

A1

**DEMANDE  
DE BREVET D'INVENTION**

(21)

**N° 81 03653**

---

(54) Procédé de préparation d'un extrait de sperme, extrait obtenu selon ce procédé et son utilisation notamment en thérapeutique et en cosmétique.

(51) Classification internationale (Int. Cl. 8) : **A 61 K 35/52.**

(22) Date de dépôt..... **24 février 1981.**

(33) (32) (31) Priorité revendiquée :

(41) Date de la mise à la disposition du  
public de la demande..... **B.O.P.I. — « Listes » n° 34 du 27-8-1982.**

---

(71) Déposant : **MANCORI Alvaro, résidant en Italie.**

(72) Invention de : **Alvaro Mancori.**

(73) Titulaire : *Idem* (71)

(74) Mandataire : **Cabinet Beau de Loménie,  
55, rue d'Amsterdam, 75008 Paris.**

Procédé de préparation d'un extrait de sperme, extrait obtenu selon ce procédé et son utilisation notamment en thérapeutique et en cosmétique.

La présente invention a trait à un nouveau procédé  
5 de préparation d'un extrait de sperme. Elle concerne également l'extrait obtenu selon ce procédé en tant que produit industriel nouveau, ainsi que son utilisation notamment en thérapeutique et en cosmétique.

On sait que le sperme est constitué de cellules de  
10 reproduction, les spermatozoïdes, et d'un véhicule de conservation et de transport des dites cellules, le liquide spermatique. Le liquide spermatique qui est essentiellement constitué d'eau comprend notamment des sucres et des mucopolysaccharides. Le spermatozoïde comprend à l'intérieur de sa cellule de l'eau essen-  
15 tiellement et des substances biochimiques telles que notamment des enzymes, des protéines, des aminoacides, des sucres (en particulier le fructose qui est fabriqué par voie enzymatique) et bien entendu des moyens permettant la fabrication de protéines et d'enzymes (ADN, t-ARN, m-ARN et r-ARN). Parmi les constituants biochimiques  
20 qu'il renferme, le spermatozoïde comprend des substances que l'on ne retrouve nulle part ailleurs. En particulier, c'est le cas de la lactodéshydrogénase (en abrégé LDH) dans le domaine enzymatique : quand on soumet à une électrophorèse la LDH du sang, on observe cinq bandes, alors que à partir de la LDH du sperma-  
25 tozoïde on obtient une bande supplémentaire (dénommée ci-après "LDH-X") située entre les bandes 3 et 4 de la LDH du sang.

On sait également que le spermatozoïde a la faculté de pénétrer in vitro dans les cellules somatiques et d'imposer son ADN dans les noyaux des cellules envahies.

30 On sait enfin que la cellulothérapie, qui a été préconisée dans le passé pour revitaliser les cellules vieilles de l'organisme par administration, notamment par voie injectable, d'extraits cellulaires d'organes tels que moelle osseuse, rate, placenta et embryon, donne des effets bénéfiques temporaires

(essentiellement au début du traitement) et conduit à des effets néfastes liés à des mécanismes de rejet.

Selon l'invention, on propose une nouvelle solution technique pour résoudre le problème médical de la revitalisation des cellules, qui consiste à extraire puis administrer la plus grande partie des constituants biochimiques essentiels situés à l'intérieur de la cellule des spermatozoïdes.

Un des buts de l'invention est de préconiser un procédé d'extraction du sperme conduisant à un produit final renfermant la plupart des constituants biochimiques essentiels non dégradés ou non dénaturés.

Un autre but de l'invention est de proposer un extrait de sperme administrable par voie locale, orale et injectable sans mécanisme de rejet, et utile dans le domaine de la revitalisation des cellules vieilles notamment en thérapeutique et en cosmétique.

Le procédé selon l'invention pour la préparation d'un extrait de sperme utile en thérapeutique et en cosmétique, qui comprend l'ouverture des cellules des spermatozoïdes par voie mécanique et l'extraction des constituants biochimiques contenus à l'intérieur des dites cellules, est caractérisé en ce que l'ouverture des cellules des spermatozoïdes est réalisée en centrifugeant à une vitesse supérieure ou égale à 10000 tours/minute, pendant 2 à 10 minutes, de préférence pendant 4 à 6 minutes, du sperme renfermant des spermatozoïdes vivants et à maturation, et en ce que l'on écarte le culot de centrifugation et recueille le liquide ainsi obtenu.

Le sperme qui intervient comme matière première peut être d'origine animale (cheval, taureau et porc notamment) ou humaine. Il est utilisé selon l'invention après contrôles et analyses préalables. Les contrôles et analyses ont pour objet d'écarter tout sperme (i) jugé insuffisant en ce qui concerne la qualité et la quantité des spermatozoïdes qu'il contient, ou (ii) provenant d'un donneur souffrant d'une maladie grave telle que notamment les maladies virales et les maladies dites héréditaires.

Par exemple chez l'homme, l'éjaculation donnant en général un volume de sperme de 3 à 4 cm<sup>3</sup>, on a intérêt à écarter les éjaculats ayant un volume nettement inférieur à 2 cm<sup>3</sup> qui, sur le plan de la qualité des spermatozoïdes, sont considérés comme  
5 déficients, de même on a intérêt à écarter les éjaculats ayant un volume nettement supérieur à 4 cm<sup>3</sup> qui, sur le plan de la quantité des spermatozoïdes, ne conviennent pas, les spermatozoïdes étant dans ce cas trop dilués dans le sperme.

Il est essentiel, selon le procédé de l'invention,  
10 que les spermatozoïdes que l'on traite soient vivants et à maturation (c'est-à-dire à l'état adulte). En effet, à partir de spermatozoïdes non vivants ou non adultes, on ne pourrait pas recueillir tous les constituants biochimiques souhaités, l'intérieur des cellules des spermatozoïdes morts se dégradant par autolyse,  
15 et les spermatozoïdes non adultes ne pouvant pas synthétiser un certain nombre de protéines et d'enzymes.

En conséquence, pour avoir des spermatozoïdes vivants et adultes au moment de la centrifugation, on a intérêt sur le plan industriel à congeler à une température inférieure  
20 ou égale à - 20° C le sperme qui a été éjaculé avant de procéder à ladite centrifugation. On pourra par exemple congeler dans de l'azote liquide à - 196°C, à condition de diluer le sperme avec de l'eau pour éviter l'éclatement de la plupart des spermatozoïdes. De façon avantageuse, la congélation sera effectuée à une  
25 température inférieure ou égale à - 40°C. En pratique, la congélation du sperme interviendra au plus tard 24 heures après l'éjaculation.

Pour procéder à la centrifugation, on décongèle le sperme en l'amenant à une température comprise entre 0 et 25°C.  
30 La centrifugation mise en oeuvre à une température inférieure ou égale à 25°C, de préférence comprise entre 2 et 20°C et de façon plus avantageuse comprise entre 15 et 20°C, sera réalisée dans les 48 heures qui suivent la décongélation et de préférence dans les 12 heures qui suivent ladite décongélation.

35 La centrifugation qui est mise en oeuvre à une

vitesse supérieure ou égale à 10.000 tours/minute pendant 2 à 10 minutes, sera avantageusement effectuée à une vitesse comprise entre 15.000 et 30.000 tours/minute pendant 4 à 6 minutes.

Après centrifugation, on écarte l'insoluble qui est  
5 constitué essentiellement par des fragments de membrane de cellule, et recueille la fraction liquide qui contient la plupart des constituants biochimiques souhaités.

Selon une des caractéristiques de l'invention, on procède à une stérilisation. Cette stérilisation, qui intervient  
10 avant, pendant ou après la centrifugation, est mise en oeuvre en évitant ou limitant au maximum la destruction ou dénaturation des constituants biochimiques. Le moyen que l'on préconise à cet effet est constitué par les rayonnements UV.

Selon une autre caractéristique de l'invention,  
15 on procède à la concentration de la fraction liquide contenant les constituants biochimiques ; cette concentration intervient pendant ou après la centrifugation. Pour éviter ou limiter au maximum la destruction ou dénaturation des constituants biochimiques, le moyen préconisé est l'évaporation de l'eau sous pression  
20 réduite ou par microondes. De façon avantageuse, la concentration sera effectuée de telle façon que l'on obtienne 1 volume de fraction liquide concentrée à partir de 1,5 à 2 volumes de sperme traité. Ainsi, à partir de 3 à 4 cm<sup>3</sup> de sperme soumis à la centrifugation, on recueille 2 cm<sup>3</sup> de fraction liquide après concentration.

25 En pratique, la stérilisation et la concentration sont effectuées à une température avantageusement inférieure ou égale à 25°C. De façon encore plus avantageuse, la température de stérilisation et de concentration sera celle de la centrifugation.

La fraction liquide stérilisée et concentrée ainsi  
30 obtenue est conservée à une température inférieure ou égale à 4°C, et de préférence à une température comprise entre 0 et 2°C.

Cette fraction liquide stérilisée et concentrée peut être utilisée (i) telle quelle, (ii) après avoir été soumise  
35 à une ultrafiltration (dialyse sur membrane) de façon à écarter

les substances ayant un diamètre supérieur à  $3\mu$  et de façon  
avantageuse un diamètre supérieur à  $1\mu$ , ou (iii) diluée avec de  
l'eau distillée, de l'eau déminéralisée ou du sérum physiologique  
(solution aqueuse de NaCl de 0,5 à 9 g/l). L'ultrafiltration par  
5 dialyse a pour objet l'élimination des substances en suspension  
dans la fraction liquide qui pourraient provoquer des phénomènes  
de rejet après injection. L'ultrafiltration constitue ici  
une désépuration.

La fraction liquide, le cas échéant diluée comme  
10 indiqué ci-dessus, est utilisable non dialysée

- a) par voie locale, notamment en cosmétique  
(sous forme de lotion, crème, pommade ou  
gel) quels que soient la nature (animale ou  
humaine) du sperme, d'une part, et le patient  
15 recevant le traitement, d'autre part ; et
- b) par voie orale ou injectable en thérapeutique  
par "autogamétothérapie" ou "homogaméto-  
thérapie", le mode d'administration préféré  
étant la voie intramusculaire.

20 Par "autogamétothérapie" on entend ici le fait que  
le sujet apte à avoir une éjaculation est traité au moyen d'un  
extrait de son propre sperme.

Par "homogamétothérapie" on entend ici le fait  
que le sujet à traiter reçoit un extrait de sperme d'un membre de  
25 sa famille. Ainsi quand le sujet de sexe masculin est dans l'impos-  
sibilité de recueillir son propre sperme pour différentes raisons  
(opération sur la sphère génitale, âge avancé), il sera traité  
avec un extrait de sperme du frère, du fils ou du père (même  
chromosome Y), de même quand il s'agit d'un sujet de sexe féminin  
30 il sera traité avec un extrait de sperme du frère, du fils ou du  
père (même chromosome X).

Par voie orale et injectable, la fraction liquide  
non dialysée ne provoque aucun phénomène de rejet en autogaméto-  
thérapie et en homogamétothérapie.

35 La fraction liquide dialysée est administrable par

voie locale comme la fraction liquide non dialysée, d'une part, elle est également administrable par voie orale ou injectable sans rejet à un sujet de la même espèce que le donneur de sperme, d'autre part.

- 5 La dilution de la fraction liquide dialysée ou non présente un intérêt sur le plan de la standardisation du procédé et de l'extrait selon l'invention, surtout quand ledit extrait va être administré par voie injectable. Si on attribue à un sperme soumis à la centrifugation et comprenant  $10^6$  sperma-
- 10 tozoïdes vivants par  $\text{cm}^3$  une activité enzymatique de 1 en LDH-X contenue dans lesdits spermatozoïdes, on obtient après centrifugation, stérilisation et concentration une fraction liquide ayant une activité enzymatique de 0,60 à 0,85 en LDH-X contenue dans ladite fraction liquide, puis pour administration par voie injectable
- 15 1 volume de ladite fraction liquide étant dilué avec 5 volumes d'eau distillée ou déminéralisée ou de sérum physiologique. A partir d'un éjaculat de sperme humain de 3 à 4  $\text{cm}^3$ , on obtient 2  $\text{cm}^3$  de fraction liquide stérilisée et concentrée que l'on dilue avec 10  $\text{cm}^3$  d'eau distillée pour avoir
- 20 6 doses de 2  $\text{cm}^3$  chacune.

- Selon l'invention, on préconise une composition utile notamment en thérapeutique et en cosmétique caractérisée en ce qu'elle renferme, en association avec un excipient physiologiquement acceptable, un extrait de sperme obtenu selon le
- 25 procédé de l'invention comme principe actif revitalisant.

- La posologie préconisée pour application locale chez l'homme consiste à administrer pendant au moins 1 mois, à raison de 1 application par jour (sauf pendant la menstruation), une composition renfermant 0,05 à 10 % en poids de fraction liquide
- 30 stérilisée et concentrée.

La posologie préconisée pour application par voie injectable (IM) est de 6 doses de fraction liquide (diluée comme indiqué ci-dessus) en autogamétothérapie et en homogamétothérapie pendant au moins 1 à 1,5 mois, à raison de 1 dose tous les

5 ou 7 jours (le traitement étant suspendu pour les femmes et les animaux femelles pendant la menstruation). La fraction liquide dialysée et diluée est administrée selon la même posologie que la fraction liquide diluée et non dialysée, elle permet  
5 l'injection de l'extrait de sperme non seulement en autogamétothérapie et en homogamétothérapie mais encore à des patients de la même espèce que le donneur de sperme mais ayant des chromosomes X et/ou Y différents.

Le meilleur mode de mise en oeuvre de l'invention  
10 consiste

- a) à congeler le sperme d'un sujet à une température inférieure ou égale à  $-40^{\circ}\text{C}$  dans les 24 heures qui suivent l'éjaculation, et de préférence moins de 12 heures après l'éjaculation ;
- 15 b) à décongeler ledit sperme pour l'amener à une température comprise entre  $15$  et  $20^{\circ}\text{C}$  ;
- c) à soumettre dans les 48 heures, et de préférence les 12 heures, qui suivent la décongélation, le sperme à une  
(i) centrifugation à une vitesse comprise entre 15000 et  
20 30000 tours/minute, pendant 4 à 6 minutes, à une température comprise entre  $15$  et  $20^{\circ}\text{C}$ , et (ii) à une stérilisation au moyen de UV à une température également comprise entre  $15$  et  $20^{\circ}\text{C}$  ;
- 25 d) à recueillir le liquide surnageant ainsi obtenu, à le concentrer jusqu'à ce que l'on obtienne 1 volume de liquide surnageant concentré à partir de 1,5 à 2 volumes de sperme soumis à la centrifugation, et à conserver la fraction liquide résultante à une température comprise entre  $0$  et  $2^{\circ}\text{C}$  ; et,
- 30 e) le cas échéant, à soumettre ladite fraction liquide à une dialyse pour écarter les substances ayant un diamètre supérieur à  $3\mu$  et de préférence les substances ayant un diamètre supérieur à  $1\mu$ , puis à conserver la fraction liquide dialysée ainsi obtenue à une température comprise  
35 entre  $0$  et  $2^{\circ}\text{C}$ .



D'autres avantages et caractéristiques de l'invention seront mieux compris à la lecture qui va suivre d'exemples de préparation nullement limitatifs mais donnés à titre d'illustration. Dans ces exemples, le prélèvement du sperme a été  
5 effectué après contrôles et analyses préalables.

#### EXEMPLE 1

##### Extrait de sperme de taureau

8 heures après éjaculation, on congèle à une température de  $-40^{\circ}\text{C}$  un sperme de taureau âgé de 5 ans. Deux  
10 mois après, on décongèle lentement ce sperme jusqu'à ce que l'on atteigne une température de  $15$  à  $20^{\circ}\text{C}$ . A cette température  $3\text{ cm}^3$  de sperme contenant  $10^6$  spermatozoïdes vivants par  $\text{cm}^3$  sont aussitôt à une centrifugation à 15000 tours/minute pendant 6 minutes. La stérilisation au moyen de UV est réalisée pendant  
15 la centrifugation. On recueille le liquide surnageant que l'on concentre sous vide jusqu'à un volume de  $2\text{ cm}^3$ . Le liquide ainsi concentré a une activité enzymatique en LDH-X de 0,75 alors que le sperme soumis à la centrifugation avait une activité enzymatique en LDH-X de 1. Ce liquide concentré est conservé à  $2^{\circ}\text{C}$  jusqu'à  
20 ce qu'il soit utilisé. Il peut notamment être conditionné sous forme de gel, crème ou pommade pour application locale en cosmétique.

#### EXEMPLE 2

##### Extrait de sperme humain

25 On congèle à  $-80^{\circ}\text{C}$  un sperme d'homme âgé de 35 ans, 10 heures après éjaculation. On décongèle lentement jusqu'à ce que l'on atteigne une température de  $15$  à  $20^{\circ}\text{C}$ . Une heure après décongélation  $3\text{ cm}^3$  de sperme renfermant  $10^6$  spermatozoïdes vivants par  $\text{cm}^3$  (activité enzymatique en LDH-X de 1)  
30 sont soumis à une centrifugation à 20000 tours/minute pendant 5 minutes, à une température de  $15$  à  $20^{\circ}\text{C}$ . La stérilisation est effectuée au moyen de UV pendant la centrifugation. On recueille  
le liquide surnageant que l'on concentre sous pression réduite jusqu'à  $2\text{ cm}^3$ . Le liquide ainsi concentré a une activité enzymatique en LDH-X de 0,75 et est conservé sans diminution d'activité  
35

pendant plusieurs mois à 2°C.

#### EXEMPLE 2bis

Le liquide concentré (2 cm<sup>3</sup>) obtenu comme indiqué à l'exemple 2 est dilué avec 10 cm<sup>3</sup> d'eau bidistillée, puis réparti en 6 doses de 2 cm<sup>3</sup> chacune, lesdites doses étant conservées à 2°C jusqu'au moment de l'administration par voie IM.

#### EXEMPLE 3

##### Extrait de sperme humain dialysé

L'extrait de sperme d'un sujet âgé de 45 ans préparé comme indiqué à l'exemple 2, est soumis à une température de 15 à 20°C à une dialyse sur membrane de façon à écarter les substances ayant un diamètre supérieur à 1 $\mu$ . La fraction liquide ainsi obtenue est conservée à 2°C jusqu'au moment de l'emploi.

Le cas échéant, 1 volume de cette fraction liquide est dilué avec 5 volumes d'eau déminéralisée puis réparti en 6 doses de 1 volume chacune qui sont conservées à 2°C jusqu'au moment de l'emploi par voie injectable.

#### EXEMPLES 4 à 7

##### Extraits de sperme humain

A partir d'échantillons de 3 cm<sup>3</sup> de sperme décongelé renfermant 10<sup>6</sup> spermatozoïdes vivants par cm<sup>3</sup> et ayant une activité enzymatique en LDH-X de 1, et en procédant comme indiqué à l'exemple 2 (le donneur étant le sujet de l'exemple 2) en faisant varier la vitesse et la durée de centrifugation, on obtient des fractions liquides concentrées de 2 cm<sup>3</sup> du tableau I ci-après.

TABLEAU I

	Ex. 4	Ex. 5	4x. 6	Ex. 7
30 Vitesse de centrifugation (tours/minute)	10000	15000	30000	35000
Durée de centrifugation (minutes)	10	4	6	5
35 Activité en LDH-X de l'extrait concentré	0,60	0,70	0,70	0,65

Par ailleurs, un essai complémentaire effectué selon la même technique avec une centrifugation à 20000 tours/minute pendant 15 minutes donne une activité de 0,40 en LDH-X de l'extrait concentré, alors que la centrifugation selon l'exemple 2

- 5 (20000 tours/minute ; 5 minutes) donne une activité en LDH-X de 0,75. Ceci montre que lorsque la durée de centrifugation est supérieure à 10 minutes, l'activité enzymatique de l'extrait résultant diminue.

#### EXEMPLE 8

##### 10 Extrait de sperme de cheval

- On congèle le sperme d'un jeune étalon (ayant déjà sailli avec succès) à une température de  $-50^{\circ}\text{C}$ , 12 heures après éjaculation. On décongèle jusqu'à obtenir une température de  $15^{\circ}\text{C}$  puis à cette température on centrifuge  $4\text{ cm}^3$  de sperme ayant
- 15  $10^6/\text{cm}^3$  spermatozoïdes vivants, pendant 4 à 5 minutes. La stérilisation au moyen d'UV est réalisée après la centrifugation. On concentre ensuite le liquide surnageant jusqu'à un volume de  $2\text{ cm}^3$ , le liquide concentré ainsi obtenu est conservé à  $2^{\circ}\text{C}$ .

#### EXEMPLE 9

- 20 1 volume du liquide concentré obtenu à l'exemple 8 est dialysé, dilué avec 5 volumes d'eau et réparti en 6 doses de 1 volume chacune selon le procédé de l'exemple 3. Les doses ainsi obtenues sont conservées à  $2^{\circ}\text{C}$ .

- On a résumé ci-après une partie des essais
- 25 entrepris chez l'homme et l'animal avec les extraits de sperme selon l'invention, en ce qui concerne la revitalisation des cellules vieilles.

#### Essais chez l'homme

- Les essais concernant le traitement de la sénescence
- 30 de la peau (pigmentation de vieillesse notamment sur la peau du visage ou des mains, rides liées à l'absence de souplesse du derme) ont concerné 97 patients (57 femmes et 40 hommes) âgés de 45 à 72 ans, les patients recevant les extraits de sperme par voie locale ou injectable selon la posologie donnée ci-dessus (cure de 4 à 6
- 35 semaines, repos de 1 à 2 mois, nouvelle cure de 4 à 6 semaines puis

examen 2 mois après). Les résultats du traitement ont été donnés dans le tableau II. Dans ces essais, on a observé 3 cas d'échec (pas d'amélioration de l'élasticité du derme).

TABLEAU II

5	Nombre de sujets traités	sexe	origine de l'extrait de sperme	mode d'administra- tion	succès	échec
10	15	F	taureau	local	14	1
	5	M	taureau	local	5	-
	10	F	porc	local	10	-
	8	M	porc	local	8	-
	20	F	homme	local	19	1
	10	M	homme	local	9	1
15	12	F	homme	injection IM	12	-
	17	M	homme	injection IM	17	-

#### Essais chez l'animal

L'administration chez le cheval par voie injectable des extraits de sperme de cheval selon l'exemple 8 (homogamétothérapie) et de l'exemple 9 (animaux traités n'appartenant pas à la famille du donneur) a permis d'observer une amélioration du tonus chez les mâles et les femelles traités, ainsi que de meilleures performances à la course.

## REVENDEICATIONS

1. Procédé de préparation d'un extrait de sperme utile notamment en thérapeutique et en cosmétique en tant qu'agent de revitalisation, ledit procédé, qui comprend l'ouverture des  
5 cellules des spermatozoïdes par voie mécanique et l'extraction des constituants biochimiques contenus à l'intérieur des dites cellules, étant caractérisé en ce que l'ouverture des cellules des spermatozoïdes est réalisée en centrifugeant à une vitesse supérieure ou égale à 10000 tours/minute, pendant 2 à  
10 10 minutes, du sperme contenant des spermatozoïdes vivants et adultes, et en ce que l'on recueille le liquide surnageant.
2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que la centrifugation est effectuée à une vitesse comprise entre 15000 et 30000 tours/minute.
- 15 3. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que la centrifugation est mise en oeuvre pendant 4 à 6 minutes.
4. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que la centrifugation est réalisée à une température inférieure ou égale à 25°C, de préférence comprise entre 2 et 20°C,  
20 et de façon plus avantageuse comprise entre 15 et 25°C.
5. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le liquide surnageant est conservé à une température inférieure ou égale à 4°C et de préférence comprise entre 0 et 2°C.
- 25 6. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le liquide surnageant est soumis à une ultra-filtration notamment par dialyse pour écarter les substances ayant un diamètre supérieur à 3  $\mu$  et de préférence les substances ayant un diamètre supérieur à 1  $\mu$ .
- 30 7. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend une stérilisation au moyen de UV.
8. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend une concentration du liquide surnageant pour obtenir 1 volume dudit liquide surnageant à partir de 1,5 à 2 volumes de  
35 sperme soumis à la centrifugation.

9. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que successivement

- 5 a) on congèle le sperme d'un sujet à une température inférieure ou égale à  $-40^{\circ}\text{C}$  dans les 24 heures qui suivent l'éjaculation, et de préférence moins de 12 heures après l'éjaculation ;
- b) on décongèle ledit sperme pour l'amener à une température comprise entre  $15$  et  $20^{\circ}\text{C}$  ;
- 10 c) on soumet dans les 48 heures, et de préférence les 12 heures qui suivent la décongélation, le sperme à une (i) centrifugation à une vitesse comprise entre 15000 et 30000 tours/minute, pendant 4 à 6 minutes, à une température comprise entre  $15$  et  $20^{\circ}\text{C}$ , et (ii) à une stérilisation au moyen de UV à une température également comprise entre  $15$  et  $20^{\circ}\text{C}$  ;
- 15 d) on recueille le liquide surnageant ainsi obtenu, le concentre jusqu'à ce que l'on obtienne 1 volume de liquide surnageant concentré à partir de 1,5 à 2 volumes de sperme soumis à la centrifugation, et on conserve la fraction liquide résultante à une température comprise entre  $0$  et  $2^{\circ}\text{C}$ ; et
- 20 e) le cas échéant, on soumet ladite fraction liquide à une dialyse pour écarter les substances ayant un diamètre supérieur à  $3\mu$  et de préférence les substances ayant un diamètre supérieur à  $1\mu$ , puis on conserve la fraction
- 25 liquide dialysée ainsi obtenue à une température comprise entre  $0$  et  $2^{\circ}\text{C}$ .

10. Extrait de sperme caractérisé en ce qu'il est obtenu selon le procédé de l'une quelconque des revendications 1 à 9.

11. Composition revitalisante, utile notamment en thérapeutique et en cosmétique, caractérisée en ce qu'elle renferme, en association avec un excipient physiologiquement acceptable, un extrait de sperme selon la revendication 10.