



Les techniques de fécondation *in vitro*



Parmi les couples qui se forment actuellement en France, 15 % ont des difficultés à concevoir. L'évolution des techniques d'Aide Médicale à la Procréation (AMP) permet aujourd'hui la prise en charge de cas d'infécondité* plus ou moins complexes.

Dans votre cas, une technique de Fécondation *In Vitro* (FIV ou ICSI*) avec Transfert d'Embryons est le traitement proposé. Ces méthodes ont pour but de réaliser la fécondation de l'ovocyte* par le spermatozoïde* en dehors du corps de la femme (*in vitro*), lorsqu'elle ne peut pas se faire naturellement puis de réimplanter l'embryon obtenu dans la cavité utérine.

Depuis les années quatre-vingt, les techniques d'AMP ont connu un grand essor à travers le monde. Bien que largement utilisée aujourd'hui, la FIV/ICSI* reste toutefois d'application délicate et doit obéir à des impératifs précis.

Pour vous aider à mieux comprendre les différentes étapes de ce traitement, il est important que vous en connaissiez les détails techniques.

Cette plaquette a été conçue pour vous aider à comprendre toutes les étapes de la prise en charge qui va vous être proposée.

Dr Karima Bettahar-Lebugle
Dr Christiane Wittemer

Spécialistes de l'assistance médicale à la procréation au Centre Médico-Chirurgical et Obstétrical de Strasbourg

* cf. Glossaire p 23

Les techniques de fécondation *in vitro*

 Les conditions naturelles nécessaires à la survenue d'une fécondation et d'une grossesse p 4
 Qu'est-ce que la FIV/ICSI ? p 8
 Description des différentes étapes p 12
 Rôle et responsabilités de l'équipe clinico-biologique p 18
 Les résultats de la FIV/ICSI p 20
 Illustrations des principaux stades de développement embryonnaire au cours de la première semaine p 22
 Glossaire p 23

Les conditions naturelles nécessaires à la survenue d'une fécondation et d'une grossesse

La fécondation résulte de la rencontre dans la trompe de deux cellules ou "gamètes*" :

- l'une issue de la femme, l'ovocyte ou ovule ;
- l'autre issue de l'homme, le spermatozoïde.

De la fécondation de l'ovocyte par le spermatozoïde résulte un embryon.

Celui-ci se nidera dans la paroi de la cavité utérine quelques jours plus tard.

Fécondation et nidation* nécessitent certaines conditions :

Chez l'homme

Les testicules* doivent produire une quantité suffisante de spermatozoïdes normaux.

Les spermatozoïdes doivent passer dans les voies génitales masculines où ils achèvent leur maturation et acquièrent leur mobilité.

Après éjaculation au fond du vagin, les spermatozoïdes vont traverser la glaire cervicale sécrétée par le col de l'utérus. Au cours de ce passage, les spermatozoïdes acquièrent l'aptitude à féconder l'ovocyte.

Chez la femme

L'appareil génital féminin va permettre la rencontre des spermatozoïdes et de l'ovocyte dans la trompe.

Les trompes doivent être perméables afin de permettre le passage des spermatozoïdes et la progression de l'ovocyte.

La cavité utérine doit être anatomiquement normale et sa muqueuse capable d'accueillir l'embryon.

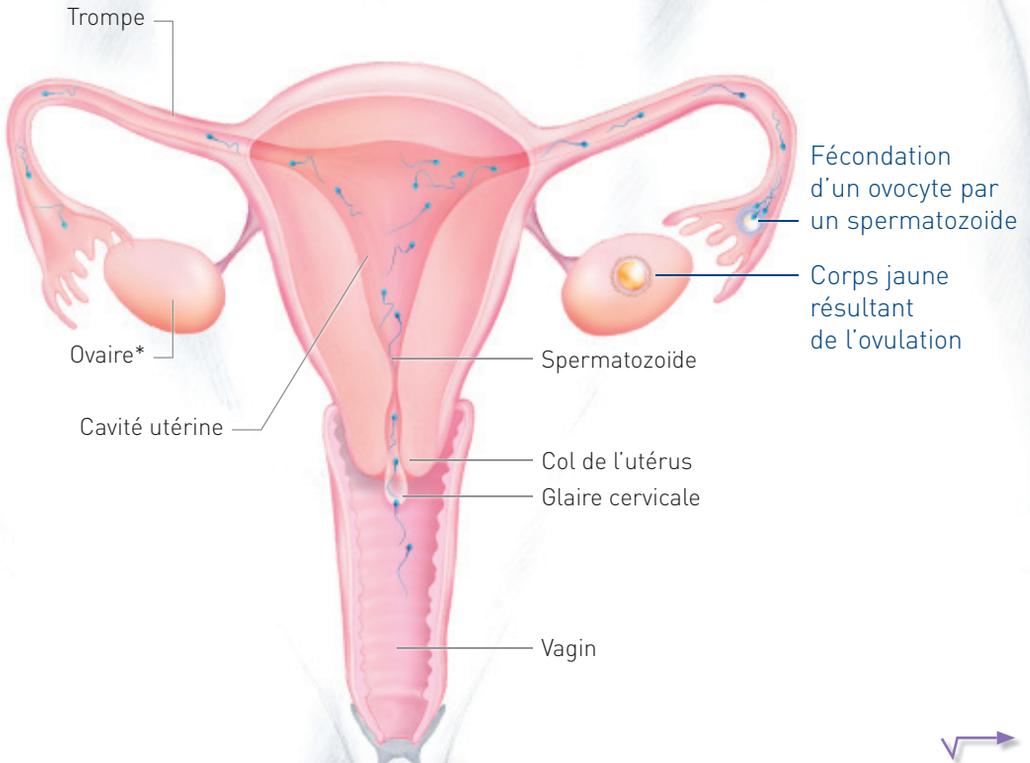
La fécondabilité naturelle dans l'espèce humaine est en moyenne de 25 % à chaque cycle pour une femme de 25 ans⁽¹⁾.

(1) Agence de biomédecine. Dossier de presse mars 2010 : l'assistance médicale à la procréation en France en 2010.

* cf. Glossaire p 23



La fécondation naturelle



Les conditions naturelles nécessaires à la survenue d'une fécondation et d'une grossesse (suite)

1

Ovulation

2

Fécondation

Ovocyte
+ spermatozoïde
(J0)

3

JOUR 1

Fusion

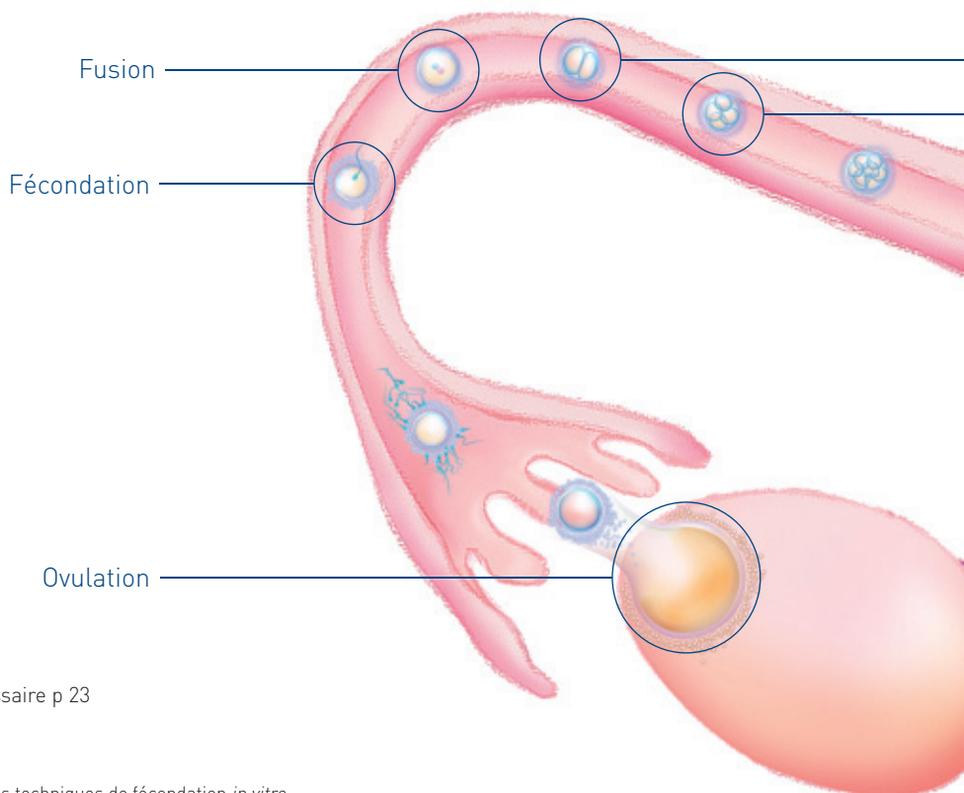
Zygote* ou stade
« 2 pronuclei »,
observé à J1 :
ce stade signe
la fécondation

4

ENTRE J1 ET J2

Première segmentation

Embryon au stade
2 cellules, observé
entre J1 et J2



* cf. Glossaire p 23

5

JOUR 2

Deuxième segmentation

Embryon au stade 4 cellules, observé à J2

6

ENTRE J3 ET J4

Morula

Embryon au stade de 16-32 cellules : passage dans la cavité utérine entre J3 et J4

7

JOUR 5

Blastocyste*

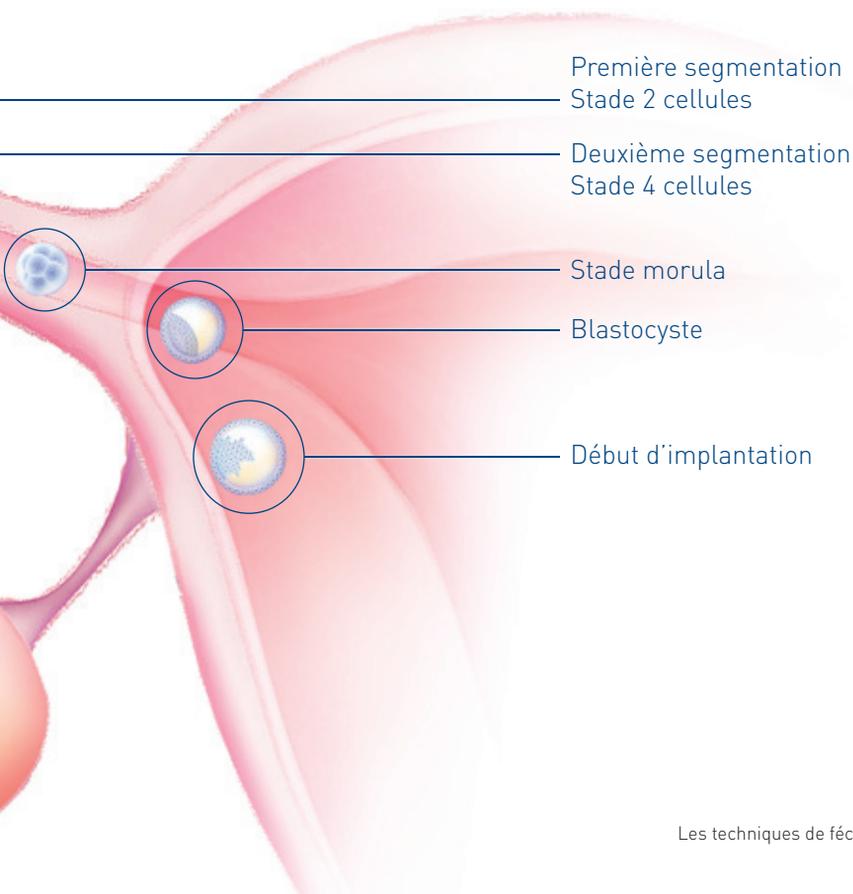
(J5)

8

JOUR 7

Début d'implantation de l'embryon

(J7)



Qu'est-ce que la FIV/ICSI ?

Les techniques de Fécondation *In Vitro* (FIV/ICSI) reproduisent au laboratoire la rencontre entre les spermatozoïdes et les ovocytes (fécondation) et les premières étapes du développement embryonnaire.

Plusieurs étapes sont nécessaires :

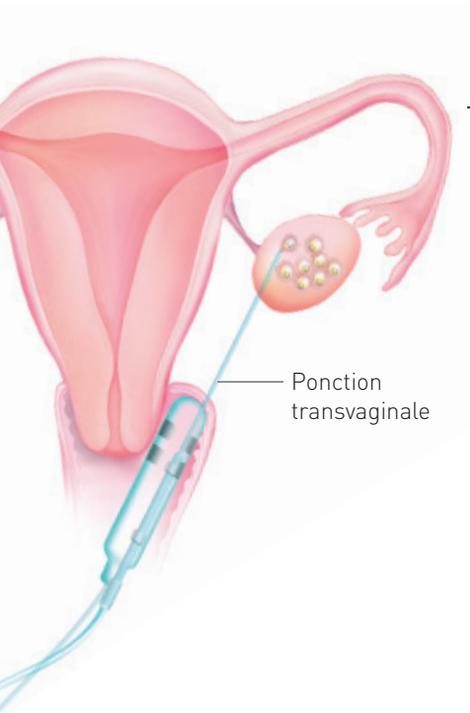
1

Assurer une croissance et une maturation adéquates de plusieurs follicules ovariens contrôlés par :

- des dosages hormonaux sanguins (estradiol* et éventuellement LH* et progestérone)
- des examens échographiques* (taille, nombre des follicules)

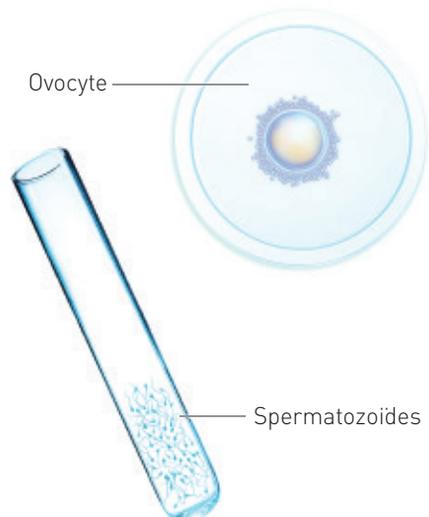
2

Déclencher la maturation finale des ovocytes par une injection de gonadotrophines chorioniques (hCG)



3

Ponction ovocytaire :
aspiration des follicules





* cf. Glossaire p 23

3

Prélever les ovocytes par ponction des follicules sous échographie avant leur expulsion naturelle

4

Rechercher les ovocytes dans les liquides folliculaires*

5

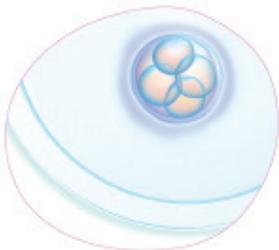
Obtenir des embryons soit par FIV conventionnelle, soit par micro-injection de spermatozoïdes (ICSI)

6

Transférer le ou les embryons dans la cavité utérine, entre 2 et 5 jours après la ponction folliculaire en fonction des cas et des centres d'AMP

5

Segmentation



6

Transfert d'un ou plusieurs embryons

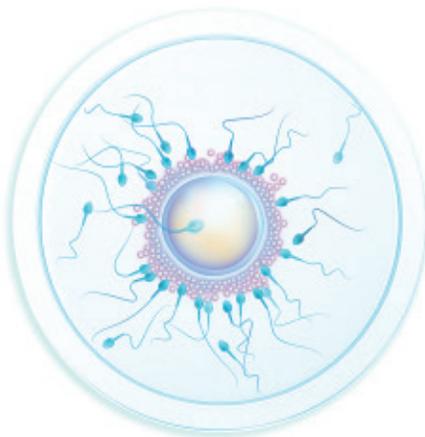


Qu'est-ce que la FIV/ICSI ? (suite)

La FIV conventionnelle

Ses indications traditionnelles sont représentées par les infertilités d'origine féminine et les hypofertilités masculines peu sévères.

On utilise les spermatozoïdes de l'éjaculat, qui ont été recueillis par masturbation, puis traités au laboratoire, et mis en présence des ovocytes dans le but d'obtenir *in vitro* une fécondation, puis les premières divisions de l'œuf.

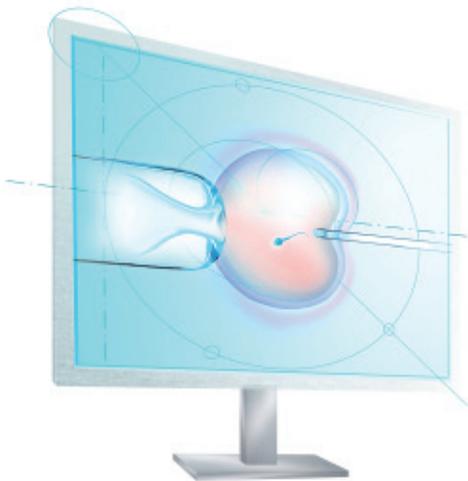


🌀 La micro-injection ovocytaire de spermatozoïdes (ICSI)

Elle s'adresse aux couples chez lesquels il existe une hypofertilité masculine sévère. On utilise les spermatozoïdes de l'éjaculat lorsque cela est possible.

Dans certains cas, il n'y a pas de spermatozoïdes dans le sperme (on parle d'azoospermie) et il est parfois possible de les prélever chirurgicalement dans les voies génitales masculines.

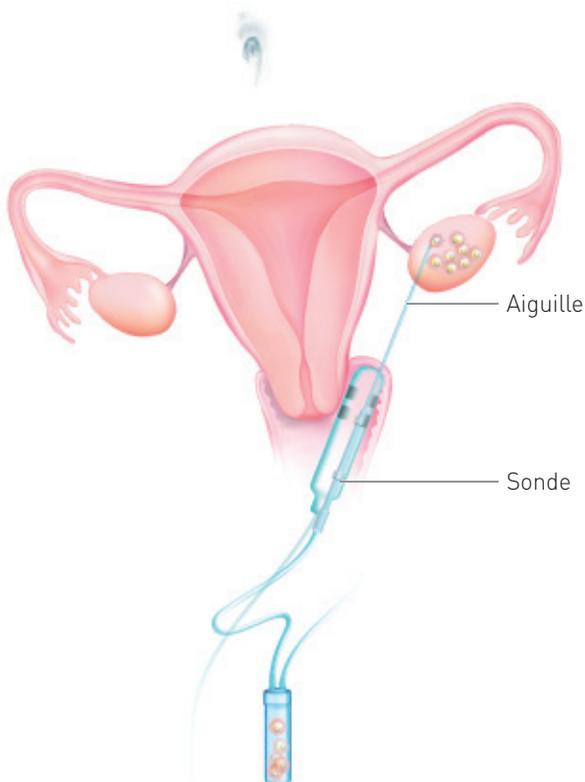
Un spermatozoïde est micro-injecté dans chaque ovocyte arrivé à maturité, au moyen d'une micropipette guidée par un micro-manipulateur.



Description des différentes étapes

🕒 J0 - Le jour de la ponction ovocytaire

La ponction ovocytaire se fait par voie vaginale guidée par échographie sous prémédication voire anesthésie générale.

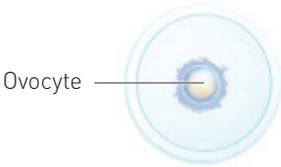




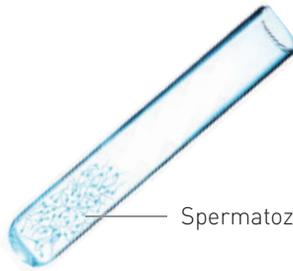
• Les ovocytes

Après la ponction, les liquides folliculaires sont apportés au laboratoire. Les ovocytes sont recherchés sous une loupe binoculaire.

Ils sont ensuite transférés dans un tube ou une boîte de culture portant votre nom, contenant un milieu de culture. Les ovocytes sont placés dans un incubateur à 37 °C et dans des conditions de culture optimales en attendant la mise en contact avec les spermatozoïdes.



Ovocyte



Spermatozoïdes

• Les spermatozoïdes

Le conjoint effectue son recueil de sperme par masturbation. Une abstinence sexuelle est recommandée pendant les trois jours précédant la ponction ovocytaire. Il est souhaitable de ne pas dépasser 4 jours d'abstinence. En pratique, on élimine le plasma séminal, et on sélectionne les spermatozoïdes les plus mobiles.

• Les dons

Face à certains troubles de la fertilité, il est parfois nécessaire de faire appel au don de sperme, d'ovocytes ou d'embryon et seuls les Centres d'Études et de Conservation des Œufs et du Sperme (CECOS) sont habilités à recueillir et conserver les gamètes. En cas de spermatozoïdes congelés, les paillettes de spermes, conservées au CECOS, sont récupérées par le couple (présence et signature du conjoint obligatoires) et confiées au laboratoire d'AMP pour décongélation et récupération des spermatozoïdes.



Description des différentes étapes (suite)

→ Cas où une Fécondation *In Vitro* conventionnelle est réalisée

Les ovocytes sont mis en présence d'un nombre suffisant de spermatozoïdes mobiles avant d'être replacés à 37 °C dans l'incubateur, pour optimiser les chances de fécondation.

La fécondation débute après la pénétration d'un spermatozoïde dans l'ovocyte par la mise en commun des chromosomes* maternels et paternels.



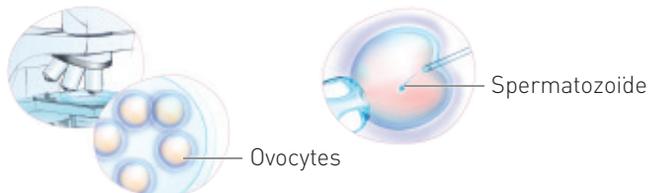
→ Cas où une micro-injection intra-ovocyttaire de spermatozoïdes est réalisée (ICSI)

Les ovocytes doivent être débarrassés des cellules qui les entourent (corona radiata).

Pour cela, ils sont placés dans un milieu contenant des enzymes, naturellement sécrétées par la femme pour faciliter la pénétration des spermatozoïdes, destinés à disperser ces cellules. C'est l'étape de "décoronisation", qui est ensuite parachevée, au moyen de pipettes très fines.

À ce stade, on peut faire le tri entre les ovocytes matures et immatures.

Seuls les premiers sont fécondables et pourront être micro-injectés : pour cela, ils sont placés dans une boîte de culture, sous un microscope équipé de micromanipulateurs. Un spermatozoïde, que l'on choisit initialement mobile pour être sûr qu'il soit vivant, est micro-injecté dans chaque ovocyte.

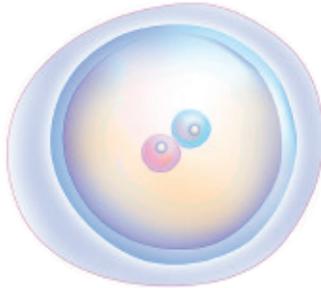


* cf. Glossaire p 23

J1 - Le 1^{er} jour après la ponction : observation de la fécondation

Le lendemain de la ponction, on transfère les ovocytes mis en présence de spermatozoïdes (FIV) ou micro-injectés (ICSI) dans un nouveau milieu nutritif dépourvu de spermatozoïdes. À ce stade, on observe au microscope si la fécondation a eu lieu ou non.

S'il y a eu fécondation, on peut voir le noyau mâle, issu du spermatozoïde, et le noyau femelle, issu de l'ovocyte : c'est le stade des "2 pronuclei", encore appelé "zygote".



En cas d'échec de fécondation, l'ovocyte présentera le même aspect que la veille.



Description des différentes étapes (suite)

J2 - Le 2^e jour après la ponction : observation des embryons

Environ 48 heures après le prélèvement ovocytaire, deux éventualités se présentent :

→ Il n'y a pas d'embryons

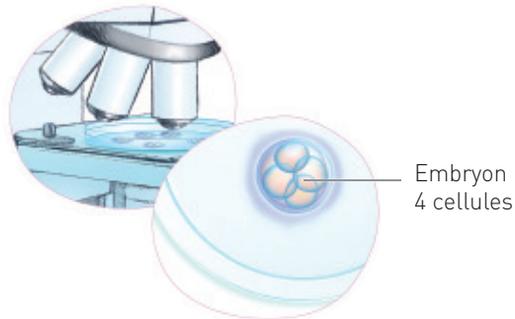
L'ovocyte présente le même aspect qu'à J0.

Le dossier est revu par l'ensemble de l'équipe clinique et biologique pour déterminer si possible la cause de cet échec, par exemple problèmes concernant le nombre et la qualité des gamètes.

→ Un ou plusieurs embryons ont été obtenus

Les embryons sont observés au microscope. Ils peuvent être constitués de 2 à 6 cellules. Le stade à 4 cellules est le plus fréquent. Vous serez informés ce même jour du nombre d'embryons obtenus.

Un transfert embryonnaire peut être réalisé ce jour, ou à J3 voire J5 pour permettre une sélection des embryons par culture prolongée.



* cf. Glossaire p 23

🌀 Le transfert embryonnaire

Le transfert, réalisé le plus souvent à J3 ou J5, du ou des embryons est un acte simple, non douloureux, dénué de risque et qui est pratiqué à proximité du laboratoire. Le ou les embryons sont introduits dans un tube fin et souple (cathéter*), puis déposés dans la cavité utérine après passage du col. En moyenne, seulement la moitié des ovocytes inséminés *in vitro* ou micro-injectés deviennent des embryons de bonne qualité. Pour limiter le risque de grossesse multiple, dans la majorité des centres, 1 ou 2 embryons sont transférés. Les embryons non transférés pourront, avec votre accord, être congelés si leur qualité le permet : en effet, certains embryons présentent des petits fragments ou des cellules très irrégulières. Ces embryons ont peu de chances de résister à la congélation, surtout si le degré de fragmentation est important. C'est pourquoi tous les embryons restants, dits "surnuméraires", ne peuvent être congelés.



Embryon
8 cellules (J3)



Blastocyste
(J5 - J6)

Rôle et responsabilités de l'équipe clinico-biologique

Un bilan complet du couple demandeur est réalisé avant leur prise en charge en FIV/ICSI. Le dossier est validé par l'ensemble de l'équipe clinico-biologique qui décide du choix du traitement : FIV conventionnelle ou ICSI, du type de stimulation ovarienne et du nombre d'embryons à transférer.

La phase de culture *in vitro* est délicate et sa bonne mise en œuvre conditionne en grande partie le succès ultérieur. Les biologistes du centre ont la responsabilité des gamètes et des embryons qui peuvent en résulter.

L'équipe informe le couple sur le déroulement des différentes étapes réalisées au laboratoire (ovocytes ponctionnés et fécondables : embryons obtenus, transférés, congelés, qualité du sperme lors de la FIV/ICSI).

En cas d'échec de fécondation ou d'implantation, l'équipe clinico-biologique discute de la possibilité de faire une tentative ultérieure en changeant éventuellement de traitement ou de technique.

Cas particuliers

• L'ICSI avec des spermatozoïdes ponctionnés dans le testicule ou l'épididyme*

Dans certains cas où il n'y a pas de spermatozoïdes dans le sperme (azoospermie), il est parfois possible de prélever les spermatozoïdes dans l'épididyme ou dans le testicule, au cours d'un geste chirurgical.

• La culture prolongée

Elle consiste à différer le transfert des embryons au 5^e ou 6^e jour après la ponction en les cultivant dans des milieux adaptés : l'objectif est d'obtenir un ou plusieurs blastocystes.

* cf. Glossaire p 23



- **Le don de gamètes**

Dans certaines situations, lorsque les testicules ou les ovaires* ne produisent définitivement plus de gamètes, on peut envisager le recours au don de spermatozoïdes, d'ovocytes.

- **L'IMSI (Intracytoplasmic Morphologically Selected sperm Injection)**

Dans la technique d'IMSI, le spermatozoïde avant d'être injecté dans l'ovocyte, est sélectionné au microscope à un fort grossissement : x 6000 à x 10 000 au lieu de x 400 dans l'ICSI classique. Ceci permet de visualiser des anomalies non détectées en ICSI et d'améliorer, dans certaines indications, les résultats par un meilleur tri des spermatozoïdes.

Les résultats de la FIV/ICSI

L'Agence de Biomédecine publie régulièrement les bilans chiffrés de l'activité et des résultats d'AMP. Vous retrouverez les résultats disponibles concernant la FIV et l'ICSI sur le site <http://www.agence-biomedecine.fr/>.

En intraconjugal, en 2009, 71 928 tentatives de FIV/ICSI et transferts d'embryons congelés ont été réalisées, ce qui correspond à 58 % des tentatives d'AMP* en intraconjugal, et ont donné naissance à 15 040 enfants. Les autres tentatives ont été réalisées par insémination intra-utérine.

En utilisant des spermatozoïdes de donneur, 1 459 tentatives de FIV/ICSI et transferts d'embryons congelés ont été réalisées (25 % des tentatives avec spermatozoïdes de donneur), aboutissant à la naissance de 371 enfants.

En ce qui concerne les dons d'ovocytes, 933 tentatives ont été réalisées et 190 enfants en sont nés.

Lorsque les couples ont recours à des techniques de FIV/ICSI, les embryons congelés surnuméraires peuvent faire l'objet de dons et donc être accueillis par d'autres couples. En 2009 en France, 95 embryons ont été accueillis et 19 enfants sont nés.

	Nombre de tentatives			Enfants nés vivants
	FIV	ICSI	Transferts d'embryons congelés	
Avec spermatozoïdes et ovocytes du couple	20 675	34 415	16 838	15 040
Avec spermatozoïdes d'un donneur	448	696	315	371
Avec don d'ovocytes	200	441	292	190
Avec accueil d'embryon			95	19

Résumé de l'activité et des résultats de 2009 de FIV/ICSI et transferts d'embryons congelés

* Ensemble des techniques d'AMP : Insémination intra-utérine, FIV/ICSI et transfert d'embryons

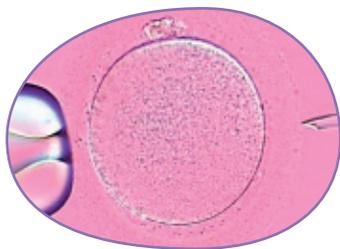
Le nombre d'embryons transférés dépend de l'âge de la femme et du rang de la tentative. C'est pourquoi les SET (single embryo transfer = un seul embryon transféré) sont de plus en plus privilégiés chez les patientes jeunes car cela offre autant de chances de grossesse sans les risques de grossesses multiples.

Plusieurs facteurs liés au couple lui-même influencent les résultats de la FIV/ICSI : ceux-ci sont en particulier affectés quand la femme est âgée de plus de 40 ans. En effet, les grossesses cliniques avec accouchements sont plus nombreuses chez les femmes âgées de 25 à 35 ans, soit environ 51 % de celles entamant une technique de FIV. Les taux d'accouchement ne sont que de 12 % à 38 ans, de 9 % à 40 ans et de 6 % à 42 ans.

La FIV/ICSI reste néanmoins un traitement lourd pour les couples et il ne faut pas négliger le taux d'abandon en cours de cycle. En effet, ce taux est important et de l'ordre de 18 à 35 % après chaque tentative (de la 1^{re} tentative à la 3^e tentative). Sur 100 couples entamant une démarche de FIV/ICSI, on peut estimer qu'environ 41 % d'entre eux auront un enfant au bout de 4 FIV/ICSI.

Depuis l'avènement de l'ICSI, la qualité du sperme, même médiocre, ne constitue plus un facteur franchement péjoratif. Des statistiques, portant maintenant sur plusieurs dizaines de milliers d'enfants nés par FIV/ICSI, montrent que ces techniques n'engendrent pas plus d'anomalies que la fécondation naturelle en dehors du risque de transmettre une pathologie préexistante. Mais les grossesses multiples peuvent conduire à la naissance d'enfants prématurés ou de faible poids.

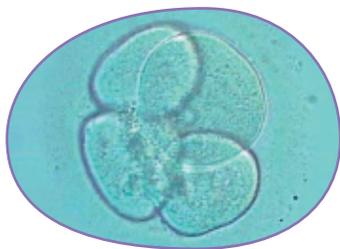
Illustrations des principaux stades de développement embryonnaire au cours de la première semaine



1 - Injection intra-cytoplasmique de spermatozoïde (ICSI)



2 - Ovocyte fécondé (zygote, J1)



3 - Embryon 4 cellules (J2) très régulier (peut être transféré ou congelé)



4 - Embryon 4 cellules partiellement fragmenté (ne peut pas toujours être congelé)



5 - Embryon 8 cellules (J5)



6 - Blastocyste (J5 - J6)

Glossaire



Blastocyste

Embryon âgé de 5 à 6 jours comprenant une centaine de cellules qui va s'implanter dans la muqueuse utérine.

Cathéter

Tube fin et souple qui sert à déposer des spermatozoïdes ou des embryons dans l'utérus.

Caryotype

Analyse des chromosomes contenus dans le noyau d'une cellule (taille, nombre).

Chromosome

Structure cellulaire porteuse de l'information génétique.

Cycle menstruel

Phénomène périodique qui débute le premier jour des règles et qui se termine en l'absence de grossesse, par les règles suivantes. Il dure en moyenne 28 jours.

Échographie

C'est une méthode de visualisation des organes par ultrasons.

Épididyme

Fin canal qui achemine et stocke les spermatozoïdes fabriqués dans le testicule.

Estradiol

Hormone sécrétée par le(s) follicule(s) en première partie de cycle puis par le corps jaune en deuxième partie de cycle. Son dosage permet de suivre la progression de la stimulation ovarienne.

Follicule ovarien

Structure ovarienne qui contient l'ovule entouré de cellules nourricières et qui se remplit progressivement de liquide folliculaire jusqu'à l'ovulation.



Glossaire (suite)

Gamètes

Cellules reproductrices : ovocyte ou ovule chez la femme, spermatozoïde chez l'homme.

Hypophyse

Glande endocrine annexée au cerveau sécrétant plusieurs facteurs ayant une action de régulation du fonctionnement ovarien.

ICSI

"Intra-cytoplasmic sperm injection" : micro-injection d'un spermatozoïde dans le cytoplasme de l'ovocyte.

Infécondité

Difficulté pour un couple à procréer naturellement.

LH

Hormone sécrétée par l'hypophyse qui déclenche l'ovulation. La gonadotrophine chorionique humaine (hCG) a la même activité et les mêmes effets que la LH.

Liquide folliculaire

Liquide contenu dans le follicule ovarien et dans lequel se trouve l'ovule entouré de cellules nourricières.

Muqueuse utérine (ou endomètre)

Revêtement interne de la cavité utérine où va se faire la nidation (implantation) de l'embryon.

Nidation (ou implantation)

Implantation de l'embryon dans la muqueuse utérine. Ce phénomène spontané, qui survient vers le 7^e jour après la ponction, au stade "blastocyste", et signe le début de grossesse, ne doit pas être confondu avec l'acte médical de transfert de l'embryon dans la cavité utérine.

Ovaire

Glande génitale féminine qui produit les ovocytes ainsi que des hormones (principalement estradiol et progestérone).

Ovocyte (ou ovule)

Cellule reproductrice féminine.

Spermatozoïde

Cellule reproductrice masculine.

Testicule

Glande génitale masculine qui produit les spermatozoïdes ainsi que les hormones (principalement la testostérone).

Zone pellucide

Enveloppe externe de l'ovocyte et de l'embryon : le franchissement de celle-ci par le spermatozoïde représente une étape cruciale de la fécondation.

Zygote

Première cellule du futur embryon : il y a mise en commun des chromosomes maternels et paternels.

LOI SUR LA BIOÉTHIQUE

La loi sur la bioéthique réglementant les activités d'Assistance Médicale à la Procréation a été adoptée le 6 août et est parue au Journal Officiel le 7 août 2004. Elle a été modifiée par la loi du 7 juillet 2011 parue au Journal Officiel du 8 juillet 2011.

Le texte de ces lois est à la disposition des couples, sur le site de l'Agence de la biomédecine :

<http://www.agence-biomedecine.fr/>

COORDONNÉES DES CECOS

Les coordonnées des Centres d'Études et de Conservation des Œufs et du Sperme sont disponibles sur le site :

<http://fivfrance.com/>

Ce guide est destiné à vous informer sur les techniques de fécondation in vitro (FIV). Il ne peut en aucun cas se substituer aux conseils de votre médecin. N'hésitez pas à lui demander des précisions sur les points qui ne vous paraîtraient pas suffisamment clairs et à lui demander des informations supplémentaires sur votre cas particulier.

Les informations contenues dans ce guide sont générales ; elles ne sont pas forcément adaptées à votre cas particulier.

Ce document ne se substitue pas aux recommandations des autorités de santé ou à celles des sociétés savantes.

Pour plus d'information sur les techniques de fécondation in vitro (FIV), veuillez consulter votre médecin.