli : *Escherichia coli*.

ExPEC : *Escherichia coli* pathogène extra-intestinale.

IFN-g : interféron-g.

IgA: Immunoglobuline A.

IgG: Immunoglobuline G.

IL : Interleukine.

L. monocytogenes : *Listeria monocytogenes*

M : mutée.

NDM : New Delhi métallo-beta-lactamase

N. gonorrhoeae : *Neisseria gonorrhoeae*

OMS : Organisation mondiale de la santé.

PCR : polymerase chain reaction

ROS: Réactif oxygen species.

S: sauvage.

SAF : Sperm Agglutinating Factor

S01: Souche 01.

Liste des abréviations

SCA: Sperm Class Analyser

SRP: Spermatozoid progressive rapid.

TNF- α : Tumor necrosis factor α .

T. pallidum : *Treponema pallidum*

UFC : Unité formant colonie.

U. urealyticum : *Ureaplasma urealyticum*

VSL : Velocity straight Line.

Liste des figures

- Figure 1** : épидidyme et canal déférent séparé du reste du testicule.**Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 2** : collecte de la semence par méthode rétrograde-Flushing**Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 3** : Protocol de réalisation de curage à température élevée**Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 4** : Antibiogramme d'E. coli S1M et de E. coli NDMM.....**Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 5** : représentation des différentes parties du système CASA**Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 6** : les paramètres analysés par le SCA.....19
- Figure 7**: courbes d'évolution de la VSL des spermatozoïdes incubés avec des bactéries résistantes et sensibles aux antibiotiques en fonction du temps.....20

Liste des Tableaux

- Tableau I** : Valeurs de référence du spermogramme.....10
- Tableau II** : tableau récapitulatif des mécanismes de résistance et de traits de virulence des différentes souches d'*E.coli*.....15

Introduction

Le sperme est un liquide complexe composé d'une phase cellulaire (10%), les spermatozoïdes, et d'une phase liquide (90%), c'est le plasma séminal. Il est comme toutes sécrétions physiologiques, normalement stérile, mais dans certains cas il pourrait être contaminé par des virus, des champignons, des bactéries ou voir même par des parasites, et ceci lors de la gamétogenèse, lors du passage par les différents canaux par la voie ascendante et ainsi lors de l'accouplement (**Ashkenazi-Elbhar et al., 2005**).

Les infections de l'appareil génital masculin représentent jusqu'à 15% des cas d'infertilité masculine (**Pellati et al., 2008**). Ces infections aiguës et chroniques et l'inflammation qui en résulte dans le système reproducteur masculin peuvent compromettre la fonction des spermatozoïdes et l'ensemble du processus spermatogénétique, entraînant alors des altérations qualitatives et quantitatives des spermatozoïdes (**Henkel et al., 1998 ;Sanocka-Maciejewska et al., 2005**).

Les bactéries responsables des contaminations du sperme proviennent généralement des voies urinaires des patients, ou peuvent être transmises par le partenaire par voie sexuelle (**Purvis et al., 1993**) et une fois dans le sperme peuvent influencer la qualité spermatique par différents mécanismes dont l'altération des spermatozoïdes par l'adhérence à ces derniers en provoquant l'agglutination des spermatozoïdes, par le stress oxydatif provoqué par les leucocytes une fois dans l'appareil génital, conduisant ainsi à des infections qui peuvent toucher les différents sites de l'appareil reproducteur masculin commencent par la partie inférieure, et peuvent remonter jusqu'aux parties supérieures (épididyme et testicules où le sperme est produit), infection de l'urètre (urétrite), de la prostate (prostatite), de l'épididyme (épididymite), ou du testicule (orchite)...etc (**Parabha et al., 2010**).

Plusieurs espèces bactériennes peuvent être impliquées dans ces infections génito-urinaires, dont les plus rencontrés sont : les entérobactéries (*E. coli*, *Proteus*, *Serratia*, *Pseudomonas*), les cocci Gram positive : les staphylocoques et les streptocoques et les espèces responsables des infections sexuellement transmissibles telles que *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Treponema pallidum*, *Neisseria gonorrhoeae* (**Kreiger et al., 1999 ; Neik et al., 1999**).

Le micro-organisme le plus fréquemment isolé chez les hommes atteints d'infections du tractus génital est *Escherichia coli* (**Weidner et al., 1999**). L'influence négative de cette espèce sur la qualité du sperme est en augmentation surtout avec l'émergence de la résistance

aux antibiotiques de cette bactérie, due aux gains et aux pertes de gènes de résistances au cours de son évolution (**Denamur et al., 2012**).

L'acquisition et le développement de nouveaux mécanismes de résistance provoquent des changements au niveau de la fonction cellulaire et ainsi la virulence bactérienne. Peu d'études ont fait le lien entre la résistance et la virulence, certains auteurs ont suggéré une association entre la résistance et un faible nombre de facteurs de virulence (**Karisik et al., 2008 ; Soto et al., 2006**). Cependant, d'autres ont rapporté l'existence de souches résistantes avec un taux élevé en facteurs de virulence (**Mora et al., 2010**). C'est donc, dans ce contexte, que s'inscrit l'objectif de notre travail qui se base sur l'utilisation de la semence ovine comme model d'étude pour tester l'impact de bactéries résistantes aux antibiotiques essentiellement aux bêta-lactamines, sur les paramètres spermatiques, et la comparaison ainsi entre l'effet d'une souche résistante et sensible. Pour cela nous avons infecté *in vitro* le sperme ovin par différentes souches d'*E. coli* à différents traits de virulence et de mécanismes de résistance, puis l'analyse des paramètres de mobilité à l'aide d'un outil informatique « sperme classe analyser SCA ».

Synthèse bibliographique

I. Infections bactériennes du tractus uro-génital masculin

Infection des voies génitales mâles est l'une des plus importantes causes de l'infertilité masculine dans le monde entier, et l'invasion des bactéries dans l'appareil génital masculin a souvent été associée à des dérèglements de la fonction des spermatozoïdes. (**Mascarenhas et al., 2012**). Ces infections de l'appareil reproducteur mâle peuvent inclure généralement l'infection de l'urètre (urétrite), de la prostate (prostatite), de l'épididyme (épididymite), ou de testicule (orchite) qui peuvent être aigues et agir directement sur la fécondance par des lésions épithéliales qu'elles provoquent modifiant ainsi la sécrétion et la réabsorption liquidienne entraînant une oligozoospermie sévère, ou chronique par le processus inflammatoire généré par les toxines bactériennes et les cytokines entraînant des scléroses des voies génitales, par fibrose ou des stases diminuant le nombre et/ou la vitalité des spermatozoïdes (oligoasthenozoospermie, nécrozoospermie)(**Tremellen, 2008**).

Les germes les plus fréquemment rencontrés dans les infections de tractus uro-génital masculin sont : les Enterobacteriaceae comme (*E. coli*, Klebsiella, Proteus, Serratia, Pseudomonas..., etc.), les cocci Gram positif, notant les staphylocoques et streptocoques et les espèces responsables des infections sexuellement transmissibles (*C. trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Treponema pallidum*, *N. gonorrhoeae*, etc.) (**Krieger et al., 1999; Nickel et al., 1999**)

Escherichia coli : représente une principale cause des prostatites aiguës ou chroniques, et impliqué dans la genèse de l'infertilité comme la plupart des entérobactéries appartenant aux genres Klebsiella, Proteus, Salmonella qui peuvent provoquer une épididymite prostatite (**Weidner et al., 1999**).

Chlamydia trachomatis: responsable des infections asymptomatiques et peut provoquer une épididymite orchite, prostatites et des obstructions des spermatozoïdes.(**Motrich et al., 2006**)

Neisseria gonorrhoeae : provoque généralement des urétrites comme elle peut être impliquée dans les infections d'autres parties de l'appareil génital, y compris les testicules. (**Hughes et al., 2005**)

Les cocci Gram positif : Les staphylocoques et streptocoques impliqués dans la genèse des spermatozoïdes, l'épididymite et les prostatites. Les entérocoques influencent la

fertilité masculine par leurs effets sur les différents paramètres de sperme (la motilité, vitalité, nombre de spermatozoïdes par éjaculat) et sont presque souvent présent dans le sperme d'homme infertile. (Pellati et al., 2008).

II. Impact de la contamination bactérienne sur la fertilité masculine

L'infection bactérienne du tractus uro-génital masculin est reconnue comme étant responsables de 15 % d'infertilité masculine, et son investigation fait partie du bilan d'infertilité ou de pathologies andrologiques (Diemer,2003).

Certains auteurs ont démontré que la qualité de la semence pourrait être affectée par les présence de bactéries et d'une manière dépendante de la concentration (Auroux et al., 1991; Diemer et al., 1996) et du type du germe contaminant (Ubeda et al.,2013) ,ajoutant a cela que la majorité de ces infections des voies génitales restent asymptomatiques, constitue ainsi un grand dilemme pour traiter ces patients ou non (Jarow et al., 1990). Cependant cette infection peut influencer la fertilité masculine par différents mécanismes notant, la dégradation ou l'altération des spermatozoïdes, diminution de la motilité des spermatozoïdes, l'altération de réaction acrosomique, altération de la morphologie, la formation d'espèces réactives d'oxygène qui entraînent une augmentation de l'indice de fragmentation de l'ADN, la formation d'anticorps antisperme en réponse a la violation de la barrière sang-testicule, et l'obstruction des voies génitales en raison de l'inflammation et de la fibrose (Keck et al., 1998).

II.1. Altération des spermatozoïdes

Ces altérations sont liées à plusieurs facteurs qui peuvent êtres directes par adhérence aux spermatozoïdes à l'aide des flagelles et des pilis ou indirectes par la production de toxines et de produits métaboliques provenant de la prolifération bactérienne (Fraczek et al., 2007 , Qiang et al.,2007) attribuent ainsi a l'effet délétère des bactéries sur les spermatozoïdes notant l'intégrité de la membrane de la tête, du cou et de la pièce intermédiaire du sperme, suit au phénomène de compétition pour les nutriments existants dans le plasma séminal (Boone et Hughes, 1970).

Des interactions directes de bactéries et les spermatozoïdes ont été prouvés par différents chercheurs pour plusieurs espèces bactériennes tel que *E. coli* (Wolff et al.,

1993 ; Diemer et al., 1996), Mycoplasmes, *Ureaplasma urealyticum* (Nunez-Calonge et coll., 1998), et les espèces de Chlamydia (Grossgebauer et coll., 1979 ; Erbenji, 1993). Au cours de l'infection, en se liant aux spermatozoïdes, les bactéries peuvent causer des lésions ultra structurales dans la membrane plasmique (Diemer et al., 1996), et des altérations sur l'acrosome qui mènent à des modifications morphologiques des spermatozoïdes, ainsi à des problèmes de fertilité (Althouse et al., 1997). Certains germes tels que les ureaplasmas et les mycoplasmes peuvent coloniser l'appareil génital masculin et contaminer le sperme, influencent ainsi négativement la motilité des spermatozoïdes, la densité et entraînent de²s modification morphologiques, ce qui rend les spermatozoïdes plus vulnérables au dommage de la peroxydation (Fraczek, Kurpisz, 2007).

Au cours de l'infection, les bactéries peuvent aussi influencer la qualité spermatique, en libérant des facteurs qui peuvent avoir un effet nuisible ou délétère sur les spermatozoïdes, notant les toxines : les hémolysines (α et β), les Shiga toxines, les lipopolysaccharides, les fragments de peptidoglycane et les molécules quorum sensing qui augmentent l'effet délétère des bactéries sur la qualité de la semence (Brecchia et al., 2010 ; Bogue et al., 2015). Ces toxines sont également capables d'induire l'apoptose des spermatozoïdes, elles sont connues par leur capacité à former des pores au niveau de la membrane cytoplasmique permettant ainsi une libération rapide de potassium et l'influx de calcium, de mannitol et de saccharose, ce qui conduit à la destruction cellulaire par lyse osmotique (Villegas et al., 2005).

II.2. Agglutination des spermatozoïdes mobiles

Certaines infections bactériennes peuvent influencer la fertilité masculine, en provoquant des agglutination des spermatozoïde par l'adhésion à ces derniers. La surface du spermatozoïde est riche en glycoprotéines et donc susceptible aux interactions bactéries-spermatozoïdes au niveau du récepteur-ligand (Kaur et Prabha, 2013). Les bactéries adhèrent à la surface du sperme par des structures d'attachement telles que les andésines (Fraczek et Kurpisz, 2015). Cette adhérence produit ainsi des modifications ultra structurales au niveau de la pièce médiane, de la membrane plasmique et de l'acrosome ce qui pourrait réduire la motilité et la viabilité du sperme et provoquer une réaction acrosomique prématurée (Diemer et al., 2000 ; Zan Bar et al., 2008).

Escherichia coli représente le micro-organisme le plus fréquemment isolés chez les patients atteints d'infections génito-urinaires et les infections de la glande accessoire masculin (Golshani et al., 2006). Le pouvoir pathogène d'*E. coli* sur les spermatozoïdes se manifeste essentiellement par des adhésions (adhésines d'*E. coli* au récepteur saccharidique spermatique) induisant une agglutination des spermatozoïdes et une diminution de la mobilité spermatique (Keck et al., 1998), elle possède deux facteurs d'adhérences de surface P-fimbriae de type 1 et les fimbriae qui interagissent avec les récepteurs spécifiques présentent sur la surface des spermatozoïdes, conduit à une interaction ligand-récepteur puis à l'agglutination des spermatozoïdes. Certaines études ont rapportés aussi l'effet péjoratifs des *Staphylococcus aureus* sur les spermatozoïdes, responsable de l'agglutination et de l'immobilisation de ces derniers, causée par la sécrétion des facteur d'immobilisation de nature probablement protéique (Ohri et Prabha, 2005).

II.3. Le stress oxydatif

La qualité spermatique peut être altérée par des espèces réactives de l'oxygène ou les dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) qui sont des produit de métabolisme cellulaires et produites par les spermatozoïdes eux-mêmes, stimulé par des bactéries ou induites par des leucocytes suite à une infection bactérienne (Diemer et al., 2003). Ces radicaux libres jouent un rôle important dans la capacitation, l'hyper activation du spermatozoïde et la réaction de l'acrosome lorsqu'ils sont à faible concentration (De lamirande et Cagnon, 1998), mais à des niveaux élevés, sont extrêmement toxiques pour l'appareil génital, les glandes annexes et les spermatozoïdes (Tremellen et al., 2008).

Les bactéries une fois dans l'appareil génital masculin, dans le liquide séminal entraînent la production de radicaux libres d'oxygène (ROS) ou dérivés actifs de l'oxygène (les DAO), induisent donc une série de dommages dans les spermatozoïdes, y compris la perte d'asymétrie des lipides, la perte de la motilité, l'extériorisation de phosphatidyl-serine et la perte du potentiel de la membrane mitochondriale. Les altérations cellulaires produites entraînent une diminution de la réaction acrosomique et de la capacité fusiogène (Cohen-Bacrie et al., 2008) et une augmentation de la fragmentation de l'ADN des spermatozoïdes (Fraczek et Kurpisz, 2015).

Le liquide séminal possède un pouvoir antioxydant, qui contre balance les effets du stress oxydatif, mais la production très élevée ou très prolongée de DAO in vivo peut

submerger les défenses anti oxydantes, entraînant alors des dommages, cependant In vitro les DAO sont plus délétères car les spermatozoïdes ne sont plus protégés.

II.4. Induction de processus apoptotique

L'apoptose est une forme de mort cellulaire caractérisée par des changements morphologiques et biochimiques spécifiques tels que le bourgeonnement de la membrane cellulaire, la condensation de la chromatine, la fragmentation de l'ADN génomique et l'exposition à la surface cellulaire de molécules de signalisation spécifiques à la phagocytose (**Xu et Shi 2007**). Cependant ce processus apoptotique est nécessaire au maintien de l'homéostasie dans tous les systèmes du corps humain, notamment dans la production de gamètes. En effet, elle joue un rôle crucial dans la spermatogenèse en empêchant une surproduction des spermatozoïdes dans les testicules qui dépasserait la capacité de support des cellules de Sertoli (**Sinha Hikim et al., 1998 et Swerdloff, 1999**).

Le processus apoptotique a été observé dans les spermatogonies, les spermatocytes et les spermatides dans le testicule humain normal (**Sinha Hikim et al., 1998**). Récemment, l'apoptose a été également démontrée, dans les spermatozoïdes éjaculés, suggérant l'existence et le fonctionnement des processus biochimiques de la mort cellulaire programmée dans le sperme. (**Weng et al., 2002**).

Certains auteurs ont démontré que l'apoptose des spermatozoïdes peut être induite par des facteurs externes, tel que les espèces réactives de l'oxygène (**ROS**), comme elle peut être stimulée par contact direct avec des bactéries ou leurs produits aboutissent ainsi à la formation de pores dans les membranes spermatisques (**Lopes et al., 1998**).

Des études expérimentales ont démontré l'effet apoptotique de différentes bactéries notant *E. coli*, *L. monocytogenes* et *N. gonorrhoeae*, qui agissent sur les spermatozoïde par induction des **ROS** par les leucocytes, ou par l'intermédiaire de toxines bactériennes qui induisent la formation de pores dans les membranes des cellules eucaryotes. (**Jonas et al., 1994 et Esen et al., 2001**) par exemple *E. coli*, la bactérie la plus isolée dans les infections urogénitales induit l'apoptose par l'implication des toxines qui se fixent aux récepteurs glycopeptidiques existant sur la membrane cellulaire "les globotriaosylcéramides" endommageant ainsi le spermatozoïde et puis au processus apoptotique (**Jones et al., 2000**).

II.5. Rôle du système immunitaire et les réactions auto-immunitaire

L'interaction entre le système immunitaire et reproducteur est impliquée dans le mécanisme de dommages de sperme, suite a une inflammation ou infection bactérienne de l' appareil reproducteur mâle, un ensemble de réactions immunitaire seront déclenchés et un ensemble de facteurs immunitaires dont les cytokines, chimiokines et des facteurs de croissance, dont la principale source est les testicules seront impliqués dans la régulation de la spermatogenèse, et le maintien de l'état des gonades immunosuppresseur privilégié (**Cudicini et al., 1997**). La production locale, de cytokines pro-inflammatoire tel que facteur de nécrose tumorale (TNF-a), l'interféron (IFN-g), et d'interleukines IL-6, IL-12, IL-17, IL-23, dans les glandes sexuelles secondaires, en grande quantité par l'infiltration de leucocytes (telles que les macrophages, lymphocytes, monocytes, cellules dendritiques) jouent un rôle essentiel dans l'induction de perméabilité de la barrière sang-testicule et L'apoptose des cellules germinales endommagées (**Jacobo et al., 2011 ; Qu et al., 2013**).

II.6. Rôle du leucospermie

Les leucocytes apparaissent dans le sperme à la deuxième étape de l'infection des voies urogénitales, et restent présents dans le sperme pendant une certaine durée après l'élimination de la bactérie dans la troisième phase (**Sanocka et al., 2004**). Il existe une controverse concernant le rôle biologique des leucocytes lors d'une infection du sperme. Certains auteurs ont indiqué une absence de tout lien entre la leucospermie et la diminution de la qualité du sperme (**Tomlinson et al., 1993 ; Barraud-Lange et al., 2011**). Cependant que la grande majorité des chercheurs ont démontrés une association directe entre la leucospermie et la détérioration des paramètres du sperme, en termes de nombre total de spermatozoïdes, la motilité des spermatozoïdes ainsi que la morphologie (**Wolff et al. 1990 ; Bezold et al., 2007**).

Parmi les effets néfastes sur la qualité spermatiques des leucocytes, on peut citer son association avec une baisse de la mobilité spermatiques, qui peut-être lié a d'éventuelles lésions de l'ADN mitochondriaux des spermatozoïdes, une augmentation des dommages nucléaires qui serait liée a une augmentation des DAO qui agissent directement sur les bases purines et pyrimidiques de l'ADN ou indirectement par augmentation de la nécrospermie, comme elle peut être impliqué dans le baissement de la concentration et même l'altération de la morphologie spermatique.

L'effet délétère de la leucospermie sur la fragmentation de l'ADN spermatique n'a pas été porté dans le cas de sperme normaux selon les critères de l'OMS contrairement au sperme oligospermie asthénozoospermie en présence de leucocytes dans le sperme conduit à un doublement de taux de fragmentation de l'ADN .

III. Les techniques d'évaluation de la fertilité masculine

L'exploration biologique de la fertilité masculine est fondé sur l'étude du sperme, elle permet de déterminer l'ensemble des évènements qui se produisent depuis le démarrage de la spermatogénèse jusqu'à l'éjaculation (**de la calle et al.,2008 ; Grizard et al.,2003**), et dans le but d'évaluer la fertilité masculine, des techniques d'analyses ont été développées notant: Le spermogramme et le spermocytogramme qui constituent encore des examens de base permettant d'apprécier les caractéristiques du sperme. Mais aussi avant toute initiation aux examens d'évaluation de la fertilité masculine, le patient doit passer par un examen physique qui est pour objet d'une expertise urologique ou andrologique à la recherche d'anomalies urogénitales.

III.1. L'examen physique

L'examen physique général est une partie intégrante de l'évaluation de la fertilité, inclue :

- un examen du pénis, incluant la localisation du méat urétral
- la palpation des testicules et la mesure de leur taille
- vérification de l'état physiologique de l'épididyme
- la recherche de varicocèle

III.2. Un spermogramme

C'est une analyse du sperme permet d'évaluer la qualité et la morphologie ainsi que la fonctionnalité des spermatozoïdes et de mesurer l'activité sécrétoire des différentes glandes exocrines de l'appareil génital. Lors de l'exploration d'une infertilité du couple, la réalisation d'au moins un spermogramme est nécessaire.

Le spermogramme repose sur une étape d'examen macroscopique qui consiste à mesurer le volume de l'éjaculat et d'évaluer certains paramètres physiques et chimiques du sperme (pH, aspect, odeur et viscosité) (**El-Hamzaoui et Dikoumba, 2005**)

Tableau I : Valeurs de référence du spermogramme

Caractéristiques	Normes de référence
Morphologie	≥ 4%
Motilité (progression)	≥ 32%
Motilité (totale)	≥ 40%
Nombre de spermatozoïdes (par ml)	≥ 15 millions
Volume	≥ 1,5 ml
Vitalité	≥ 58%

Référence: World Health Organization (WHO) (2010). WHO laboratory for the examination and processing of human semen (5th edition).

III.3. Le spermocytogramme

C'est une partie de spermogramme consiste a une analyse microscopique dans le but d'étudié les paramètres cytomorphologiques et fonctionnels du sperme selon la classification de David et Coll (**David et al., 1975**). Il permet l'évaluation de la concentration et le nombre de spermatozoïdes, ainsi que la concentration des cellules rondes et donne une appréciation du pourcentage de formes mobiles, vivantes et de type de mobilité. Il permet aussi d'étudier la morphologie, et l'évaluation de nombre et de types d'anomalies des spermatozoïdes en réalisant des frottis de sperme coloré. Le spermocytogramme constitue une étape très importante et difficile du spermogramme. (**El-Hamzaoui et Dikoumba, 2005**).

III.3.1 Les paramètres du sperme :

pH : Le pH du sperme est normalement compris entre 7,4 et 8,0.

Volume : Il traduit essentiellement les capacités sécrétoires des glandes annexes.

Nombre de spermatozoïdes : Il est exprimé en concentration (millions/ml).

Mobilité : La mobilité appréciée au microscope optique est exprimée en pourcentage de spermatozoïdes mobiles.

Vitalité : Elle reflète le pourcentage de spermatozoïdes vivants, elle trouve son intérêt dans les cas où la mobilité est faible.

Cellules rondes : Les cellules épithéliales de l'urètre, les cellules germinales immatures et les leucocytes sont regroupés sous ce terme de «cellules rondes».

III.4. La spermoculture

La spermoculture est un examen de base consiste à une recherche complète de germes (germes aérobies, mycoplasmes, exceptionnellement germes anaérobies, chlamydiae, gonocoque...). Puisque l'infection des voies génitales mâles a été reconnue comme l'une des plus fréquentes de l'étiologie de l'infertilité masculine, pour cela il est considérée comme l'examen bactériologique du sperme le plus important malgré la difficulté dans l'interprétation surtout si les résultats obtenus est un faus positif dû à la contamination de la semence (Swenson et al., 1980). Cette contamination pourrait être causée par la flore urétrale et/ou micro-organismes trouvés sur le gland du pénis et les mains qui sont introduit dans l'échantillon au cours de la masturbation (Hiller et al., 1990).

La spermoculture est considéré comme positif, si la concentration de germes par ml est comprise entre, 10^3 et 10^4 germes/ml (Boucher et al., 1977).

III.5. La recherche des anticorps anti spermatozoïdes

Les anticorps anti-spermatozoïdes ont été impliqués dans 5% à 10 % des cas d'infertilité masculine. Ces anticorps dirigés contre le spermatozoïde peuvent se retrouver dans le sang périphérique et/ou dans le tractus génital, dans le sperme, comme ils peuvent se trouver à l'état libre dans le liquide séminal et/ou liés aux antigènes de surface sur les spermatozoïdes. L'existence de tels anticorps peut être suspectée chez les patients présentant des notions de lésion de la paroi des voies génitales dans les antécédents, devant une agglutination spontanée des spermatozoïdes dans l'éjaculat ou dans les cas de non pénétration des spermatozoïdes dans la glaire cervicale (Ackerman et al., 1988).

Les deux méthodes les plus couramment employées pour la recherches des anticorps fixés sur les spermatozoïdes, utilisent soit un test d'agglutination mixte anti-globuline soit la technique des immunobilles (billes de polyacrylamide couplées à des anticorps anti-IgA ou anti-IgG) (Ackerman et al., 1988).

III.6. Biochimie du liquide séminal

C'est une méthode basé sur le dosage des différents marqueurs biochimiques spécifiques dans le liquide séminal pour apprécier les différentes l'activité fonctionnelle des différentes glandes , rapporte des renseignements importants dans les azoospermies, comme elle peu participer au diagnostic d'un processus inflammatoire.(**Grizard et al., 1985**) les marqueurs les plus couramment mesurés sont l'alpha-glucosidase et la L-Carnitine pour l'épididyme, l'acide citrique, les phosphatases acides ou le zinc pour la prostate et le fructose pour les vésicules séminales. (**Guerin et al., 1990**).

III.7. La quantification des leucocytes dans le sperme

Un nombre élevé de polynucléaires dans le sperme est souvent associé à une altération de la fonction et de la mobilité des spermatozoïdes. Lors de l'examen microscopique, les leucocytes et les cellules germinales immatures peuvent être confondus sous le terme de cellules rondes. Il est nécessaire que l'examen spermatique différencie ces cellules immatures des leucocytes. Seuls les patients ayant une leucospermie vraie (supérieure à 1 million de leucocytes par ml) doivent être évalués à la recherche d'une infection ou d'une inflammation des voies génitales (**Riedel et Semm, 1980**).

Matériel et méthodes

L'influence de l'infection bactérienne sur les paramètres spermatique a fait l'objet d'étude de plusieurs chercheurs, cependant l'impact que pourraient avoir les bactéries résistantes aux antibiotiques sur ces paramètres spermatiques a été faiblement étudié et la plupart des résultats restent encore peu concluants. Cette étude a eu donc comme objectif l'étude *in vitro* de l'impact de bactéries résistantes aux antibiotiques sur les paramètres de mobilité spermatique. Pour cela, nous avons réalisé une infection artificielle de la semence ovine par des souches d'*Escherichia coli* résistantes aux antibiotiques.

I. Collecte du sperme

Le sperme est récolté à partir de testicules frais du bélier récupérés au niveau de l'abattoir de la commune de Béjaïa. Le transport des testicules de l'abattoir au laboratoire s'est effectué dans une glacière afin d'éviter toute altération éventuelle de la qualité de la semence. La collecte du sperme s'est effectuée suivant la méthode rétrograde-Flushing tel qu'elle est décrite par (Martinez-Pastor *et al.*, 2006) et dans des conditions d'asepsies afin d'éviter toute contamination bactérienne.

I.1 Dissection du testicule et isolation de l'épididyme

La dissection de l'épididyme est réalisée comme suit :

- Séparation des tissus qui enveloppent le testicule et l'épididyme à l'aide d'une lame de bistouri
- Isolation de l'épididyme et le canal déférent du reste du testicule comme s'est montré dans la **figure1**.
- Elimination des tissus en excès, les tissus conjonctifs du canal déférent
Elimination du sang des vaisseaux sanguins par application de plusieurs ponctions sur la queue épидидymaire, afin d'éviter la contamination de la semence lors de la collecte du sperme.
- Rinçage de la queue épидидymaire et le canal déférent avec de l'eau physiologique (Na Cl 0.9 %), puis désinfection à l'alcool (70 %) et séchage avec du papier absorbant.



Figure 1 : épидidyme et canal déférent séparé du reste du testicule.

I.2 La collecte proprement dite

Cette étape s'effectue par :

- Introduction d'une seringue remplie d'air et de 1 ml d'eau physiologique dans la lumière du canal déférent (**figure 2-A**)
- Réalisation d'une incision profonde au niveau de la queue épидidymaire à l'aide d'une lame de Bistouri stérile.
- Placer un Eppendorf gradué au niveau du point d'incision (**figure 2-B**).
- Application d'une pression par la seringue sur la queue épидidymaire afin de pousser l'écoulement de la semence au niveau de l'incision.

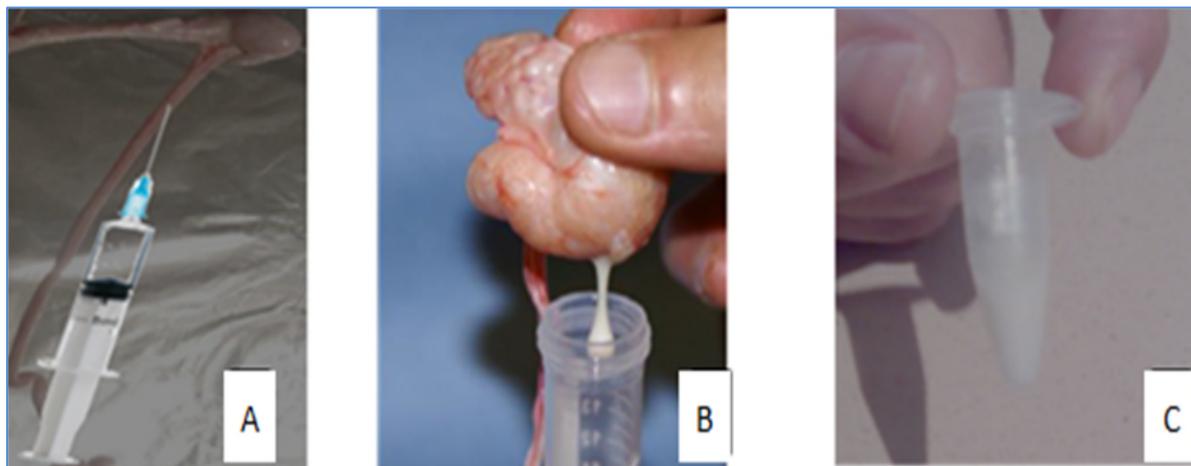


Figure 2 : collecte de la semence par méthode rétrograde-Flushing

II. Souche bactériennes

Les souches d'*E. coli* S 01 S, *E. coli* NDM S, résistantes aux antibiotiques, leurs mutantes respectives *E. coli* S 01 M et de *E. coli* NDM M ainsi que la souche de référence *E. coli* ATCC 25922 sensible à tous les antibiotiques ont été testées sur la semence ovine. Les mécanismes de résistance ainsi que les caractéristiques de virulence de ces souches sont montrés dans le tableau ci-dessous. Pour chaque souche bactérienne une suspension de 10^8 UFC/mL (mesuré par le spectrophotomètre à 625 nm dont l'absorbance varie entre 0.08 et 0.10) est préparée dans de l'eau physiologique stérile.

Tableau II : 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 gènes de virulence (groupe phylogénique)
S01	BLSE	19 (F)
NDM	Carbapénémase de type NDM	ND
ATCC25922	Sensible	29(B2)

Légende : (F) : *E. coli* pathogène extra-intestinale (ExPEC), (B2) : *E. coli* pathogène extra-intestinale (ExPEC), (ND) : non déterminée.

II.1 Curage du plasmide

La préparation des souches mutées a été effectuée par la technique de curage de plasmide, en utilisant la méthode de la température élevée (Schaufler et al, 2013). Le protocole consiste brièvement à :

Une culture d'une nuit à 45 °C est réalisée pour les souches *E. coli* S01S et *E. coli* NDM S dans un bouillon nutritif. Par la suite, 10µl de la culture bactérienne ont été ensemencés sur gélose de Mac Conkey puis incubées à 37 °C/24H. Quelques colonies bien séparées (8 à 10) sont ensuite repiquées sur des boîtes de MacConkey quadrillées contenant des antibiotiques (4µg/ml de céfotaxime pour *E.coli* S01 et 4µg/ml de l'Ertapénème pour *E. coli* NDM), puis incubées à 37 °C/24H (figure 3). Les mêmes colonies sont prises et repiquées dans le même ordre sur une gélose de MacConkey sans antibiotiques.

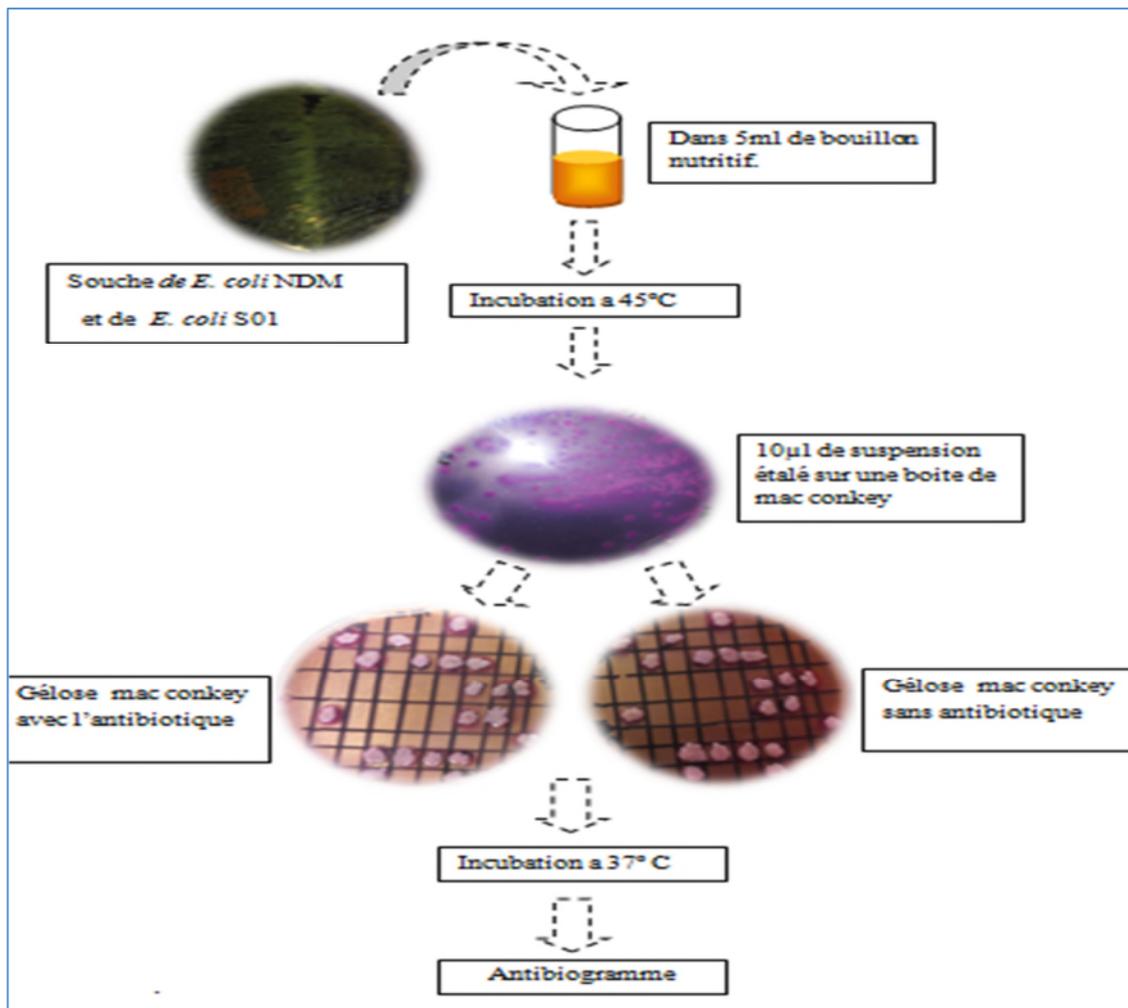


Figure 3 : Protocol de réalisation de curage a température élevée.

Enfin, les colonies ayant poussées sur la gélose de Mac Conkey sans antibiotiques et ayant du mal à se développer en leurs présence sont sélectionnées. Afin de confirmer la perte des plasmides, un antibiogramme standard est réalisé pour chaque colonie retenue en utilisant l'amoxicilline/acide clavulanique, le céfotaxime, la céftazidime et céfépime pour les souches curées du plasmide codant pour la BLSE ou l'imipénème, ertapénème et le méropénème pour les souches curées du plasmide codant pour la NDM). Les résultats d'antibiogrammes des souches curées sont montrés par la **figure 04**.

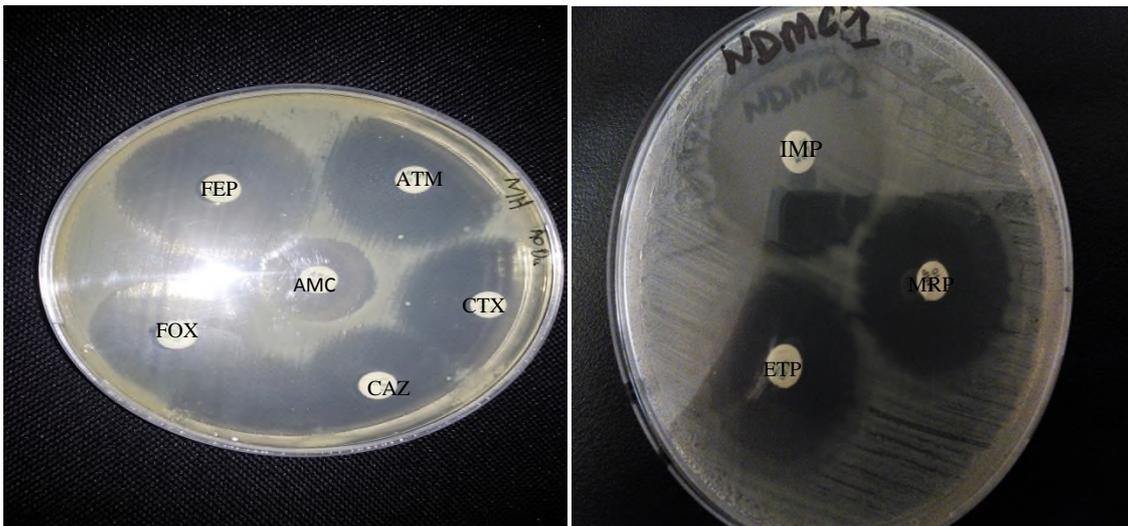


Figure 4 : Antibiogramme d'*E. coli* S1M et de *E. coli* NDM M

II.2 Infection artificielle de la semence

Deux séries de six tubes Eppendorf préparés, remplis par les suspensions bactériennes (980µl) sont aliquotés par 20µl de la semence ovine à 4 milliard spermatozoïdes/ml. Le sixième tube de chaque série est considéré comme témoin (sans bactéries).

III. 3 Analyse informatique de la mobilité et de la cinétique des spermatozoïdes

L'analyse des paramètres de mobilité des spermatozoïdes en présence des différentes souches bactériennes (résistantes et sensibles) a été effectuée par l'analyseur informatique ou le système CASA (Computer Assisted Sperm Analysis), dont deux répétitions ont été

réalisées et pour chaque répétition une analyse est effectuée chaque une heure puis chaque deux heures : à $t=0$, à $t=1h$, à $t=2 h$, à $t=4 h$, et à $t=6 h$.

IV. 4 Système CASA (Computer Assisted Sperm Analysis)

Le système CASA ou bien l'analyseur du sperme assisté par l'ordinateur, est une technique d'analyse de la semence micro vidéographiques automatisées (**chocat et al, 2003**), constitué d'un microscope, couplé a une camera numérique (Figure 5) et a un système informatique doté d'un logiciel d'analyse informatique des paramètres de sperme (SCA).

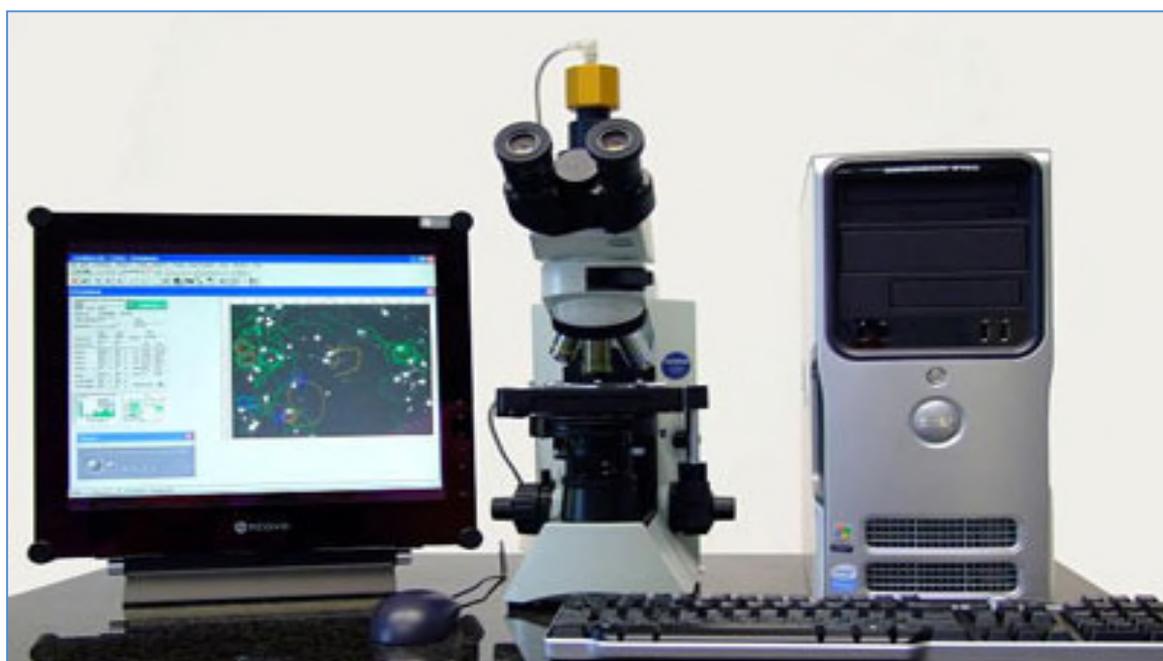


Figure 5 : représentation des différentes parties du système CASA

Le Sperme class Analyzer (SCA) est un système d'analyse des différents paramètres des spermatozoïdes qui se module d'un logiciel indépendant (Version 5.4, microptic S.L. Viladomat 321, 6 – 4 08029 – Barcelona, Spain)) employé pour identifier et suivre tous les spermatozoïdes dans les images vidéo et pour exécuter tous les calculs de données. Il permet de reconnaître le rapport mobilité-concentration, la concentration, et les paramètres de mobilité, les pourcentages avec graphiques et photos sous format Excel.

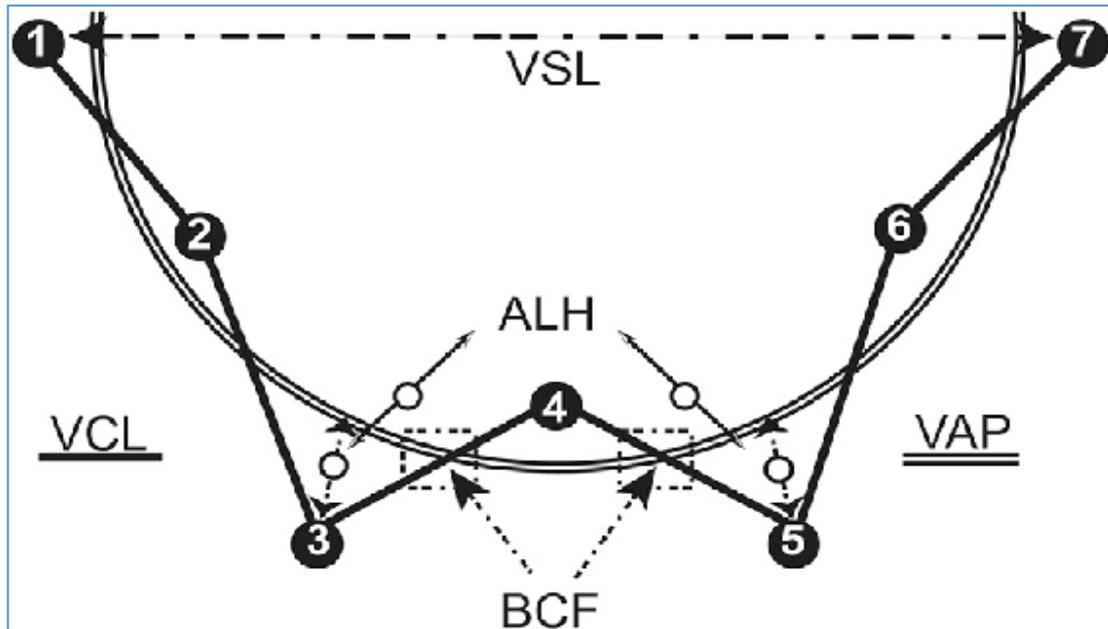


Figure 6 : les paramètres analysés par le SCA

VCL : Vitesse curviligne.

VSL : Vitesse rectiligne.

VAP : Vitesse moyenne.

ALH : Amplitude moyenne du mouvement latéral de la tête.

BCF : Fréquence de battement.

II. 5 Analyses statistiques

Après la récupération des données fournies par le CASA dans un seul fichier une analyse statistique a été réalisée par le logiciel de statistiques StatView (version 4.55) qui nous a permis d'obtenir des graphes pour les paramètres spermatique analysés, suivie d'un test ANOVA.

Résultat et discussion

Notre travail a eu comme objectif, l'étude de l'impact de souches d'*Escherichia coli* résistantes aux antibiotiques sur les paramètres de mobilité spermatique. Pour ce faire, nous avons infecté *in vitro* une semence collectée de l'épididyme du bélier comme modèle d'étude.

Des échantillons du sperme sont infectés par des souches d'*E. coli* résistantes aux antibiotiques (S1 S, NDM S), par leurs mutantes respectives sensibles (S1 M et NDM M) et par la souche de référence *E. coli* ATCC 25922, sensible à tous les antibiotiques. L'effet de la présence de ces différentes souches sur la motilité spermatique est comparé à un témoin non infecté.

I. Impact de bactéries résistantes aux antibiotiques sur les paramètres de mobilité spermatique

L'analyse de la qualité spermatique est faite par l'analyseur informatique CASA durant différents laps du temps allant de T_0 à T_{6h} . Ce système estime différentes vitesses: VSL, VCL, et VAP, dont la plus importante est la VSL qui mesure la vitesse de progression linéaire du spermatozoïde.

Les VSL estimées pour les différents échantillons (Témoin, *E. coli* ATCC 25922, S1S, NDM S, S1M et NDM M) durant le temps sont présentées par la (figure 7)

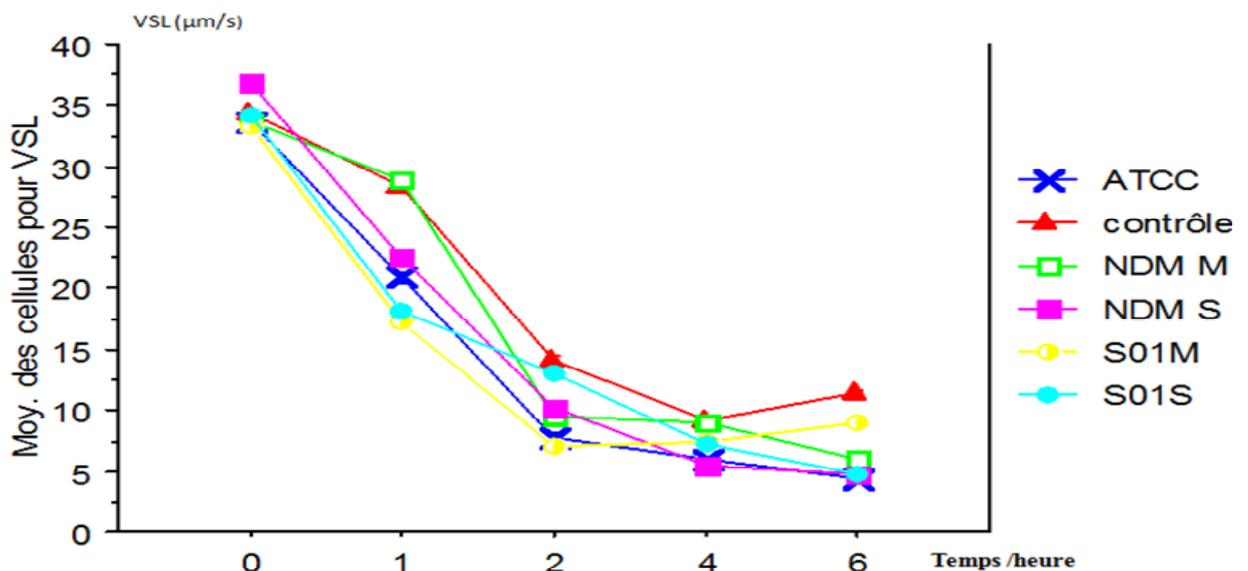


Figure 7: courbes d'évolution de la VSL des spermatozoïdes incubés avec des bactéries résistantes et sensibles aux antibiotiques en fonction du temps.

D'après les moyennes des VSL obtenues en fonction du temps et de type d'infection, nous avons observé, que la présence des souches d'*E. coli* dans la semence altère la mobilité spermatique comparés au contrôle. Néanmoins, toutes ces souches n'affectent pas les paramètres spermatiques de la même manière. La souche d'*E. coli* ATCC 25922, sensible à tous les antibiotiques, la souche S1M, non productrice de BLSE, ainsi que la souche d'*E. coli* productrice de NDM (NDM M) altèrent beaucoup plus la VSL comparés au contrôle. La souche S1S, résistante aux beta-lactamines par production de BLSE, par contre, n'altère pas les paramètres spermatiques comparés au control et sa souche mutante.

L'effet délétère des bactéries sur les paramètres spermatiques est démontré par plusieurs études. Néanmoins, l'impact des bactéries résistantes aux antibiotiques est peu ou pas étudié.

Selon **Althouse et coll. (2000)**, *E. coli* possède un effetspermicide sur le sperme du porc. En outre, les mêmes auteurs ont rapporté que cet effet dépend de la concentration bactérienne. **Bussalleu et coll. (2011)** ont démontré, dans leur étude sur l'effet des différentes concentrations d'*E. coli* entérotoxigène et vérotoxigène sur la qualité du sperme porcin, une diminution significative après 24 h d'incubation à 37° C (P <0,05) dans le tube contenant 10⁸ UFC/ml d'*E. coli* par rapport aux tubes inoculés avec *E. coli* (10⁷-10²UFC/ml) et le contrôle négatif. Ce résultat justifie pour notre étude le choix du nombre d'UFC/ml utilisé pour notre travail.

En fait, plus le nombre de bactérie est important dans le sperme plus le taux de lipopolysaccharides (LPS) est important (composante de la paroi des bacilles à Gram négatif). Ces derniers semblent réduire la motilité des spermatozoïdes, induire leur apoptose et entravent ainsi gravement le potentiel de fertilité (**Yu et al., 2013**).

E. coli peut également adhérer aux spermatozoïdes grâce à ses adhésines et interférer ainsi avec leurs mobilités. Elle peut aussi avoir un effet direct sur l'acrosome ou indirectement en produisant des toxines (Shiga toxine) (**Diemer et al., 1996 ; Dhruvi, et al., 2012**), ou même par production d'espèces réactives d'oxygène causant une variation du pH du sperme (**Villegas, et al., 2005 ; Dhruvi, et al., 2012**).

Contrairement aux résultats observés avec la souche de référence d'*E. coli* ATCC25922, sensible à tous les antibiotiques et la souche S1M, la souche d'*E. coli* productrice de BLSE, S1S, n'affecte pas la mobilité spermatique au cours du temps. Ce résultat pourrait expliquer par la perte de virulence chez la souche résistante et sa récupération lorsque le plasmide codant pour la résistance est perdu par curage. Ce phénomène de récupération en virulence de la souche mutante d'*E. coli* S1M n'est cependant pas confirmé avec la souche d'*E. coli* productrice de carbapénémase, NDM S et sa souche mutante NDM M. Ce résultat pourrait expliquer par la différence des plasmides porteurs des mécanismes de résistance chez les deux souches (BLSE de type CTX-M et d'une carbapénémase).

La résistance aux antibiotiques, par mutation ou acquisition de gènes, pourrait entraîner pour une bactérie un coût biologique, c'est à dire une réduction de sa compétitivité, et donc de sa « fitness » (Andersson & Hughes, 2010 ; Kempf&Zeitouni, 2012). L'ampleur de ce coût est le principal paramètre biologique qui influe sur le taux de développement de la résistance, la stabilité de la résistance et la vitesse à laquelle la résistance pourrait diminuer si la pression de sélection est levée (Andersson & Hughes, 2010).

Effectivement, les mutations survenues causent des changements au niveau des molécules essentielles à la bactérie et d'autre part, l'acquisition de gènes de résistance suggère qu'une partie du métabolisme bactérien est détournée au profit du portage ou de la multiplication de l'élément génétique nouvellement acquis (Kempf&Zeitouni, 2012 ; Melnyk et al., 2014). La réduction de compétitivité pourrait être évaluée en comparant la croissance du mutant résistant à la même souche sauvage sensible en l'absence de l'antibiotique, ou par comparaison des croissances de souches sensibles et des mêmes souches ayant acquis les éléments génétiques responsables de la résistance (Andersson & Levin, 1999, Andersson, 2003 ; Enne et al., 2005). Cette réduction pourrait se traduire par des différences de taux de croissance *in vitro* ou de taux de survie chez l'hôte ou dans l'environnement ou des différences de virulence (Kempf&Zeitouni, 2012). Divers travaux ont estimé ce coût biologique *in vitro* ou *in vivo*, dans différents systèmes d'étude (Andersson & Levin, 1999, Andersson, 2003 ; Enne et al., 2005). En effet, chez *E. coli*, Nilsson et al. (2003) ont noté une réduction de 10 à 25% de taux de croissance des souches d'*E. coli* uropathogènes, résistantes à la fosfomycine en comparaison des souches sensibles isogéniques. En outre, Sandegren et al. (2008) ont également rapporté que les souches cliniques résistantes ont un taux de croissance significativement inférieur à celui des souches sensibles. Néanmoins, Schaefler et al. (2016), ont récemment contredit cette hypothèse. Leurs travaux démontrent

que le portage de BLSE chez les souches d'*E. coli* semble ne pas influencer leur fitness. En fait, il semble que les bactéries sont capables de réduire le coût biologique soit par ce que l'on appelle mutation compensatoires ou par régulation de l'expression de la résistance par exemple. Le phénomène de compensation permet à la bactérie résistante de survivre même après la levée de la pression de sélection (**Kempf&Zeitouni, 2012**).

Les études portant sur l'interaction entre la résistance aux β -lactamines et la virulence sont basées soit sur le profil de résistance phénotypique, soit sur la présence de β -lactamases spécifiques telles que les BLSE. Les plasmides codant pour les BLSE chez les souches d'*E. coli* peuvent également porter d'autres gènes de résistance aux autres familles d'antibiotiques et des gènes codant pour des facteurs de virulence.

Horcajada et al. (2005) ont observé une différence significative dans la prévalence du gène K1 *kpsM* (Variant K1 du groupe 2 des capsules) entre les souches sensibles ou résistantes à l'ampicilline avec une dominance parmi les souches sensibles à l'ampicilline (**Horcajada et al., 2005 cité par Vinhas Calhau, 2014**). De même, toujours en comparant les souches sensibles et les souches résistantes à l'ampicilline, Johnson et al. (2005) ont révélé que l'allèle *papA* F12 était plus prévalant chez les souches sensibles alors que chez les souches résistantes c'était le gène *traT* (serum resistance associated) (**Johnson et al., 2005b cité par Vinhas Calhau, 2014**).

Pour ce qui concerne les souches productrices de BLSE, il semble qu'il existe une différence significative entre la prévalence de facteurs de virulence entre les souches d'*E. coli* productrices de BLSE de type CTX-M et les souches d'*E. coli* non productrices. En effet, en **2006, Lavigne et al.** ont rapporté plus de gènes de virulence parmi les souches d'*E. coli* productrices de BLSE de type TEM comparé aux souches productrices de CTX-M et que les gènes *traT* et *iutA* sont plutôt observés chez les souches productrices de BLSE (Lavigne et al., 2006). Ces auteurs ont proposé un modèle d'étude de virulence des souches d'*E. coli* productrices de différents types BLSE et de souches sensibles. Dans ce modèle, ils ont étudié la cinétique de survie du nématode *Caenorhabditis elegans* en présence de souches d'*E. coli* productrices de CTX-M, de TEM, des souches d'*E. coli* sensibles et en présence d'une souche avirulente *E. coli* OP50. Les résultats de survie des nématodes corrèlent parfaitement aux résultats du font génétique des souches (nombre de facteurs de virulence) et suggèrent que les souches sensibles sont plus virulentes par rapport aux souches résistantes et que les

souches productrices de BLSE de type TEM restent plus virulentes comparé à leurs contreparties productrices de CTX-M(Lavigne et al., 2006a;Lavigne et al., 2006b).

En conclusion, *E. coli* apparait comme un microorganisme extrêmement adaptable. Malgré les spéculations autour l'interaction entre la résistance aux antibiotiques et la virulence, il est évident, au moins pour certaines souches, que la résistance aux antibiotiques est liée à leur virulence. Le point de vue le plus couramment admis est que la résistance aux quinolones est liée à une perte de facteurs de virulence. Néanmoins, nous ne pouvons retenir une corrélation linéaire, positive ou négative, entre ces deux caractéristiques (da Silva & Mendonça, 2012).

Conclusion

Conclusion

Notre étude a été menée principalement dans l'objectif d'étudier l'impact des bactéries résistantes aux antibiotiques sur les paramètres spermatiques *in vitro*, ainsi qu'une comparaison entre l'impact des souches sensibles et résistantes aux antibiotiques, plus spécifiquement aux beta-lactamines. Pour ce faire une infection artificielle du sperme ovin par différentes souches d'*E. coli* à différents profils de résistance a été réalisé.

Le résultat de l'infection artificielle de la semence ovine *in vitro*, a montré que la mobilité spermatique est influencée par la présence de bactéries. La comparaison entre l'impact des bactéries sensibles et résistantes a révélé que la souche d'*E. coli* ATCC 25922 ainsi que la souche d'*E. coli* S1M, sensibles aux beta-lactamines affectent plus les paramètres de mobilité par rapport à la souche *E. coli* productrice de BLSE (S1S). Néanmoins, la souche d'*E. coli* productrice de carbapénémase, *E. coli* NDM S, semble affecter plus les paramètres de mobilités spermatiques comparée à sa mutante *E. coli* NDM M.

Nos résultats donc affirment que la présence de souches d'*E. coli* dans le sperme altèrent les paramètres spermatiques et que cette altération ne dépend pas forcément du profils de résistance.

Cette étude reste préliminaire, elle doit être complétée par un ensemble d'essais, afin de confirmer si l'impact des bactéries sur les paramètres spermatiques dépend des mécanismes de résistance aux antibiotiques ou uniquement de leur contenu en gènes de virulence, le suivi du pH du sperme infecté au cours du temps, l'influence de l'infection bactérienne sur l'acrosome et la vitalité spermatique. Ainsi l'utilisation des techniques de la biologie moléculaire telle que la PCR, (utilisation des mutants et recombinaison génétique) permettant ainsi d'explorer mieux la relation entre la résistance et la virulence au niveau génétique, et identifier ainsi le mode d'expression de ces deux mécanismes.

Il sera également intéressant d'utiliser un nombre important de souches bactériennes dont les mécanismes de résistances sont différents pour une bonne confirmation de résultats obtenus.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

A

Ackerman S., Mcguire G., Fulgham D.L., Alexander N.S.(1988).An evaluation of a commercially available assay for the detection of antisperm antibodies. *Fertil. Steril* 49: 732-734.

Althouse GC. (1997). Comparaison of currently used semen extenders in the swine industry. *Compend Cont Educ Pract Vet.* 19:777-782.

Althouse GC., Kuster CE., Clark SG., Weisiger RM.(2000). Field investigations of bacterial contaminants and their effects on extended porcine semen. *Theriogenology* 53 :1167-1176.

Andersson DI. et Levin BR. (1999). The biological cost of antibiotic resistance. *Current Opinion in Microbiology.* 2(5):489-493.

Andersson DI. (2003). Persistence of antibiotic resistant bacteria. *Current Opinion in Microbiology.* 6 5):452-456.

Andersson DI. et Hughes D.(2010). Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance?. *Nature Reviews Microbiology.*8:(260–271).

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., Auer J. (1991). Is the sperm bacterial ratio a determining factor in impairment of sperm motility: an in-vitro study in man with *Escherichia coli*. *Int. J. Andrologie* 14: 264–270.

B

Barraud-Lange V., Pont JC, Ziyat A. et al. (2011). Seminal leukocytes are Good Samaritans for spermatozoa. *Fertil Steril* 96:1315–1319.

Bezold G., Politch JA., Kiviat NB., Kuypers JM., Wolff H., Anderson DJ.(2007). Prevalence of sexually transmissible pathogens in semen from asymptomatic male infertility patients with and without leukocytospermia. *Fertil Steril* 87:1087–1097.

Boguen R., Faviàn T., Pamela U., and Villegas JV.(2015). Mitochondrial permeability transition increases reactive oxygen species production and induces DNA fragmentation in human spermatozoa. *Human Reproduction.*0(0):1–10.

Références Bibliographiques

Boone MA., Hughes BL.(1970). Contamination of semen and its effect on avian fertility. *Poult. Sci.* 49 : 402–404.

Boucher D., Hermabessiere J., Doly M., Cheyvalle D., et Soubrier J.(1977). « Prolactin secretion in infertile men before and after treatment with bromocriptine ». In *Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique* 17: 483–498.

Brecchia G., Cardinali R., Mourvaki E., Collodel G., Moretti E., Dal Bosco A., Castellini C.(2010). Short- and long-term effects of lipopolysaccharide-induced inflammation on rabbit sperm quality. *Animal Reproduction Science* 118:310–316

Bussalleu E., Yeste M., Sepúlveda L., Torner E., Pinart E., Bonet S.(2011). Effects of different concentrations of enterotoxigenic and verotoxigenic *E. coli* on boar sperm quality. *Animal Reproduction Science.*127(3-4) :176-182.

C

Chocat A., Creveuil C., Galeraud-Denis I., Herlicoviez D., Herlicoviez M., Sauvalle A. (2001). Valeur prédictive des paramètres spermatiques non automatisés et des paramètres cinétiques automatisés sur les taux de clivage en fécondation in vitro. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité.*29(4) :301-307.

Cohen-Bacrie P., Belloc S., Ménézo et al. (2008). Correlation between DNA damage and sperm parameters: a prospective study of 1,633 patients. *Fertil. Steril.*; in press

Cudicini C., Kercret H., Touzalin AM., Ballet F., Jégou B.(1997). Vectorial production of interleukin 1 and interleukin 6 by rat cells cultured in a dual culture compartment system. *Endocrinology Sertoli.* 138:2863–7280.

D

Da Silva GJ. et Mendonça N.(2012). Association between antimicrobial resistance and virulence in *Escherichia coli*. *Landes Bioscience.* 10.4161.

David G., Bisson P., Czyglick F., Jouannet P., Gernigon C.(1975). Anomalies morphologiques du spermatozoïde humain . Proposition pour un système de classification. *J. Gynecol. Obst. Biol. Reprod (Paris).* 4 :37-86.

Références Bibliographiques

De la Calle J.F.V., Muller A., Walschaerts M., Clavere J.L., Jimenez C., Wittemer Ch., et Thonneau P.(2008). « Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation as assessed by the sperm chromatin dispersion test in assisted reproductive technology programs: results of a large prospective multicenter study ». *Fertility and sterility* .90 (5):1792–1799.

De lamirande E., Harakat A., and Gagnon C.(1998). Human Sperm Capacitation Induced by Biological Fluids and Progesterone, but Not by NADH or NADPH, Is Associated With the Production of Superoxide Anion. *Journat of Andrology*. 9(2): 215-225.

Denamur E., et Picard B. (2012). Virulence et résistance: deux caractéristiques antagonistes chez *Escherichia coli*?. *Réanimation*. **21**, 249-251.

Diemer T., Michelmann HW., Schiefer HG., Rován E., Mayer F., Weidner W. (1996). Influence of *Eschenchza colz* on motility parameters of human spermatozoa in vitro. *Int J Androl*. 19:271-277.

Diemer T., Huwe P., Michelmann HW., Mayer F., Schiefer HG., Weidner W., (2000). *Escherichia coli*-induced alterations of human spermatozoa. An electron microscopy analysis. *Int J Androl*. 23:178- 186.

Diemer T., Ludwig M, Huwe P, Hales DB, Weidner W. (2000). Influence of urogenital infection on sperm function. *Curr Opin Urol*. 10:39-44.

Diemer T., Huwe P., Ludwig M., Hauck E.W. and Weidner W. (2003). Urogenital infection and sperm motility. *ANDROLOGIA*. 35 :283-287.

É

El-Hamzaoui SA. et Dikoumba A. (2005). « Spermogramme et spermocytogramme ». *Revue Française des Laboratoires* .369:29–34.

Enne VI., Delsol AA., Davis GR., Hayward SL., Roe JM., Bennett PM.(2005). Assessment of the fitness impacts on *Escherichia coli* of acquisition of antibiotic resistance genes encoded by different types of genetic element. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 56(3): 544–551.

Erbengi T. (1993). Ultrastructural observations on the entry of *Chlamydia trachomatis* into human spermatozoa. *Human Reproduction* 8:416±421.

Références Bibliographiques

Esen M, Schreiner B, Jendrossek V, et al.(2001). Mechanisms of *Staphylococcus aureus* induced apoptosis of human endothelial cells. *Apoptosis*. 6: 431-439.

F

Fraczek M. and Kurpisz M.(2007). Inflammatory mediators exert toxic effects of oxidative stress on human spermatozoa. *J Androl*. 28:325–33.

Fraczek M., Szumala-Kakol A., Jedrzejczak P., Kamieniczna M., Kurpisz M.(2007) Bacteria trigger oxygen radical release and sperm lipid peroxidation in in vitro model of semen inflammation. *Fertil Steril*. 88:1076–85.

Fraczek M. and 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.

G

Golshani M., Taheri S., Eslami G., Suleimani Rahbar AA., Fallah F., Goudarzi H.(2006). Genital Tract Infection in Asymptomatic Infertile Men and Its Effect on Semen Quality. *Iranian J Publ Health*. 35(3):81-84.

Grizard G., Janny L., Hermabessiere J., Sirot J., Boucher D.(1985). Seminal biochemistry and sperm characteristics in infertile men with bacteria in ejaculate. *Arch. Androl*.15:181-186.

Grizard G., Force A., Laurent J., et Boucher D. (2003). « Principes de préparation et de congélation des spermatozoïdes testiculaires humains ». *Andrologie*. 13 (2):128.

Grossgebauer K., Hennig A. and Hartmann D. (1979). Mykoplasmenbedingte Spermatozoonkopfschäden bei infertilen Männern. *Hautarzt* 28: 299±302.

Guerin JF., Ben Ali H., Cottinet D., Rollet J.(1990).Seminal alpha-glucosidase activity as a marker of epididymal pathology in nonazoospermic men consulting for infertility. *J. Androl*. 11:240-245.

H

Henkel R., Schill W.B.(1998). Sperm separation in patients with urogenital infections. *Andrologia*. 30, 91–97.

Références Bibliographiques

Hiller S., Rabe L., Muller C., Zarutskie P., Kuzan F., Stenchever M.(1990) Relationship of bacteriologic characteristics to semen indices in men attending an infertility clinic. *Obstet Gynecol.*75:800-4.

Horcajada JP., Soto S., Gajewski A., Smithson A., Jiménez de Anta M.T., Mensa J., Vila J., Johnson JR. (2005).Quinolone-Resistant uropathogenic *Escherichia coli* strains from phylogenetic group B2 have fewer virulence factors than their susceptible counterparts. *J. Clin. Microbiol.* 43 : 2962-2964.

Hughes G. and Fenton KA.(2005) Recent trends in gonorrhoea—an emerging public health issue. 5:1–2.

J

Jacobo P., Guazzone VA., Theas MS., Lustig L.(2011). Testicular autoimmunity. *Autoimmun Rev.* 10:201–204.

Jarow JP., John MDA. Kirkland Jr., MD Dean Go Assimos, M.D.(1990). Association Of Antisperm Antibodies With Chronic Nonbacterial Prostatitis. *Urology.* 36(2):154-156.

Johnson JR., Kuskowski MA., O'Bryan TT., Colodner R., and Raz R. (2005b). Virulence genotype and phylogenetic origin in relation to antibiotic resistance profile among *Escherichia coli* urine sample isolates from Israeli women with acute uncomplicated cystitis. *Antimicrob Agents Chemother.* 49(1): 26-31.

Jonas D., Walev I., Berger T.(1994).Novel path to apoptosis: Small transmembrane pores created by staphylococcal alpha-toxin in T lymphocytes evoke internucleosomal DNA degradation. *Infect Immunol.* 62: 1304–1312.

Jones NL., Islur A., Haq R., et al. (2000).*Escherichia coli* Shiga toxins induce apoptosis in epithelial cells that is regulated by the Bcl-2 family. *Am J Physiol.*278: 811–819.

K

Karisik E., Ellington MJ., Livermore DM., Woodford N.(2008).Virulence factors in *Escherichia coli* with CTX-M-15 and other extended-spectrum β - lactamases in the UK. *J Antimicrob Chemother.* 61:54-8.

Références Bibliographiques

Kaur K. and Prabha V. (2013). Sperm Impairment by Sperm Agglutinating Factor Isolated from *Escherichia coli*: Receptor Specific Interactions.

Keck C., Gerber-Schäfer C., Clad A., Wilhelm C. and Breckwoldt M.(1998). Impact of Seminal tract infections on male infertility. *Human Reproduction Update* 4 (6): 891-903.

Kempf I. et Zeitouni S. (2012). The cost of antibiotic resistance: Analysis and consequences. *Pathologie Biologie.* 60(2) : 9-14.

Krieger JN., Nyberg L Jr. et Nickel JC. (1999). NIH consensus definition and classification of prostatitis. *JAMA* 282, 236–237.

L

Lavigne J., Blanc-potard A., Bourg G., Callaghan D. O., & Sotto A. (2006a). *Caenorhabditis elegans* : modèle d'étude *in vivo* de la virulence bactérienne *Caenorhabditis elegans* : in vivo study model of bacterial virulence, 54 :439–446.

Lavigne J., Bourg G., Moreau J., Chanal C., & Bouziges N. (2006b). Virulence genotype and nematode-killing properties of extra-intestinal *Escherichia coli* producing CTX-M β -lactamases. *Clinical Microbiology and Infection*, 12:1199–1206.

Lopes S., Jurisicova A., Sun JG., Casper RF. (1998). Reactive oxygen species: Potential cause for DNA fragmentation in human spermatozoa. *Hum Reprod* 13: 896–900.

M

Martinez-Pastor F., Garcia-Macias V., Alvarez M., Chamorro C., Herraes P., Paz P., et Anel L.(2006). Comparison of two methods for obtaining spermatozoa from the cauda epididymis of Iberian red deer. *Theriogenologie*, 65(3): 471–485.

Mascarenhas MN., Flaxman SR., Vanderpoel S. et al. (2012). National, regional and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys. *PloS Med.* 9.

Melnyk AH., wong A. and Rees K.(2014). The fitness costs of antibiotics resistance mutations. *Evolutionary Applications.* 1752-4571.

Mora A., Herrera A., Mamani R., López C., Alonso MP., Blanco JE., et al.(2010). Recent emergence of clonal group O25b:K1:H4-B2-ST131 *ibeA* strains among *Escherichia coli*

Références Bibliographiques

poultry isolates, including CTX-M-9- producing strains, and comparison with clinical human isolates. *Appl Environ Microbiol.*76:6991-7.

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.

N

Nickel JC., Nyberg LM. et Hennenfent M. (1999). Research guidelines for chronic prostatitis: consensus report from the first National Institutes of Health International Prostatitis Collaborative Network. *Urology.* 54: 229–233.

Nilsson A I, Otto GB., Olle A., Gunnar K., and Andersson D I.(2013). Biological Costs and Mechanisms of Fosfomycin Resistance in *Escherichia coli*. *ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY.* 47(9): 2850-2858.

Nunez-Calonge R., Caballero P., Redondo C., Baquero F., Martinez-Ferrer M. and Meseguer MA.(1998). *Ureaplasma urealyticum* reduces motility and induces membrane alterations in human spermatozoa. *Human reproduction.*13(10):2756-2761.

O

Ohri M. and Prabha V. (2005). Isolation of a sperm agglutinating factor from *Staphylococcus aureus* isolated from a woman with unexplained infertility *Fertil Steril*, 84:1539-1541.

P

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.

Pellati D. et al. (2008). *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 140:3–11.

Purvis K., et Christiansen E. (1993). Infection dans l'appareil reproducteur masculin. Impact, diagnostic et traitement en relation avec l'infertilité masculine. *Int J Androl.*16: 1-13.

Q

Qiang H., Jiang MS., Lin JY., He WM.(2007). Influence of enterococci on human sperm membrane in vitro. *Asian J Androl.*9:77–81.

Références Bibliographiques

Qu N., Xu M., Mizoguchi I., Furusawa J., Kaneko K., Watanabe K.(2013). Pivotal roles of T-helper 17-related cytokines, IL-17, IL-22, and IL-23, in inflammatory diseases. *Clin Dev Immunol.*968549.

R

Riedel HH., Semm K.(1980). Leucospermia and male fertility. *Arch Androl* .4:51--6.

S

Sandegren L., Lindqvist A., Kahlmeter G., Andersson DI.(2008). Nitrofurantoin resistance mechanism and fitness cost in *Escherichia coli*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.*62(3): 495-503.

Sanocka D., Fraczek M., Jedrzejczak P., Szumala-Kakol A., Kurpisz M.(2004). Male genital tract infection: an influence of leukocytes and bacteria on semen. *J Reprod Immunol.*62:111–124.

Sanocka-Maciejewska D., Ciupińska M. and Kurpisz M. (2005). Infection bactérienne et la qualité du sperme. *J Reprod Immunol*; 67:51-6.

Schaufler K., Wieler LH., Semmler T., Ewers Ch. and Guenther S.(2013). ESBL-plasmids carrying toxin-antitoxin systems can be “cured” of wild-type *Escherichia coli* using a heat technique. *Gut Pathogens.* 5:34.

Schaufler K., Semmler T., Wieler LH., Wöhrmann M., Baddam R., Niyaz A., Müller K., Kola A. , Fruth A. ,Ewers Ch.(2016). Clonal spread and interspecies transmission of clinically relevant ESBL-producing *Escherichia coli* of ST410—another successful pandemic clone? *FEMS Microbiology Ecology*, Volume 92, Issue 1.

Sinha-Hikim AP., Wang C., Lue Y., et al. (1998). Spontaneous germ cell apoptosis in humans: Evidence of ethnic differences in the susceptibility of germ cells to programmed cell death. *J Clin Endocrinol Metab.* 83: 152–156.

Soto SM., Smithson A., Horcajada JP., Martinez JA., Mensa JP., Vila J.(2006). Implication of biofilm formation in the persistence of urinary tract infection caused by uropathogenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Infect.*12:1034-6.

Références Bibliographiques

Swenson CE, Toth A, Toth CL, Wolfgruber L, O'Leary WM. (1980). Asymptomatic bacteriospermia in infertile men. *Andrologia*.12:7-11.

Swerdloff RS., Sinha Hikim AP., Lue YH. , Paul I., Khay ST., Bui T., Leung A., Wang Ch.(1999). Single Exposure to Heat Induces Stage-Specific Germ Cell Apoptosis in Rats: Role of Intratesticular Testosterone on Stage Specificity. *Endocrinology*.140(4):1709–1717.

T

Tomlinson MJ., Barratt CL., Cooke ID.(1993). Prospective study of leukocytes and leukocyte subpopulations in semen suggests they are not a cause of male infertility. *Fertil Steril*.60:1069–1075.

Tremellen K.(2008). Oxidative stress and male infertility: a clinical perspective. *Human Reprod.Update*.14:1-16.

U

Úbeda JL., Raquel A., Dahmani Y., Maria VF., 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.

V

Villegas J., Schulz M., Soto L., et Sanchez R. (2005). Bacteria induce expression of apoptosis in human spermatozoa. *Apoptosis : An International Journal on Programmed Cell Death*, 10(1):105–10.

Vinhas-Calhau V.M.T.(2014).Virulence factors associated with antimicrobial resistance determinants among *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. Falcudade De Farmácia. Universidade de Coimbra.

W

WeidnerW., KrauseW., Ludwig M.(1999). Relevance of male accessory gland infection for subsequent fertility with special focus on prostatitis. *Hum Reprod Update*.5:421–32.

Weng SL., Taylor SL., Morshedi M., et al.(2002). Caspase activity and apoptotic markers in ejaculated human sperm. *Mol Hum Reprod*. 8: 984–991.

Références Bibliographiques

Wolff H., Politch JA., Martinez A., Haimovici F., Hill JA.(1990). Anderson DJ. Leukocytospermia is associated with poor semen quality. *Fertil Steril.*53:528–536.

Wolff H., Panhans A., Stolz W., Meurer M., (1993). Adherence of Escherichia coli to sperm: a mannose mediated phenomenon leading to agglutination of sperm and E. coli. *Fertil. Steril.* 60, 154–158.

World Health Organization.(2010).WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. Geneva: WHO Press.

X

Xu-Bao., Shi LX., Yang J., Ai-Hong Ma, Jianjun Z., Ma Xu, Clifford G. Tepper, Christopher PE., Hsing-Jien K., et Ralph W. deVere White.(2007). « An androgen-regulated mRNA suppresses Bak1 expression and induces androgen-independent growth of prostate cancer cells ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104 (50):19983–19988.

Y

Yu S Z., Sheila W., Laura L., Steve T., Fiona K., Christine T., et al.,(2013). Partial deletion of chromosome 8 b-defensin Cluster Confers Sperm Dysfunction and Infertility in Male Mice. *PLOS Genetics.* 9(10): 1-11.

Z

Zan Bar T., Ronen Y., Tomer H., Krupnik S. and Bartoov B..(2008). Influence of *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* on ram sperm cell quality. *Journal of Medical Microbiology.*57:1405–1410.

Références Bibliographiques

Glossaires

Glossaire

Acrosome	Est la partie antérieure du spermatozoïde qui libère les enzymes permettant la pénétration du spermatozoïde dans l'ovule lors de la fécondation.
Agglutination	Est l'agrégation c'est-à-dire la réunion en amas de particules support d'un antigène sous action d'anticorps spécifiques.
Andrologie	Est une branche de l'Urologie, c'est une discipline médicale traitant de la physiologie et de la pathologie de l'appareil génital masculin
Apoptose	Est le processus par lequel des cellules déclenchent leur auto-obstruction 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
Asthénozoospermie	Est une affection du sperme due à une mauvaise mobilité des spermatozoïdes. Habituellement, on classe les spermatozoïdes en quatre groupes : les rapides (a), les lents (b), les mobiles sur place (c) et les immobiles (d). On considère qu'une personne est atteinte d'asthénospermie lorsque son pourcentage de spermatozoïdes mobiles (issus des groupes a et b) est inférieur à 32 %.
Cellule de sertoli	Sont des grandes cellules de soutien qui se trouvent au sein des tubes séminifères du testicule. Elles ont pour rôle de contrôler la production des spermatozoïdes puis de les conserver en bonne condition.
Epididymite	Une inflammation de l'épididyme.

Glossaire

Homéostasie	Corresponds à la capacité d'un système à maintenir l'équilibre de son milieu intérieur, quelles que soient les contraintes externes.
Infertilité	C'est l'inaptitude de concevoir une descendance après une année de rapport sexuel régulier non protégé.
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 spermes. Ce type de trouble témoigne généralement d'un processus inflammatoire.
Nécrozoospermie	Est une affection du sperme qui se traduit par un nombre important de spermatozoïdes morts (> 42 %).
Oligoasthénozoospermie	C'est une cause d'infertilité masculine, c'est une affection qui touche deux paramètres de la qualité du sperme : la concentration et la mobilité des spermatozoïdes.
Oligozoospermie	La présence des spermatozoïdes en quantité anormale faible (moins de 20×10^6 spz/ml de sperme).
Orchite	Une inflammation chronique ou aigüe des testicules qui font partie de l'appareil génital masculin des mammifères.
Réaction acrosomique	Modification enzymatique intervenant entre le moment de l'éjaculation et la fécondation et constituant principalement en une ouverture de l'acrosome qui coiffe la partie supérieure du noyau des spermatozoïdes.
Spermatide	Une cellule sexuelle mâle issue de la méiose

Glossaire

	qui se différencie en spermatozoïdes. Les spermatides sont formées lors de la spermatogenèse. Ce sont des cellules haploïdes.
Spermatocyte	Qualifie un gamétoocyte mâle produisant un ou plusieurs spermatozoïdes ou une spermatie
Spermatogonie	Se forme au cours de la phase embryonnaire, suite à la différenciation des cellules germinales chez l'embryon masculin. La spermatogonie se trouve au contact des tubes séminifères des testicules. Elle s'active à la puberté.
Sperme	Est un liquide biologique expulsé du corps lors d'éjaculation et contenant des spermatozoïdes sécrétés par les organes sexuels mâles, stockés dans les testicules.
Spermocytogramme	Examen médical correspondant à l'analyse cytologique et morphologique des spermatozoïdes au microscope, permettant l'évaluation de la fertilité masculine.
Spermogramme	C'est un examen médical au cours duquel sont analysés les trois paramètres principaux du sperme d'un homme, qui sont le nombre de spermatozoïdes, leur mobilité ainsi que leur forme (morphologie), généralement dans le cadre d'un bilan d'infertilité d'un couple.
Toxine	Substance toxique élaborée par un organisme vivant auquel elle confère son pouvoir pathogène.

Annexes

Annexes

Tableau 1 : Etude statistique des VSL des spermatozoïdes à T=0

PLSD de Fisher pour VSL

Effets : souche

Niveau de signif. 5 %

Eclaté par : temps

Céllule : 0

	Ecart moyen	Ecart critique	Valeur de p	
ATCC, contrôle	-0,72	0,75	0,0615	
ATCC, NDM M	-0,01	0,78	0,9745	
ATCC, NDM S	-3,17	0,8	<0,0001	S
ATCC, S01M	0,32	0,78	0,4267	
ATCC, S01S	-0,57	0,81	0,1689	
ATCC, souche	33,58	1,#J	-1,#QNB	
contrôle, NDM M	0,7	0,78	0,0773	
contrôle, NDM S	-2,45	0,8	<0,0001	S
contrôle, S01M	1,03	0,78	0,0098	S
contrôle, S01S	0,15	0,81	0,7246	
contrôle, souche	34,29	1,#J	-1,#QNB	
NDM M, NDM S	-3,15	0,82	<0,0001	S
NDM M, S01M	0,33	0,81	0,4252	
NDM M, S01S	-0,56	0,84	0,1933	
NDM M, souche	33,59	1,#J	-1,#QNB	
NDM S, S01M	3,48	0,83	<0,0001	S
NDM S, S01S	2,6	0,86	<0,0001	S
NDM S, souche	36,75	1,#J	-1,#QNB	
S01M, S01S	-0,89	0,84	0,0393	S
S01M, souche	33,26	1,#J	-1,#QNB	
S01S, souche	34,15	1,#J	-1,#QNB	

947 cas omis (manquants).

Annexes

Tableau 2 : Etude statistique des VSL des spermatozoïdes de différentes souches à T=1heur

PLSD de Fisher pour VSL

Effets : souche

Niveau de signif. 5 %

Eclaté par : temps

Céllule : 1

	Ecart moyen	Ecart critique	Valeur de p	
ATCC, contrôle	-7,38	1,05	<0,0001	S
ATCC, NDM M	-7,89	1,15	<0,0001	S
ATCC, NDM S	-1,57	1,15	0,0073	S
ATCC, S01M	3,71	1,22	<0,0001	S
ATCC, S01S	2,85	1,24	<0,0001	S
ATCC, souche	20,92	1,#J	-1,#QNB	
contrôle, NDM M	-0,51	0,99	0,3112	
contrôle, NDM S	5,81	0,98	<0,0001	S
contrôle, S01M	11,09	1,07	<0,0001	S
contrôle, S01S	10,23	1,08	<0,0001	S
contrôle, souche	28,3	1,#J	-1,#QNB	
NDM M, NDM S	6,32	1,09	<0,0001	S
NDM M, S01M	11,6	1,16	<0,0001	S
NDM M, S01S	10,74	1,18	<0,0001	S
NDM M, souche	28,81	1,#J	-1,#QNB	
NDM S, S01M	5,28	1,16	<0,0001	S
NDM S, S01S	4,42	1,17	<0,0001	S
NDM S, souche	22,49	1,#J	-1,#QNB	
S01M, S01S	-0,86	1,25	0,1758	
S01M, souche	17,21	1,#J	-1,#QNB	
S01S, souche	18,07	1,#J	-1,#QNB	

2046 cas omis (manquants).

Annexes

Tableau 3 : Etude statistique des VSL des spermatozoïdes de différentes souches à T=2heurs

PLSD de Fisher pour VSL

Effets : souche

Niveau de signif. 5 %

Eclaté par : temps

Céllule : 2

	Ecart moyen	Ecart critique	Valeur de p	
ATCC, contrôle	-6,36	0,75	<0,0001	S
ATCC, NDM M	-1,78	0,75	<0,0001	S
ATCC, NDM S	-2,44	0,74	<0,0001	S
ATCC, S01M	0,8	0,8	0,0524	
ATCC, S01S	-5,32	0,76	<0,0001	S
ATCC, souche	7,76	1,#J	-1,#QNB	
contrôle, NDM M	4,58	0,66	<0,0001	S
contrôle, NDM S	3,92	0,65	<0,0001	S
contrôle, S01M	7,16	0,72	<0,0001	S
contrôle, S01S	1,04	0,68	0,0025	S
contrôle, souche	14,12	1,#J	-1,#QNB	
NDM M, NDM S	-0,66	0,65	0,0477	S
NDM M, S01M	2,58	0,72	<0,0001	S
NDM M, S01S	-3,53	0,67	<0,0001	S
NDM M, souche	9,55	1,#J	-1,#QNB	
NDM S, S01M	3,24	0,72	<0,0001	S
NDM S, S01S	-2,88	0,67	<0,0001	S
NDM S, souche	10,2	1,#J	-1,#QNB	
S01M, S01S	-6,11	0,74	<0,0001	S
S01M, souche	6,96	1,#J	-1,#QNB	
S01S, souche	13,08	1,#J	-1,#QNB	

5723 cas omis (manquants).

Annexes

Tableau 4 : Etude statistique des VSL des spermatozoïdes de différentes souches à T=4 heures

PLSD de Fisher pour VSL

Effets : souche

Niveau de signif. 5 %

Eclaté par : temps

Céllule : 4

	Ecart moyen	Ecart critique	Valeur de p	
ATCC, contrôle	-3,11	0,73	<0,0001	S
ATCC, NDM M	-3,02	0,74	<0,0001	S
ATCC, NDM S	0,56	0,78	0,1648	
ATCC, S01M	-1,44	0,8	0,0004	S
ATCC, S01S	-1,19	0,81	0,0038	S
ATCC, souche	5,99	1,#J	-1,#QNB	
contrôle, NDM M	0,1	0,62	0,7587	
contrôle, NDM S	3,67	0,68	<0,0001	S
contrôle, S01M	1,67	0,7	<0,0001	S
contrôle, S01S	1,92	0,7	<0,0001	S
contrôle, souche	9,11	1,#J	-1,#QNB	
NDM M, NDM S	3,57	0,69	<0,0001	S
NDM M, S01M	1,57	0,71	<0,0001	S
NDM M, S01S	1,82	0,71	<0,0001	S
NDM M, souche	9,01	1,#J	-1,#QNB	
NDM S, S01M	-2	0,76	<0,0001	S
NDM S, S01S	-1,75	0,76	<0,0001	S
NDM S, souche	5,44	1,#J	-1,#QNB	
S01M, S01S	0,25	0,78	0,5311	
S01M, souche	7,44	1,#J	-1,#QNB	
S01S, souche	7,19	1,#J	-1,#QNB	

7471 cas omis (manquants).

Annexes

Tableau 5 : Etude statistique des VSL des spermatozoïdes de différentes souches à T=6 heures

PLSD de Fisher pour VSL

Effets : souche

Niveau de signif. 5 %

Eclaté par : temps

Céllule : 6

	Ecart moyen	Ecart critique	Valeur de p	
ATCC, contrôle	-6,91	0,7	<0,0001	S
ATCC, NDM M	-1,45	0,76	0,0002	S
ATCC, NDM S	-0,33	0,81	0,4296	
ATCC, S01M	-4,51	0,72	<0,0001	S
ATCC, S01S	-0,3	0,83	0,4726	
ATCC, souche	4,45	1,#J	-1,#QNB	
contrôle, NDM M	5,46	0,61	<0,0001	S
contrôle, NDM S	6,59	0,67	<0,0001	S
contrôle, S01M	2,4	0,56	<0,0001	S
contrôle, S01S	6,61	0,7	<0,0001	S
contrôle, souche	11,37	1,#J	-1,#QNB	
NDM M, NDM S	1,12	0,74	0,0028	S
NDM M, S01M	-3,06	0,63	<0,0001	S
NDM M, S01S	1,15	0,76	0,0030	S
NDM M, souche	5,91	1,#J	-1,#QNB	
NDM S, S01M	-4,18	0,69	<0,0001	S
NDM S, S01S	0,02	0,81	0,9561	
NDM S, souche	4,78	1,#J	-1,#QNB	
S01M, S01S	4,21	0,71	<0,0001	S
S01M, souche	8,96	1,#J	-1,#QNB	
S01S, souche	4,76	1,#J	-1,#QNB	

8693 cas omis (manquants).

Annexes

Résumé

Le présent travail, a fixé comme objectif l'étude de l'impact des bactéries résistantes aux antibiotiques sur les paramètres spermatiques. Pour ce faire, le sperme ovin a été infecté artificiellement in vitro par différentes souches d'*E. coli* de profils de résistances et de traits de virulence différents : *E. coli* ATCC sensible aux antibiotiques, *E. coli* productrice de BLSE, *E. coli* productrice de carbapénémase (NDM) et ainsi que leurs mutantes respectives à raison de 10^8 UFC/ml. La qualité du sperme a été évaluée par la suite par l'analyseur informatique, le système CASA afin de mesurer la vitesse progressive linéaire (VSL). Les résultats obtenus montrent que les bactéries sensibles altèrent beaucoup plus les paramètres spermatiques *in vitro* comparés aux souches résistantes, mais la perte des gènes de résistance n'induit pas forcément à la récupération de la virulence des souches.

Mots clés : sperme ovin, *E. coli*, mobilité spermatique, résistance, virulence, antibiotique.

Summary

The present work aims to study the impact of antibiotic resistant bacteria on sperm parameters. For this, an artificial infection of ovine sperm has been performed, in the presence of *E. coli* strains, with different resistance profiles and virulence traits: *E. coli* ATCC25922, sensitive to all antibiotics, ESBL producing *E. coli*, *E. coli* producing carbapenemase (NDM), as well as their respective mutant strains. The quality of sperm has been evaluated by a computer analyzer CASA to measure the linear progressive velocity (VSL). The results showed that sensitive *E. coli* affects more sperm parameters than the resistant strains. However, the loss of resistance determinant doesn't necessarily induce the recovery of the virulence of the strains.

Key words: ovine sperm, *E. coli*, sperm mobility, resistance, virulence, antibiotics.