

A faire et ne pas faire dans la biologie de l'infertilité

[F Arnal](#) et [C. Humeau](#)

Préférence pour à "ne pas faire" plutôt que pour à "ne plus faire", car très rares sont les pratiques à l'abandon, alors que les interdictions réglementaires prolifèrent. Et en fait la question ne se présente pas souvent de manière aussi manichéenne et la réponse doit être nuancée.

Il est clair que les objectifs sont d'obtenir des grossesses, d'éviter les effets pervers (grossesses multiples, anomalies...)et aussi de répondre aux normes de sécurité. Les techniques de base étant depuis longtemps connues, les repères auxquels on se réfère habituellement sont les injonctions de la réglementation officielle, les données fournies par les publications et enfin la "rumeur" (ce qu'il est convenu d'appeler les "communications personnelles").

Les domaines dans lesquels le biologiste est amené à intervenir sont multiples et présentent évidemment de nombreuses interconnexions avec la clinique. Ce sont les explorations préalables, la technique courante de l'AMP, les avancées techniques et enfin tout ce qui à trait à la procédure administrative, avec des impératifs différents selon qu'il s'agit d'AMP intra-conjugale ou d'AMP avec tiers donneur, et selon qu'il s'agit de fécondation in vitro ou d'insémination artificielle. Une bonne partie de ce qui est obligatoire fait l'objet d'un Guide de bonnes pratiques arrêté par les pouvoirs publics. En fait il s'agit d'une officialisation de la pratique courante que les biologistes ont élaborée au fil du temps.

avant l'AMP

Un certain nombre d'actes de biologie servent à poser l'indication d'AMP et d'autres visent à assurer la sécurité

Problèmes des indications

Spermogramme-Spermocytogramme

La pratique de cet examen est très largement diffusée. Elle connaît toutefois des extensions très différents d'un laboratoire à l'autre et souvent les médecins et pharmaciens inspecteurs se sont étonnés de cette dispersion.

La numération ne pose pas trop de problèmes, mais il faut savoir qu'une erreur de 10% est courante (même sperme examiné deux fois par le même opérateur ou par deux opérateurs différents). Dès lors, que penser

des résultats donnés sous la forme (46 millions 246700 spermatozoïdes par mL. Il serait bon également de perdre l'habitude de donner la concentration par cM cube ou même à l'inverse par litre.

La mobilité pose plus de problème ; l'évaluation du pourcentage de spermatozoïdes mobiles est évidemment indispensable ; mais elle est encore plus opérateur-dépendante que la numération (les écarts donnés vont du simple au double). Le type de mobilité est tout aussi déterminant, un moyen commode est la qualification de 1 à 5 (1: mobilité sur place ; 2 : mobilité progressive non linéaire ; 3, 4 et 5 : mobilité progressive linéaire à vitesse lente, moyenne ou rapide. En faisant abstraction des variations dues à l'opérateur, on a le choix entre donner les % de différentes catégories ou seulement le type dominant, ce est plus simple et tout aussi informatif. Quant à la conservation de la mobilité à 2 heures, 6 heures, 12 heures etc, il s'agit là de conditions non physiologiques ; cela demande beaucoup de travail et correspond au demeurant à l'évaluation de 1 à 5. Les automates fournissent des pages de chiffres que les prescripteurs ne lisent pas.

La morphologie pose encore plus de problèmes ; elle est très opérateur-dépendante, avec des écarts de 20 à 30%. Est-ce bien fondé quand on ne sait pas faire la différence entre un variant normal et un variant pathologique de s'acharner à élaborer une description détaillée avec les pourcentages des différents types d'anomalies. La plupart du temps ces compte-rendus sont totalement inexploitable ; il suffit de donner le type dominant et de se contenter de signaler une tératologie monomorphe. La microscopie électronique ne donne, en dehors de quelques cas (absence d'acrosome, ou de bras de dynéine), pas de renseignement utile et serait même plutôt de nature à compliquer le problème.

Dès lors est-ce bien nécessaire de prendre toutes ces précautions dites de qualité pour faire un diagnostic de fécondance? En tout cas donner comme critère le nombre en valeur absolue de spermatozoïdes normaux et mobiles est une aberration : un sperme à 10 M et 90% de mobiles est évidemment fécondant alors qu'un sperme à 100 M et 10 % de mobiles ne l'est pas, bien que tout les deux contiennent le même nombre de spermatozoïdes mobiles)

Les tests dits de fécondance

Le plus courant est le test de migration-survie, qui va même devenir obligatoire ; certes il y a une corrélation entre les valeurs fournies par ce test et la fécondance d'un sperme ; cependant, outre le fait que les conditions techniques de sa réalisation sont très difficiles à standardiser, ce test n'est pas fiable, 10% des meilleurs spermes correspondant à un taux de fécondation nul en FIV tandis qu'à l'inverse 10% des plus mauvais en donne une.

Le test de la zone pellucide n'est pas plus fiable et de toute façon il est sans doute entaché d'erreurs puisqu'il est pratiqué sur des zones pellucides venant d'ovocytes non fécondés et il n'est pas démontré qu'il y a absence de corrélation entre l'état de la pellucide et la maturité ovocytaire. On pourrait faire exactement les mêmes remarques à propos des divers tests de réaction acrosomique.

Le test de Hamster ne semble plus préconisé après avoir eu longtemps la faveur de nombreux biologistes, qui auraient dû savoir que les deux courbes des hommes féconds et des hommes inféconds se superposent sur une zone relativement importante

Le test post-coital

Il est préconisé par les conférences de consensus et est repris par les textes réglementaires. Il semble qu'il faille le comprendre non pas comme un examen pré-AMP mais comme un examen de base à réaliser d'emblée devant une infécondité. A noter que de toute façon il est lui aussi relativement dépendant des conditions techniques dans lesquelles il est réalisé et que son interprétation est parfois malaisée.

Problème de sécurité

Spermoculture

Elle est aussi préconisée dans les textes réglementaires et cela peut paraître légitime, étant donné le risque d'échec d'AMP qui est bien connu de tous les praticiens. Or on trouve environ 50% de positifs dans le tout venant ; il semble donc que sa prescription systématique alourdit la procédure et les coûts et qu'il serait plus simple de procéder à cet examen seulement si le spermogramme montre des signes d'appel (temps de liquéfaction allongé, mobilité réduite, présence de gros agglutinats et surtout de leucocytes, a fortiori s'ils sont altérés), sauf pour les spermés de donneurs.

Sérologies

La recherche des marqueurs biologiques d'infections par le Chlamydia, le VIH, l'HTLV, les virus des hépatites B et C, de la syphilis et du CMV chez les donneurs ne semble pas souffrir de discussion, pas plus d'ailleurs que son renouvellement tous les 6 mois.

Bilan génétique

En AMP intraconjugale il n'y a pas lieu de faire une telle enquête sauf exception en fonction des antécédents du couple et qui rentre dans le cadre de l'habituel conseil génétique. Cependant depuis l'instauration de l'ICSI, il paraît tout à fait indispensable de disposer d'un caryotype, puisque le risque d'aberrations chromosomiques est environ 10 fois plus élevé chez les hommes atteints d'une OATS que dans la population générale. Le plus étrange est que selon plusieurs études il en serait de même chez les femmes passant en AMP ; cela voudrait dire qu'il faudrait alors pratiquer de très grandes quantités de caryotypes.

Cela paraît (même si ces observations se confirmaient) très exagéré, sachant que l'AMP, avec un recul de plus de 15 ans, ne donne pas plus d'anomalies congénitales (avec il est vrai un taux d'avortements spontanés précoces plus élevé que dans la reproduction naturelle).

Il ne paraît pas non plus injustifié de rechercher les mutations du gène CFTR dans les cas d'agénésies du déférent. Cependant la question de savoir s'il ne faut s'en tenir ou non à la mutation delta F 508 n'est pas réglée.

En outre on sait maintenant qu'une proportion non négligeable d'hommes porteurs d'une OATS porte une des 700 mutations affectant ce gène. Cela signifierait qu'il faut faire ces tests à tous ces hommes, ce qui est matériellement impossible. Sachant maintenant que les microdélétions du chromosome Y touchent 15 à 20% des hommes inclus dans les programmes d'ICSI, faut-il aussi se lancer dans leur recherche systématique?

Dans l'AMP avec tiers donneur l'enquête génétique comportant caryotype et établissement d'un arbre généalogique est tout à fait indispensable. Ce qui est à prévoir c'est que la recherche du risque zéro nous amène à étendre ces enquêtes à des gènes comme le CFTR, et ensuite à d'autres de plus en plus nombreux, ce qui aboutirait à paralyser complètement cette pratique.

Consentement

Parmi la multitude des procédures l'AMP ne pouvait pas échapper à cette mode du consentement éclairé. Ce à quoi on peut souscrire sans difficulté ; mais réitérer avant chaque tentative ce consentement donne la mesure de l'ignorance de l'état d'esprit des patients.

Pendant l'AMP

Toute une série de variantes techniques ont été proposées pendant la dernière décennie, dont un bon nombre ont été au fil du temps progressivement abandonnées. On peut retenir parmi celles-ci celles sur lesquelles le consensus n'est pas réalisé.

Spermatozoïdes

Nombre de spermatozoïdes en FIV

Ce problème semblait simple : un trop faible nombre de spermatozoïdes compromet les chances de fécondation et un trop grand nombre entraîne des risques de polyspermie. Cette formulation de bon sens n'a jamais vraiment connue de confirmation expérimentale indiscutable.

Si bien qu'il apparaît à beaucoup plus confortable de pécher par excès que par défaut, surtout dans les indications masculines avant la mise au point de l'ICSI. Un argument en faveur de la réduction du nombre de spermatozoïdes apparaît maintenant ;

c'est que l'excès de spermatozoïdes serait cause d'apoptose dans les premiers stades du développement embryonnaire.

Durée d'exposition des spermatozoïdes

Longtemps on a admis que la présence de spermatozoïdes morts ou moribonds une fois la fécondation réalisée avait des effets néfastes sur le zygote ou le jeune embryon, et on se contentait d'un rinçage 24 heures après la mise en présence des gamètes.

Actuellement on tend à raccourcir ce délai à quelques heures, du fait aussi d'un éventuel risque d'apoptose.

Mode de préparation des spermatozoïdes en FIV et en ICSI

La technique la plus simple de centrifugation-migration a connu bien des variantes. Le percoll a apporté une amélioration de la sélection des spermatozoïdes dans le cas des spermatozoïdes les plus médiocres. Les discussions autour des variantes de préparation du sperme continuent maintenant avec l'ICSI.

Elles devraient pourtant s'éteindre du fait d'un éventuel risque de toxicité du percoll, que le fabricant ne veut plus assumer. De surplu le PVP utilisé en ICSI entraîne les mêmes discussions, et il y a là des arguments assez convaincants tendant à limiter au maximum son usage.

Lavage du sperme chez les séropositifs

Le lavage du sperme provenant d'hommes séro-positifs pour le HIV a été proposé pour les inséminations. A en croire les quelques biologistes qui se sont risqués à cette manoeuvre, le risque de contamination de la conjointe serait de 1 pour mille.

Pourquoi entreprendre une telle démarche puisque ce risque est le même qu'un rapport sexuel, qui pourrait être soigneusement programmé à la période ovulatoire?

ICSI avec spermatides et spermatozoïdes

Les quelques tentatives réalisées dans notre espèce avec les spermatides se sont révélées très peu fructueuses ; et il semble très aventuré d'utiliser ces cellules tant que nos connaissances sur l'empreinte génomique ne sont pas plus solides.

Ovocytes

Maturation in vitro des ovocytes

Depuis les débuts de la FIV on a cherché à provoquer la maturation in vitro des ovocytes, puisqu'on s'est aperçu très tôt que le problème essentiel de la FIV c'est la production d'un lot hétérogène d'ovocytes, avec tous les degrés possibles de maturité, alors que seuls les ovocytes les plus matures donnent des embryons viables. On savait également que la maturation nucléaire se fait très facilement, tout au moins pour une part des ovocytes ; mais on a pour l'instant toujours échoué à reconstituer in vitro la maturation cytoplasmique. Il y a d'ailleurs quelques risques à vouloir la tenter tant qu'on ne sait pas diagnostiquer la maturité cytoplasmique, puisqu'on court alors le risque de rendre post-matures des ovocytes parfaitement matures.

Nombre d'ovocytes par boîte

Un certain nombre de travaux effectués chez les animaux d'élevage montre qu'on améliore les résultats de la fécondation in vitro en regroupant les ovocytes. La question reste ouverte puisque d'autres prétendent au contraire qu'il faut les garder un par un dans un volume suffisant de milieu.

Transport des ovocytes

Préconiser que les ovocytes doivent être traités sur place le plus près possible du lieu de ponction n'est pas justifié. Plusieurs équipes ont abondamment démontré que le transport des ovocytes n'a aucun effet sur leur fécondabilité ou sur leur aptitude à fournir des embryons viables.

Zygotes et embryons

Décoronisation

La décoronisation 24 heures après la mise en fécondation comporte des risques d'altérer les embryons, mais elle permet de détecter les zygotes triploïdes, qui peuvent donner des embryons de morphologie tout à fait typique. Il n'est pas certain que ce soit un grand avantage, puisque certains triploïdes échappent à l'examen du fait de l'asynchronisme de l'apparition des pronoyaux. En ICSI l'examen des zygotes quelques heures après la fécondation permet sûrement de détecter les embryons les plus viables, chez lesquels l'apparition des pronoyaux est la plus précoce.

Co-culture

Elle ne permet pas d'améliorer la qualité des embryons mais de préserver leur survie. C'est donc le meilleur moyen de sélectionner les plus viables. L'expérience de certaines équipes a démontré que les résultats finaux ne changent pas mais que le taux de grossesses multiples est significativement diminué. Toutefois on peut discuter de l'inocuité des cellules Vero, qui sont maintenant avantageusement remplacés par les milieux séquentiels.

Hatching

Malgré un certain nombre de publications force est d'admettre que cette technique n'augmente pas significativement le taux de grossesses. Toutefois il est possible qu'elle profite à certaines ovopathies, qui pour l'instant restent à définir.

Choix des embryons et nombre d'embryons

Ce choix est grandement facilité par la culture prolongée. Il n'en reste pas moins que dans les cas où on ne la pratique pas se limiter systématiquement à 2 embryons baisse le taux de grossesses ; la politique de transfert, prenant en compte des paramètres comme l'âge des patientes, leurs antécédents ou le rang de la tentative, ne devrait pas être abandonnée. La moyenne d'embryons transférés ne rend absolument pas compte d'une bonne stratégie de transfert.

Choix des embryons à congeler

Il paraît aujourd'hui indispensable de congeler les seuls embryons atteignant le stade de morula. Ce sont en effet les plus viables et aussi ceux qui résistent mieux à la congélation.

Problèmes propres aux dons

Nombre d'enfants par donneur

Limiter à 5 le nombre d'enfants issus d'un même don est absurde, puisque les généticiens des populations

ont démontré que l'on pouvait aller jusqu'à 20 sans augmenter le risque de consanguinité. Le limiter à 5 fratries serait déjà un moindre mal. Il y a d'ailleurs dans cette limitation une certaine hypocrisie, puisque les textes réglementaires laissent entendre que ce chiffre peut être dépassé si on ne l'a pas fait "délibérément". Ceci n'est bien entendu valable que pour le don de spermatozoïdes.

Age des donneurs

S'il paraît assez légitime de limiter l'âge des donneuses à 38 ans (encore que l'hypothèse de la plus grande tolérance à l'égard des embryons anormaux des avec l'âge maternel ne soit pas complètement éliminée), il semble exagéré de limiter l'âge des donneurs à 45 ans, étant donné la très faible augmentation du risque d'anomalies jusqu'à 55 ans.

Mise en quarantaine des embryons

La mise en quarantaine des embryons issus du don d'ovocytes, en l'absence de technique fiable de congélation des ovocytes) fait très sérieusement chuter le taux de grossesses. Il semble qu'étant donné le type de recrutement des donneuses qui est essentiellement relationnel, le risque de contamination par des embryons frais soit extrêmement faible, d'autant qu'on ne sait pas comment le virus HIV est transmis par ces embryons

Paillettes de secours

L'usage de la paillette de secours est vivement déconseillé par les CECOS. Il semble que cette position dogmatique, appuyée certes par des arguments valables, pourrait souffrir des exceptions et être modulée selon les cas.

Après l'AMP

Durée de conservation des spermatozoïdes

Actuellement aucun texte ne concerne la limitation de la conservation des spermés (en cas d'auto-conservation évidemment). Or nous conservons certains spermés depuis parfois plus de 15 ans pour des hommes perdus de vue. La question reste posée par ce réel encombrement

Durée de conservation des embryons

Il en est de même et de manière plus cruciale pour les embryons ; et ce d'autant que les termes de la loi sont très ambigus. Il peut paraître quelque peu brutal de détruire systématiquement des embryons pour des couples perdus de vue. Une politique très serrée de suivi des couples permet de limiter le nombre de ces cas litigieux très significativement. Ne serait-il pas plus prudent en tout cas de conserver ces embryons jusqu'à l'âge de la ménopause de leur génitrice?

Conclusion

D'une part il semble qu'un excès de zèle se développe dans les techniques de diagnostic, alors que la plupart des données obtenues ne sont pas tout à fait standardisables et qu'un bon "feeling" remplace avantageusement cette manie. Bien entendu ce souci de précision, exagéré en matière de pratique courante, devient légitime dans une optique de recherche.

D'autre part les techniques de PMA montrent encore beaucoup de variantes adaptées par chaque groupe et qu'il est bien difficile de préconiser ou de déconseiller bon nombre de techniques, qui n'ont pas toujours fait leurs preuves, et qui dépendent en fait beaucoup du professionnalisme des équipes. Il n'est pas besoin de rappeler, que hormis l'avancée apportée par l'ICSI, les résultats de la FIV n'ont pas varié depuis au moins une décennie.

CHU de Montpellier