

AMP **(item 30)**

Objectif :

Argumenter la démarche médicale et expliquer les principes de l'assistance médicale à la procréation.

I. Que signifie " Assistance médicale à la procréation " ?

Les Procréations Médicalement Assistées ou techniques d'Assistance Médicale à la Procréation sont l'ensemble des techniques médicales et biologiques qui comportent la manipulation des gamètes, avec ou sans fécondation in vitro, dans le but d'obtenir une grossesse chez un couple qui sans cela risquerait de demeurer infécond.

Ces techniques peuvent aussi s'appliquer dans le cas de risques importants de transmission à l'enfant de maladies graves et incurables de façon à ne transférer que les embryons qui en seraient indemnes.

Les techniques d'Assistance Médicale à la Procréation incluent en théorie :

- Les inséminations artificielles (IAC, avec sperme du conjoint ou IAD, avec donneur),
- La fécondation in vitro (FIVETE, fécondation in vitro et transfert d'embryon),
- L'ICSI (Intra Cytoplasmic Spermatozoïd Injection).

Dans la pratique quotidienne, la prise en charge thérapeutique des couples peut débiter par la prescription d'une induction simple de l'ovulation avec des rapports sexuels " programmés ". Ces techniques nécessitent au préalable la réalisation d'un bilan complet dans le but d'optimiser la prise en charge par des choix éclairés. Elles sont en France, encadrée essentiellement par les Lois dites de Bioéthiques du 29 Juillet 1994 et le Guide de Bonnes Pratiques cliniques et biologiques en Assistance Médicale à la Procréation (GBP-AMP) (Arrêté du 12 Janvier 1999). La stérilité est prise en charge à 100% mais une demande d'entente préalable doit être établie par le médecin pour chacune des techniques envisagées.

II. Que faut-il savoir des techniques d'insémination artificielle ?

L'insémination artificielle consiste à introduire de façon instrumentale les spermatozoïdes dans le tractus génital féminin, éventuellement au niveau du col, mais essentiellement dans la cavité utérine pour favoriser la rencontre des gamètes mâles et femelles.

1) Démarches obligatoires pré-thérapeutiques

Après examen complet des deux partenaires, le couple doit confirmer par écrit sa demande d'A.M.P.

Pour chacun, il convient de vérifier des examens dits de sécurité sanitaire :

sérologies HIV 1+2, hépatite B, hépatite C, syphilis.

Une entente préalable doit être établie par le médecin.

Les bilans spermatiques doivent dater de moins de 3 mois. (spermogramme, spermoculture ; test de migration survie *) et les sérologies doivent dater de moins de 12 mois.

Dans le cadre du don, deux démarches supplémentaires sont nécessaires :

une consultation auprès d'un psychiatre ou d'un psychologue pour éliminer toute contre-indication au don et signature d'un consentement auprès du juge du TGI.

2) Technique

Préparation du sperme : L'insémination n'emploie que les seuls spermatozoïdes, préalablement sélectionnés du sperme frais ou congelé du conjoint ou d'un donneur. Les gamètes sont mis en suspension dans un faible volume de milieu, 0,25 à 0,30 ml, juste suffisant pour remplir la cavité utérine.

Stimulation de l'ovulation : L'insémination intra-utérine en cycle spontané n'a démontré son efficacité dans deux indications mécaniques : la stérilité cervicale isolée ou l'impossibilité d'avoir des rapports sexuels complets. Dans tous les autres cas, elle ne donne de bons résultats qu'associée à une stimulation de l'ovulation. La stimulation doit être monitorée (c'est-à-dire évaluée par échographie pelvienne et/ou dosages hormonaux plasmatiques) pour réduire le risque de grossesse multiple (les attentes du monitoring).

Insémination : La préparation est introduite au niveau du corps utérin à l'aide d'un fin cathéter qui franchit le col utérin. Le moment de l'insémination est un des facteurs essentiels du succès : 36 h après le déclenchement artificiel de l'ovulation, ou le lendemain du pic spontané de LH.

3) Indications

Ces techniques ne peuvent se concevoir que si les trompes utérines sont perméables et qu'un nombre suffisant de spermatozoïdes mobiles est récupéré après préparation du sperme. Il faut injecter au moins 1 million de spermatozoïdes mobiles (500 000 spermatozoïdes d'après le GBP-AMP) pour espérer obtenir une grossesse.

Insémination artificielle avec sperme du conjoint (IAC) : La première indication est la stérilité cervicale, par absence de glaire ou notion de glaire hostile, l'insémination permettant alors aux spermatozoïdes de passer l'obstacle que représente le col utérin. Les autres indications, stérilités masculines, stérilités féminines à trompes perméables, immunologiques, idiopathiques, reposent sur une logique moins établie : l'idée générale est d'assurer la présence dans les trompes d'un maximum de spermatozoïdes alors que la réponse ovarienne est sensée être optimisée par la stimulation afin de majorer les chances de fécondation.

Insémination artificielle avec sperme de donneur (IAD) : Elle est indiquée en premier lieu lorsque le conjoint présente une stérilité définitive. Elle est également demandée en raison d'un risque élevé de transmission paternelle d'une maladie génétique grave inaccessible au diagnostic pré-implantatoire ou au diagnostic prénatal. Dans certains cas d'oligospermie extrême ou d'azoospermie avec échec d'une fécondations in vitro avec ICSI le couple peut alors se tourner vers une AMP avec tiers donneur. Enfin, avec l'épidémie de SIDA, certains couples dont le conjoint est séropositif, ont souhaité avoir accès à un sperme de donneur. Ces indications, discutées au cas par cas avec l'infectiologue sont en passe de diminuer depuis la parution d'un décret récent autorisant, sous certaines conditions strictes, l'A.M.P. intra-conjugale.

Le don est anonyme et gratuit. Le choix du donneur se fait sur une compatibilité de groupe sanguin et sur des caractéristiques phénotypiques (couleur de la peau, des yeux, des cheveux...).

La pénurie actuelle de donneurs engendre un délai d'attente pour les couples de 18 à 24 mois entre l'inscription et la réalisation des IAD. En dehors de l'impossibilité d'accéder à une publicité pour le don de gamètes, les volontaires doivent satisfaire à différentes exigences qui entraînent encore une diminution des dons effectifs :

- il faut être bénévole et âgé de moins de 45 ans,
- avoir fait la preuve de sa paternité au moins une fois,
- vivre en couple, - avoir l'accord de l'épouse ou de la compagne,
- accepter les règles de l'anonymat.

4) Résultats

Ils dépendent de nombreux facteurs tels que l'âge de la patiente, le rang de la tentative, l'indication, la présence ou non de stimulation, le type de stimulation... Les taux de grossesses varient de 0 à 23% avec une moyenne de 12% par tentative.

L'insémination intra-utérine a remplacé l'insémination intra-cervicale même dans le cas de don de sperme sans anomalie de la glaire avec des taux de grossesses par cycle d'environ 11% (Bilan 2000 des CECOS = Centres d'Etude et de Conservation des Oeufs et des Spermatozoïdes humains).

III. Que faut-il savoir des techniques de FIVETE ?

1) La fécondation in vitro :

Dans la FIV dite " classique ", la confrontation entre gamètes mâles et femelles est assurée en dehors de l'appareil génital féminin, par insémination simple " in vitro ". La FIV réalise en dehors de l'organisme ce qui se fait normalement dans la trompe de la femme : captation de l'ovocyte mature par le pavillon tubaire, transport des spermatozoïdes jusqu'à l'endroit où doit avoir lieu la fécondation, en général l'ampoule tubaire (achèvement de leur capacitation en cours de route), fécondation, transport de l'oeuf jusqu'à la cavité utérine où doit avoir lieu son implantation, tout en assurant les conditions nécessaires aux premières segmentations embryonnaires.

Les principales indications en sont :

La stérilité tubaire.

La FIV a été la première démonstration qu'il était possible d'avoir une grossesse même en l'absence de trompes. La FIV court-circuite l'obstacle tubaire. Que les trompes soient absentes, obstruées, ou simplement insuffisantes sur le plan fonctionnel, la technique est la même.

Les autres possibilités thérapeutiques sont représentées par la chirurgie tubaire, qu'il s'agisse de chirurgie endoscopique pour tout ce qui est adhérences et lésions tubaires distales, ou qu'il s'agisse de microchirurgie lorsqu'une anastomose tubaire est nécessaire.

Le choix entre ces diverses méthodes thérapeutiques est essentiellement fonction des résultats espérés. Si la réparation des lésions tubaires laisse espérer un résultat satisfaisant, il faut commencer par la chirurgie tubaire et réserver la fécondation in vitro comme deuxième atout thérapeutique. Par contre, si les trompes ont dû être enlevées (pour infection tubaire, grossesse extra-utérine...etc), ou si l'importance des lésions (plurifocalité) ou leur nature (tuberculose) exclue qu'un résultat fonctionnel satisfaisant puisse être obtenu par la chirurgie, la fécondation in vitro devient le seul choix possible.

L'endométriose

L'endométriose s'associe volontiers à la stérilité. Elle est peut-être la cause de certaines stérilités, mais le plus souvent son caractère minime ou modéré est insuffisant pour expliquer la stérilité. En pratique, soit l'endométriose s'accompagne de lésions mécaniques sévères inaccessibles à la chirurgie endoscopique, et l'indication du recours à la fécondation in vitro rejoint celui des stérilités tubaires, soit l'endométriose est mineure, et sa présence ne modifie pas les choix thérapeutiques qui seraient portés si la stérilité était totalement inexplicée. Entre ces deux extrêmes, l'endométriose doit d'abord être traitée, médicalement ou chirurgicalement, voire par association des deux, avant d'avoir recours à la fécondation in vitro.

Les stérilités dites " idiopathiques "

La FIV est la première thérapeutique qui donne des résultats tangibles en matière de stérilité inexplicée. Les thérapeutiques empiriques qui avaient été proposées jusque là n'avaient guère donné des résultats supérieurs à ceux d'un placebo. Les taux de réussite de la fécondation in vitro dans les cas de stérilité inexplicée démontrent que la fertilité inexplicablement réduite de ces couples peut être ramenée à un niveau comparable à celui des couples dont la stérilité est de cause connue, en particulier tubaire. Il est possible que la stimulation de l'ovulation joue un rôle de "promotion" de la fertilité en multipliant lors d'un

cycle donné le nombre des ovocytes qui peuvent donner lieu à une fécondation. Plus vraisemblablement, c'est l'ensemble du processus qui crée des conditions optimales pour une fécondation et qui court-circuite peut-être l'obstacle fonctionnel là où il se trouve, bien qu'il demeure inconnu.

Cependant, cette utilité thérapeutique de la FIV dans les stérilités inexplicables ne doit pas faire perdre de vue qu'elle ne doit être envisagée que s'il s'agit vraiment d'une stérilité (absence de grossesse malgré un temps suffisamment long d'exposition à la grossesse) inexplicable (bilan diagnostique correctement réalisé, jusqu'à y compris coelioscopie).

Les troubles de l'ovulation en seconde intention.

En effet, s'ils sont isolés des stimulations simples + inséminations artificielles ont classiquement été tentées auparavant.

Les échecs d'IAD (FIV-D)

2) La fécondation assistée

Les indications de FIV couplée à une technique de micro-injection (ICSI) se sont rapidement diversifiées. Il s'agit alors d'injecter directement par intervention humaine un spermatozoïde dans chaque ovocyte mature recueilli. Aucun test ne permet de prévoir de façon certaine la fécondance d'un sperme. Les biologistes apprécient la faisabilité d'une tentative en faisant un test de préparation du sperme, ce qui leur permet de juger du nombre de spermatozoïdes dont ils pourront disposer lors de la tentative.

Plusieurs recueils successifs du sperme sont parfois proposés au patient.

- Sur sperme éjaculé, qu'il y ait une authentique oligoasthénospermie ou que le sperme soit dit "normal" mais :
 - * Avec stigmates d'une auto-immunisation,
 - * Avec échec de fécondation en FIV classique.
- Dans le cadre d'une azoospermie, que celle-ci soit :
 - * Excrétoire,
 - * Sécrétoire.

Démarches obligatoires pré-thérapeutiques

Lorsque l'indication de fécondation in vitro est posée (FIV ou ICSI), le couple doit signer différents consentements tant auprès des cliniciens que des biologistes autorisant le traitement de la patiente, le traitement des gamètes et la congélation d'éventuels embryons surnuméraires.

Il faut également dans le dossier un acte de mariage ou une photocopie du livret de famille ou encore une preuve de vie commune (certificat de vie commune, déclaration sur l'honneur ou tout autre document...). Les sérologies nécessaires sont les mêmes que celles requises avant insémination artificielle. De plus, un prélèvement local récent est également demandé : prélèvement vaginal à la recherche de germe banal, chlamydiae, mycoplasmes chez la femme, spermoculture et/ou uroculture selon le contexte chez le conjoint.

Le recueil de gamètes féminins

Ce recueil est nécessaire lorsqu'une fécondation in vitro ou une ICSI doivent être pratiquées. Le but est de recueillir au moins un ovocyte fécondable, ayant accompli l'ensemble des processus de maturation, afin de réaliser l'union des gamètes hors du tractus génital féminin.

Le recueil ovocytaire au cours du cycle spontané ou induit :

Différentes méthodes sont utilisées pour préparer les ovaires au recueil ovocytaire : le cycle naturel, l'induction de l'ovulation par citrate de clomiphène, les stimulations de l'ovulation par l'association citrate de clomiphène/FSH recombinante ou l'administration de FSH recombinante en association ou non avec un agoniste de la GnRH.

Le premier enfant né après un cycle de fécondation in vitro est le résultat du recueil d'un ovocyte au cours d'un cycle naturel (Steptoe 1978). Bien que cette méthode permette la sélection naturelle d'un ovocyte

mature par les moyens de régulations endogènes, le transfert d'un seul embryon en réduit l'efficacité en terme de taux de grossesse. Lors d'un cycle naturel, le taux de succès du recueil de l'ovocyte est de 50 % et le taux de grossesse par cycle est d'environ 3 % seulement. Par ailleurs, le recueil d'un ovocyte lors d'un cycle naturel requiert un monitoring de l'ovulation extrêmement précis afin de détecter le pic pré-ovulatoire de LH et réaliser la ponction ovarienne avant la rupture folliculaire. Le prélèvement ovocytaire peut être décidé soit à partir du pic spontané de LH (il faut alors accepter de réaliser la ponction folliculaire et la FIV à toutes les heures du jour et de la nuit), soit à partir d'une injection déclenchante d'hCG dès que le diamètre du follicule atteint 18 mm de diamètre avec une sécrétion oestrogénique supérieure à 150 pg/ml (la ponction est alors réalisée 35 heures après l'injection d'hCG).

Les cycles induits par le citrate de clomiphène (150 mg/jour pendant 5 jours en débutant entre le 2ème et le 5ème jour du cycle) permettent le développement de 1 à 3 follicules. Le taux de grossesses cliniques par cycle est d'environ 10%. Le monitoring de l'ovulation a les mêmes impératifs que celui des cycles spontanés. Compte tenu des faibles taux de réussite et de la difficulté du suivi de ce type de cycle, les cycles spontanés et induits sont, actuellement, très peu utilisés pour préparer les ovaires au recueil ovocytaire.

Le recueil ovocytaire au cours du cycle stimulé : stimulation contrôlée de l'ovulation

Le but essentiel de la stimulation de l'ovulation pour fécondation in vitro est d'augmenter le nombre d'ovocytes recrutés, maturés et donc susceptibles d'être fécondés car le transfert de plusieurs embryons augmente les chances d'obtenir une grossesse.

La stimulation de l'ovulation diffère donc de l'induction de l'ovulation : Le but de l'induction de l'ovulation est d'amener une patiente anovulatoire ou dysovulatoire à ovuler en se rapprochant le plus possible de ce que serait une ovulation physiologique, c'est à dire en provoquant la maturation et l'ovulation d'un seul follicule. Inversement, le but de la stimulation de l'ovulation est d'augmenter les phénomènes naturels de façon à permettre la maturation simultanée de plusieurs follicules. Ainsi, en recueillant plusieurs ovocytes, les chances sont meilleures d'en avoir au moins un qui puisse être fécondé in vitro. Si plusieurs embryons sont obtenus, les chances sont augmentées qu'au moins un d'entre eux soit apte à la nidation. C'est la principale raison pour laquelle la stimulation de l'ovulation a été un des facteurs essentiels de la progression des résultats thérapeutiques de la fécondation in vitro.

Un autre avantage de la stimulation de l'ovulation est de permettre de prendre le contrôle du cycle et donc de ne plus être soumis aux phénomènes endocriniens spontanés de la patiente. Cela permet de réaliser le prélèvement ovocytaire à l'heure choisie par l'équipe. Avec certains types de protocoles de stimulation de l'ovulation (protocoles de programmation) il est même possible de choisir à l'avance le jour où le prélèvement pourra être réalisé, ou du moins être sûr de pouvoir éviter de travailler durant le week-end !

Mais un des inconvénients de la stimulation de l'ovulation est de réaliser une maturation ovocytaire sans doute moins complète et globalement de moins bonne qualité que si les processus de régulation physiologique sont conservés. En particulier, parmi les ovocytes réactivés, tous ne sont pas au même stade de maturation. Il y a une relative inhomogénéité de la cohorte ovocytaire recrutée, ce qui se traduit par un taux de fécondation plus faible que celui qui est constaté lorsque le recueil ovocytaire a été réalisé après maturation physiologique (cycle spontané).

Les principes de la stimulation de l'ovulation sont de renforcer les processus de recrutement et de maturation folliculaires, qui sont essentiellement dépendants de FSH. Lorsque la maturation folliculaire est suffisante, l'administration de LH (ou de son équivalent, hCG) permet de reproduire le pic préovulatoire de LH pour induire la maturation finale de l'ovocyte. Les protocoles sont très variés. Leur efficacité respective est parfois difficile à comparer car un même protocole peut donner des résultats différents selon la façon dont est monitorée la réponse ovarienne, et selon les équipes. La prescription de certains produits (gonadotrophines obtenues par génie génétique, analogues antagonistes de la GnRH) est réservée aux spécialistes en gynécologie et/ou gynécologie-obstétrique et/ou en endocrinologie et métabolismes.

La surveillance du protocole de traitement : le monitoring

Le monitoring correspond à la surveillance écho-hormonale du développement folliculaire lors de la stimulation ovarienne afin de repérer le moment adéquat du déclenchement et de cerner les situations à risque comme l'hyperstimulation ou les réponses ovariennes insuffisantes.

Les dosages plasmatiques

Un des critères essentiels du monitoring est constitué par l'évaluation du taux d'estrogènes plasmatiques en dosant le 17 β estradiol (E2) par dosage radioimmunologique ou immunoenzymatique rapide.

Ce taux est d'autant plus élevé que le nombre de follicules recrutés est important, et que leur volume (et donc le nombre de cellules sécrétantes) est augmenté. Le taux d'estrogène est donc relié de façon quantitative à la réponse ovarienne. Il y a aussi une relation qualitative car l'évolution du taux d'estrogènes a une influence pronostique sur le résultat obtenu par fécondation in vitro. L'évolution estrogénique la plus favorable est l'augmentation progressive et constante.

Le suivi régulier du taux de LH est indispensable dans tous les protocoles qui ne comportent pas de blocage hypophysaire. La survenue prématurée d'un pic de LH amène le plus souvent à annuler le cycle. Le dosage peut être réalisé par méthode radioimmunologique ou immunoenzymatique rapide au niveau plasmatique, ou au niveau urinaire par méthode enzymatique. Dans les protocoles associant un blocage de la sécrétion endogène de LH (désensibilisation hypophysaire par agoniste de la GnRH ou blocage de l'action du GnRH par un antagoniste) le dosage de la LH est inutile.

L'échographie

Elle permet d'avoir une notion morphologique du développement folliculaire au niveau ovarien. L'échographie renseigne donc sur le nombre de follicules qui ont pu être recrutés par la thérapeutique de stimulation, ainsi que sur leur développement (noter leur diamètre respectif) (Figure 2). Sans qu'il y ait de relation précise entre la mesure du développement folliculaire et le degré de maturation auquel on est parvenu, la confrontation des données de l'examen échographique avec le taux d'estrogènes permet d'approcher cette notion. C'est essentiellement sur ces critères que sont prises les décisions de conduite de la stimulation et de déclenchement.

Cet examen permet également de mesurer l'épaisseur de l'endomètre et de décrire son échogénicité dans le but d'évaluer l'aptitude à la nidation.

Les critères du déclenchement de l'ovulation

Ces critères peuvent être variables selon la méthode de stimulation de l'ovulation. Avec l'utilisation de la FSH recombinante seule, le volume folliculaire correspondant à un ovocyte mature est plus faible qu'avec les autres types de stimulation. Chaque type de protocole a donc ses propres critères de maturité. Ces critères sont aussi variables d'une équipe à une autre en fonction de la méthode de dosage des estrogènes, du matériel échographique employé et de l'opérateur. Le déclenchement est le plus souvent réalisé par injection de 5 000 à 10 000 UI d'hCG et la ponction folliculaire est programmée 34 à 36 heures plus tard. Ainsi, pour des raisons d'organisation du service cette injection est effectuée dans la soirée pour une ponction le surlendemain matin. Pour avoir un ordre d'idée, habituellement la décision du déclenchement peut être prise dès que trois follicules atteignent 17-18 mm de diamètre, avec un taux d'estrogènes de l'ordre de 1000 pg/ml (taux à analyser en fonction du nombre de follicules en évolution). Lorsque la réponse ovarienne est maladaptée (trop ou trop peu), le cycle de traitement est annulé.

La ponction folliculaire

Aux débuts de la FIV, les prélèvements folliculaires se faisaient par coelioscopie. Progressivement les méthodes de prélèvement en ambulatoire sous contrôle échographique se sont développées et sont devenues la méthode standard et unique de prélèvement. Le plus souvent la ponction est effectuée par voie vaginale, la sonde vaginale d'échographie étant munie d'un guide qui permet le passage d'une aiguille de prélèvement de calibre suffisant.

Tout au long de la procédure du prélèvement folliculaire il est important que les ovocytes recueillis ne risquent pas d'être en contact avec un produit toxique. Notamment il faut être vigilant sur la façon dont la

salle d'opération est stérilisée (attention aux vapeurs toxiques) et sur l'emploi des agents antiseptiques (rinçage attentif des tissus préalablement aseptisés).

Le liquide folliculaire ainsi recueilli est immédiatement transmis au biologiste qui compte les complexes cumulo-ovocytaires. Lorsque le laboratoire se trouve à quelque distance du lieu où le prélèvement folliculaire a lieu, il est possible de transporter les liquides folliculaires sans altérer les capacités de fécondation des ovocytes. Il est nécessaire d'observer quelques précautions techniques, notamment pour conserver une température la plus proche possible de 37° pendant toute la durée du transport. Des enceintes isolées et chauffantes, munies de thermostats et de blocs métalliques servant de volant thermique sont utilisées à cette fin.

LA PHASE BIOLOGIQUE

Traitement des spermatozoïdes

Le jour de la ponction folliculaire, le conjoint réalise un prélèvement de sperme. Dans certains cas particuliers, l'équipe médicale s'est assurée d'une réserve suffisante de gamètes mâles par auto-conservation préalablement à la stimulation folliculaire.

En FIV classique, il s'agit de préparer une suspension de spermatozoïdes dont les caractéristiques sont aussi proches que possible de celle qui se trouve dans le tractus génital féminin en cas de normospermie

Il existe différentes méthodes de préparation des spermatozoïdes, mais la plus utilisée est la séparation du sperme sur un gradient de densité. Le culot obtenu est ensuite re-suspendu dans du milieu de culture, le pourcentage de formes mobiles ainsi que la numération sont évalués. En fécondation in vitro, le nombre de spermatozoïdes nécessaires est d'environ 100 000/ml contenant un ovocyte.

En fécondation in vitro avec micro-injection ou ICSI, la même séquence est utilisée lorsque que cela est possible, mais ici, un seul spermatozoïde est introduit dans le cytoplasme ovulaire à l'aide d'une micro-pipette.

Les spermatozoïdes frais ou congelés de toute origine (éjaculat, biopsie testiculaire contenant des spermatozoïdes) peuvent être utilisés, à condition qu'ils soient vivants.

Après préparation selon les techniques déjà décrites, les spermatozoïdes sont placés dans une solution de poly-vinyl-pyrrolidone qui les immobilise par sa viscosité.

Le spermatozoïde retenu est chargé dans la micro-pipette après cassure de son flagelle afin de lui enlever toute mobilité. Il est ensuite introduit dans le cytoplasme d'un ovocyte décoronisé.

Traitement des ovocytes

Une des conséquences de la stimulation est l'hétérogénéité de la cohorte ovocyttaire. Tous les degrés de maturation peuvent être constatés. Dans la pratique actuelle, tous les ovocytes sont mis en fécondation en FIV et seuls les ovocytes jugés matures après décoronisation sont micro-injectés en ICSI.

Observation des embryons

L'observation des zygotes peut avoir lieu 20 à 24 H après la fécondation in vitro. L'intérêt de l'examen détaillé des zygotes est de vérifier la réalité de la fécondation et d'en détecter d'éventuelles anomalies. Elle peut donner des renseignements utiles mais il y a souvent des faux positifs et des faux négatifs

L'examen des embryons se fait en principe 40 à 48 H après l'insémination. Cet examen, outre l'intérêt théorique qu'il peut présenter, est très utile au choix des embryons à transférer.

En effet, le taux de grossesse par transfert augmente avec le nombre d'embryons transférés jusqu'à un certain seuil, mais avec pour corollaire une majoration du risque de grossesse multiple. Différents paramètres entre en ligne de compte (âge de la patiente, rang de la tentative...) et le choix du nombre d'embryons à transférer doit être décidé au cas par cas. Les embryons surnuméraires, après recueil du consentement du couple, peuvent être congelés. Ils feront l'objet d'un remplacement après préparation de

l'endomètre sans repasser par toutes les étapes de la fécondation in vitro.

TRANSFERT EMBRYONNAIRE

C'est la dernière étape du processus de la fécondation in vitro. Elle pourrait paraître la plus facile car sur le plan gynécologique le geste du transfert embryonnaire est le plus souvent sans difficulté. Mais il doit être préparé et réalisé avec attention pour éviter qu'un transfert embryonnaire inadéquat soit la cause de l'échec final de toutes les étapes antérieures. Il a lieu actuellement dans la majorité des cas à 48 h de la ponction. Il peut-être aussi plus tardif à cinq ou six jours, au stade blastocyste, mais ceci nécessite l'utilisation d'autres milieux de culture.

Le transfert a lieu en ambulatoire, le plus souvent au laboratoire de fécondation in vitro lui-même afin d'éviter toute manipulation inutile et tout transport embryonnaire qui pourrait intervenir négativement sur ses capacités de développement.

La phase lutéale est habituellement soutenue par l'administration de progestérone naturelle parfois associée à de l'hCG en injectable selon les habitudes des équipes médicales.

Le premier dosage de B hCG plasmatique a lieu 14 jours après la ponction folliculaire. Pour être interprétable le dosage de B hCG plasmatique doit être fait au moins 7 jours après la dernière injection d'hCG exogène pour éviter un faux-positif.

COMPLICATIONS

Globalement, on peut estimer qu'une complication qui nécessite l'hospitalisation de la patiente se produit de une à deux fois sur cent. Cette fréquence des complications est plus importante si on y inclue les incidents, heureusement souvent mineurs et sans conséquence, qui peuvent arriver. Mais il ne faut pas perdre de vue que parmi les complications possibles, il en est de potentiellement graves qui, si des soins appropriés ne sont pas donnés, peuvent aller jusqu'à menacer la vie de la patiente. C'est d'ailleurs probablement là que réside le danger essentiel, car, pris dans la routine des traitements, il est possible de passer à côté d'une complication sans en faire le diagnostic, ou de faire ce diagnostic de façon retardée.

Complications liées à la stimulation de l'ovulation

La liste des effets secondaires des traitements est longue : asthénie, céphalées, métrorragies, mastodynies, bouffées de chaleur, troubles digestifs, pertes de mémoire... n'atteignant pas le niveau de réelles "complications", il faut savoir les différencier de ce qui pourrait être un signe d'appel à ne pas laisser passer

1) Allergie aux produits utilisés :

Rare. Il s'agit alors souvent de réactions locales aux points d'injection, en particulier pour les produits qui s'administrent par voie sous-cutanée. Il faut souligner que cette réaction est le plus souvent due à l'excipient et non aux chaînes protéiniques qui sont le principe actif du médicament.

Ce n'est que de façon tout à fait exceptionnelle qu'un rash plus important est signalé, ou qu'une réaction plus importante amène à remettre en cause l'utilisation du produit. Dans ce cas, avant de conclure, il convient de faire une exploration allergologique complète comportant notamment les tests cutanés appropriés.

2) Prise de poids :

S'agit-il d'un effet secondaire ou d'une complication ? De ce point de vue le regard de la patiente est souvent différent de celui du médecin. La variation de poids au cours d'une tentative de FIV est habituellement peu importante, en moyenne de 580 g. Mais elle atteint dans certains cas 4 kg. Surtout, c'est le cumul des prises de poids qui ont lieu au cours de tentatives successives qui peut prendre des proportions importantes et amener à la décision d'interrompre les traitements.

3) Accidents thrombotiques :

La littérature en rapporte plusieurs cas. Le plus souvent l'accident thrombotique survient à l'occasion d'un syndrome d'hyperstimulation. Mais ce n'est pas toujours le cas. La phase de stimulation des ovaires

s'accompagne de modifications significatives de l'hémostase qui sont très probablement en rapport avec l'hyperoestrogénie induite par la réponse multifolliculaire. Chez des personnes prédisposées ces modifications pourraient être le facteur déclenchant d'une thrombose.

Les thromboses des stimulations ovariennes sont très particulières car elles concernent volontiers le territoire cave supérieur, pour des raisons qui ne sont pas encore bien comprises.

Est-il nécessaire de faire une étude complète de l'hémostase avant d'entreprendre une stimulation ovarienne afin de dépister les sujets à risque ? La fréquence somme toute faible des accidents ne le justifie pas. Mais l'interrogatoire clinique de la patiente doit comporter des QCMs sur les antécédents thrombotiques personnels et familiaux et, un bilan de dépistage réalisé lorsque ces antécédents le justifient. De même, il faut penser à cette éventualité diagnostique, notamment lorsque la patiente se plaint d'un oedème inhabituel des membres supérieurs et/ou du thorax.

4) Modifications du cycle :

Le cycle qui suit immédiatement un cycle stimulé peut être légèrement modifié dans sa durée (allongé ou raccourci) et l'ovulation altérée. Cette variation est inconstante et transitoire. Elle n'est plus perceptible au-delà de deux cycles spontanés qui succèdent à un cycle stimulé.

5) Syndrome d'hyperstimulation (HSO):

C'est la complication majeure des traitements de stimulation de l'ovulation. Un syndrome d'hyperstimulation grave survient dans environ 2% des cycles stimulés en vue de fécondation in vitro.

L'HSO présente des degrés de gravité divers, mettant parfois en jeu le pronostic vital maternel, et plusieurs classifications existent. La classification de l'OMS est le plus souvent utilisée

Elle présente 3 stades auxquels a été adjoint récemment un quatrième stade appelé HSO critique, qui associe ascite majeure, syndrome de détresse respiratoire, insuffisance rénale aiguë, accidents thrombo-emboliques et leucocytose importante.

6. Torsion d'annexe :

Survenant sur des ovaires augmentés de volume en raison du traitement. La sanction thérapeutique est chirurgicale et il faut toujours tenter d'être conservateur au maximum, mais l'ovariectomie, voire l'annexectomie est parfois nécessaire

7. Risque oncogène ?

L'analyse de la littérature donne des résultats discordants sur un surrisque éventuel de cancer du sein, de l'utérus ou de l'ovaire. En effet, il est difficile de faire la part des facteurs liés au terrain (infertilité, nulliparité...) de ceux liés au traitement administré.

Mais cette interrogation justifie d'autant plus :

- un bilan pré-thérapeutique sérieux avant toute stimulation,
- de limiter les stimulations ovariennes de mauvais pronostic,
- un suivi gynécologique régulier au-delà de la prise en charge en AMP.

Complications liées au prélèvement ovocytaire

A ses débuts, la fécondation in vitro était réalisée à partir d'ovocytes obtenus par coelioscopie. Il fallait donc citer parmi les complications possibles toutes celles en rapport avec ce geste invasif réalisé, dans la grande majorité des cas, sous anesthésie générale.

Aujourd'hui, sauf exception, tous les prélèvements sont réalisés sous contrôle échographique par voie vaginale. L'anesthésie générale n'est plus aussi strictement indispensable mais est souhaitée par certaines patientes.

Les complications de l'anesthésie font partie des complications possibles. C'est pourquoi il est indispensable que tous les prélèvements folliculaires soient faits en présence d'un anesthésiste qui se comporte avec ce type de patiente exactement comme il le ferait pour n'importe quelle autre intervention : consultation de pré anesthésie, éventuels examens complémentaires en fonction des antécédents et des facteurs de risque particuliers de la patiente, mise en place d'une voie veineuse, prémédication...etc.

La ponction elle-même comporte le risque de perforation d'organes ou d'effraction vasculaire. Il est même probable que la ponction involontaire d'organes pelviens a lieu de façon beaucoup plus fréquente que ce que l'on pense. Mais, heureusement, il n'y a habituellement pas de retentissement clinique.

Par contre, la littérature médicale ainsi que l'expérience clinique de tout centre d'Assistance Médicale à la Procréation, font état de :

Complications infectieuses : de survenue secondaire, le syndrome clinique, d'abord pelvien, puis rapidement abdominal, s'installe en deux à trois jours, avec fièvre croissante et troubles digestifs. Si le traitement médical est débuté suffisamment tôt, la guérison peut être obtenue sans avoir à intervenir chirurgicalement. Ces complications infectieuses peuvent avoir pour cause une introduction bactérienne inopportune à l'occasion de la ponction transvaginale, ou une effraction digestive minime qui suffit cependant à contaminer le péritoine, ou encore, et c'est semble-t-il le mécanisme le plus fréquent, une flambée à partir d'un foyer inflammatoire annexiel.

La contamination directe de l'ovaire par l'aiguille de ponction avec l'inoculation de germes dans un milieu de culture favorable comme peut l'être un corps jaune bien vascularisé, peut être à l'origine d'abcès ovariens. Comme pour tout abcès, le traitement médical avant l'abcédation permet d'obtenir la guérison, mais si du pus est présent, seule l'évacuation chirurgicale viendra à bout du tableau clinique.

Complications hémorragiques : elles donnent le même tableau clinique initial que les complications infectieuses, essentiellement des douleurs abdominales, mais il y a en plus les signes d'anémie aiguë. Le plus souvent ce sont les ovaires qui saignent. Glace sur le ventre, surveillance attentive et tout rentre dans l'ordre en quelques heures. Mais il arrive, heureusement rarement qu'il faille faire l'hémostase chirurgicalement.

Il y a aussi parfois une hémorragie vaginale. L'extériorisation de sang et de caillots rend le diagnostic aisé. Un point en X sur le cul de sac qui saigne permet d'obtenir facilement l'hémostase.

Ces complications possibles et leur gravité potentielle imposent une prise en charge médicale réelle des patientes qui ne font que transiter dans le service d'hospitalisation (le plus souvent hospitalisation ambulatoire ou de jour). Notamment, la sortie rapide après la ponction ne doit pas être systématique, contrôle et autorisation médicale sont indispensables.

Complications liées au transfert embryonnaire

Le plus fréquemment, il est effectué par voie endo-utérine. En général anodin, il peut occasionner :

- malaise vagal (bradycardie, sueurs), crise de spasmophilie ou de tétanie. Ces manifestations sont le fait du stress et de l'angoisse et sont minimisées par la préparation du transfert : réalisation d'un "test de transfert" en consultation, prémédication.

- fausses route : il s'agit plus d'un échec de la FIV que d'une complication dans la mesure où un transfert effectué hors de la cavité utérine (néo-cavité, col, cavité abdominale) aboutira le plus souvent à une non implantation embryonnaire.

- syndrome infectieux : introduction de germes dans la cavité utérine lors du passage de l'endocol. Le plus souvent, les germes sont déjà présents, et le transfert n'est que le facteur déclenchant de l'infection. En général, un traitement médicamenteux suffit. Mais il faut identifier le réservoir pour éviter la récurrence lors de tentatives ultérieures, et si ce réservoir est annexiel, cas le plus fréquent, il faut probablement faire une salpingectomie préventive.

ANALYSE DES RÉSULTATS

L'expression des résultats et surtout leur interprétation pose des problèmes particuliers en fécondation in vitro. L'habitude est de les exprimer en "pourcentages de réussite par rapport au nombre de tentatives". Toute la QCM est de savoir ce que l'on entend par "réussite" ou "succès" et par "tentative".

Les résultats globaux d'une activité de fécondation in vitro n'ont pas grande signification dans la mesure où ils dépendent d'un grand nombre de critères qui peuvent fortement les influencer. Par exemple, tel

groupe dont le recrutement est plus orienté vers les problèmes de stérilité masculine aura des résultats globaux plutôt moins bons que ceux d'autres groupes. Si l'équipe choisit de fixer une limite d'âge à 37 ans, les résultats devraient être meilleurs que si des patientes de 40 ans sont admises à faire une tentative. Est-ce dire que cette équipe aura mieux travaillé ? Ou encore, si une équipe choisit de faire une politique de prévention des grossesses multiples en utilisant le plus possible le cycle spontané et en limitant strictement le nombre d'embryons transférés, ses résultats globaux devraient être moins bons.

Il ne faut donc pas interpréter à la lettre les résultats globaux d'une équipe. Ils ne sont qu'une image grossière du travail réalisé. De nombreux autres critères d'évaluation doivent intervenir pour pouvoir porter un jugement valable.

Ceci étant, les résultats globaux permettent de connaître l'importance d'une activité, et à l'échelle d'un pays comme la France ils permettent de se faire une opinion sur ce qu'apporte la technique de fécondation in vitro.

Le fichier national FIVNAT recueille au fur et à mesure les données correspondant aux tentatives de fécondation in vitro. Il permet donc de faire une analyse détaillée des résultats en se basant sur de grands nombres car la plupart des groupes français collaborent à ce fichier. Il faut souligner qu'il s'agit là d'une organisation tout à fait originale pour laquelle les groupes français ont joué un rôle de précurseur et qui commence à être copiée par certains pays étrangers. Ces résultats sont consultables sur le site Internet : <http://perso.wanadoo.fr/fivnat.fr/>

A titre informatif, le bilan FIVNAT 2001 qui a regroupé 39 718 tentatives donne les résultats suivants :

	FIV	ICSI
Taux de grossesse / ponction	21,6 %	24,4 %
Naissance d'au moins 1 enfant vivant par ponction	17,1%	21,1%

Différents paramètres viennent moduler ces chiffres : l'indication qui a conduit le couple en fécondation in vitro, l'âge de la femme, le rang de la tentative...

ASPECTS PSYCHOLOGIQUES

Ils ne faut pas les faire disparaître derrière la technique. Un couple qui n'arrive pas à avoir les enfants qu'il désire est un couple en détresse. Avant d'avoir recours à la fécondation in vitro il a déjà derrière lui une longue histoire d'infertilité, depuis le moment de sa découverte (découverte progressive, au fur et à mesure des cycles inféconds) en passant par la phase du bilan diagnostique et celle des premières tentatives thérapeutiques conclues par un échec. Le recours à une technique "artificielle" n'est pas un traumatisme en soi, si elle devait se conclure par un succès. Mais là où les difficultés commencent, c'est lorsque "après tout cela", il n'y a toujours rien : Encore l'échec, et l'espoir qui s'éteint progressivement...

Le profil psychologique parfois particulier des couples stériles n'est pas la cause de la stérilité ni de l'échec du traitement. Il est la résultante du vécu de la stérilité et de l'usure apportée par les espoirs déçus. La technique de la fécondation in vitro, dans la mesure où elle aussi se conclurait par un échec, peut apporter un surcroît de difficultés psychologiques. Elles sont d'autant plus importantes que la fécondation in vitro est une technique "lourde" aussi bien du point de vue de l'investissement "temps" qui est demandé au couple, que du caractère invasif et intrusif des examens et des interventions médicales et biologiques, ainsi que du point de vue de l'espoir qui est généré, cette méthode étant considérée - à tort plus souvent qu'à raison - comme une technique miraculeuse ou un ultime recours. Le couple va devoir une fois de plus assumer ce traumatisme psychologique. Certains ne le peuvent pas, et si l'équilibre du couple est en péril il ne faut pas proposer ce type de traitement.

ASPECTS ÉTHIQUES ET RÉGLEMENTAIRES

La fécondation in vitro et son emploi en clinique humaine crée un champ nouveau d'interrogations que l'homme doit se poser à lui-même. La fécondation in vitro est en effet une forme de "création de la vie". Sa réalisation nécessite un certain nombre d'interventions techniques sur lesquelles il est légitime de s'interroger. Surtout, elle donne accès aux embryons humains, ce qui peut être le point de départ de toute une série d'interventions possibles dont certaines sont sans doute justifiées, mais pas toutes.

La fécondation in vitro n'est une technique acceptable dans ses applications à l'espèce humaine que si sa pratique répond à un certain nombre de règles. Ces règles ont été définies par les professionnels eux-mêmes réunis au sein du GEFF (Groupe pour l'Étude de la Fécondation in vitro en France) dans le "GBP-AMP"(cf début du cours).

D'un point de vue réglementaire, les Lois de bioéthiques du 29 Juillet 1994 encadrent notre pratique en France. Elles sont actuellement en cours de révision.

A ce jour, l'A.M.P. est possible :

- chez des couples hétérosexuels (et pas chez une femme seule),
- dont les deux membres du couple sont vivants au moment de la tentative,
- en âge de procréer,
- mariés ou concubins pouvant faire la preuve d'une vie commune d'au moins 2 ans.

L'équipe médicale doit avoir en son sein un biologiste et un clinicien agréés pour ces techniques. L'agrément est nominal. L'équipe doit rendre un bilan annuel au ministère de la santé.

Points essentiels

Les techniques d'A.M.P. regroupent celles de l'insémination, de la Fécondation in vitro et de l'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes.

Elles sont encadrées par les Lois de Bioéthiques du 29 Juillet 1994 et le Guide de Bonnes Pratiques cliniques et biologiques en Assistance Médicale à la Procréation.

La prise en charge des couples est pluridisciplinaire (gynécologue et biologiste au minimum, voire, urologue, généticien, psychologue, cytogénéticien, ...).

Les indications sont multiples et discutées au sein de réunions pluridisciplinaires des centres d "A.M.P. agréés, Le couple doit systématiquement confirmer par écrit sa demande d'A.M.P.

Pour chacun, des examens dits de sécurité sanitaire sont réalisés : sérologies HIV 1+2, hépatite B, hépatite C, syphilis.

Pour la majorité de ces techniques, sont associées une stimulation de l'ovulation et une préparation du sperme ou une fécondation assistée in vitro.

Le taux de grossesse varie de 10 à 12 % par cycle en cas d'insémination et de 20 à 25 % en cas de FIV.

Il existe des risques de complications dont ceux liés à l'hyperstimulation des ovaires qui nécessitent une prise en charge médicale urgente.