

## Profils des embryons conçus par fécondation assistée et leurs impacts sur le taux de grossesses

Mounir Ajina, Radhouan Naifer, Imed Harrabi\*, Wafa Loussaief, Samira Ibala, Ali Saad.

*Service De Cytogenetique Et De Biologie De La Reproduction.*

*\*Service D'epidemiologie C.H.U Farhat Hached. Sousse.tunisie.*

*M. Ajina, R. Naifer, I. Harrabi, W. Loussaief, S. Ibala, A. Saad.*

*M. Ajina, R. Naifer, I. Harrabi, W. Loussaief, S. Ibala, A. Saad.*

Profils des embryons conçus par fécondation assistée et leurs impacts sur le taux de grossesses

Profiles of embryos designed by fertilization assisted and their impact on the rate of pregnancies

LA TUNISIE MEDICALE - 2010 ; Vol 88 (n°01) : 23 - 29

LA TUNISIE MEDICALE - 2010 ; Vol 88 (n°01) : 23 - 29

### R É S U M É

**But:** Analyse du statut gamétique chez des couples inféconds programmés pour assistance médicale à la procréation et une évaluation des facteurs pronostiques des embryons conçus par fécondation assistée et leurs impacts sur le taux de fécondation.

**Méthodes :** étude rétrospective à propos de 199 cycles d'ICSI durant une période de 2 ans et ? entre septembre 2001 et février 2004. La procédure de l'ICSI a comporté plusieurs étapes : recueil et préparation du sperme, mise en culture des ovocytes, décoronisation et micro-injection des ovocytes, contrôle de la fécondation et transfert embryonnaire respectivement 18 à 22 heures et 48 heures après la micro-injection.

**Résultats :** l'âge moyen des patientes était de 32,4 ans et la durée moyenne d'infécondité était de 7 ans. Le taux moyen de fécondation était de 50%. Le nombre moyen d'embryons transférés était de 2,46. Nous avons obtenu 41 grossesses dont 36 étaient des grossesses cliniques (87,8%). Le taux de grossesse était de 26,1 % par transfert et de 21 % par ponction. L'âge des patientes était le premier facteur pronostique de l'ICSI. Le taux de grossesse était de 27% avant l'âge de 35 ans, il diminue avec l'âge et s'annule après 40 ans (P=0,021). L'autre facteur pronostique était le nombre d'embryons à 4 cellules transférés. Le taux de grossesse augmente de façon significative avec le nombre d'embryons à 4 cellules transférés : 15% après transfert d'un seul embryon versus 43% après transfert de 3 embryons ou plus (P=0,04). Le pronostic de l'ICSI n'a pas été influencé de façon significative par l'origine ou la mobilité des spermatozoïdes, par la durée d'infécondité et par le nombre total d'embryons transférés.

**Conclusion :** l'ICSI représente actuellement le traitement de choix des couples ayant des altérations spermatiques extrêmes. Les résultats de notre étude sont comparables à ceux rapportés dans la littérature. L'âge des patientes et le nombre des embryons à 4 cellules transférés sont les principaux facteurs prédictifs du pronostic de l'ICSI.

### S U M M A R Y

**Purpose:** evaluation of our experience in assisted fertilization by ICSI with analysis of prognostic factors.

**Methods:** retrospective study of 199 cycles of ICSI during a 2 years and half period between September 2001 and February 2004. The procedure of ICSI included several stages: collection and preparation of the semen, stake in culture of oocytes, removing of cumulus cells and microinjection of oocytes, control of the fertilization and embryo transfer respectively 18 to 22 hours and 48 hours after the microinjection.

**Results:** the mean age of the patients was 32,4 years and the mean duration of infertility was 7 years. The mean fertilization rate was 50%. The mean number of embryos transferred was 2,46. We got 41 pregnancies of which 36 were clinical pregnancies (87,8%). The pregnancy rate was 26,1% by transfer and 21% by retrieval. The women age was the first prognostic factor of ICSI. The pregnancy rate was 27% before the age of 35 years, decreases with age and annul himself after 40 years (P=0,02). The other prognostic factor was the number of 4 cells embryos transferred. The pregnancy rate increases with significant way with the number of 4 cells embryos transferred: 15% after transfer of only one embryo versus 43% after transfer of 3 embryos or more (P=0,04). The ICSI prognostic has not been influenced with significant way by the origin or the sperm mobility, by the duration of infertility and by the total number of embryos transferred.

**Conclusion:** the ICSI represents currently the treatment of choice of couple having extreme spermatoc changes. The results of our study are comparable to those reported in the literature. The women age and the number of 4 cells embryos transferred are the main factors predicting of the ICSI prognostic.

### M O T S - C L É S

infertilité masculine, injection intra-cytoplasmique de spermatozoïde (ICSI), facteurs pronostiques.

### KEY - WORDS

masculin infertility, intracytoplasmic sperm injection (ICSI), pronostic factors.

Après naissance du premier enfant obtenu par ICSI en 1992 [1], cette technique constitue une réelle révolution dans le monde de procréation médicalement assistée (PMA) et occupe une place essentielle dans la prise en charge de l'infertilité masculine. Elle représente actuellement le traitement de référence de presque toutes les formes de déficiences spermatiques sévères et constitue le dernier recours accessible en cas d'échec de FIV classique. La réussite de l'ICSI et les chances de conception peuvent être optimisées par une bonne stimulation ovarienne et par une parfaite maîtrise de la technique de micro-injection et de culture embryonnaire. Cependant, certains facteurs d'échec sortent du domaine de compétences humaines et constituent des limites naturelles et imbattables en reproduction humaine. Le but de cette étude est l'évaluation des résultats de notre expérience en fécondation assistée par ICSI introduite depuis seulement 2 ans et ? dans notre service et l'analyse des principaux facteurs pronostiques qui ont influencé son issue.

---

## MATERIEL ET METHODES

---

### Patients :

Il s'agit d'une étude rétrospective à propos de 162 couples qui ont bénéficié de 199 cycles d'ICSI réalisés au service de cytogénétique et de biologie de la reproduction au CHU Farhat Hachad de Sousse. La période d'étude s'étale sur 2 ans et ? entre septembre 2001 et février 2004. Nous avons exclus de cette étude les cycles qui ont été annulés en raison d'une ponction ovocytaire blanche, en cas d'absence de spermatozoïdes sur biopsie testiculaire.

### Stimulation et recueil ovocytaire :

La stimulation de l'ovulation par les gonadotrophines exogènes a été toujours précédée par une désensibilisation hypophysaire par un agoniste de la gonadotrophine-releasing-hormone, selon un protocole long dans la plupart des cas. Les ponctions ovocytaires ont été réalisées sous contrôle échographique, 36 heures après déclenchement de l'ovulation par l'hormone chorionique gonadotrophique (HCG).

### Préparation du sperme :

Notre technique consiste en la migration du sperme sur un gradient de Sil-Select (Sil-Select, FertiPro N.V, Belgium) à 2 fractions (90% et 50%). Le sperme est déposé sur ce gradient puis centrifugé (300g, 20mn). La fraction 90% riche en spermatozoïdes mobiles est lavée par le RPMI (RPMI 1640 Medium, GIPCO, UK) (300g, 10mn). Enfin, le culot est résuspendu dans 20 à 50 µl du milieu de culture (Ferticult. IVF Medium, FertiPro N.V, Belgium). Le nombre total de spermatozoïdes mobiles est évalué sur la cellule de Makler (Counting Chamber MAKLER, Sefi-Medical Instruments, Israel). Dans le cas de sperme akinétique, on réalise un test au pentoxifylline (SIGMA, P-1784, Japon) pour stimuler la mobilité des spermatozoïdes. Les biopsies testiculaires sont traitées selon la procédure décrite par Silber et al [2].

Les fragments de parenchyme testiculaire sont finement

dilacérés puis centrifugés (300g, 10mn) et le culot est suspendu dans 20 µl de Ferticult hepès (HEPES BUFFER (1M), SIGMA, H0887).

### Procédure de la microinjection :

Les ovocytes sont séparés de leurs cumulus par le traitement enzymatique à l'hyaluronidase 2% (EBSS, SIGMA, E2888) et par aspiration répétée dans une pipette Pasteur effilée (PP270S, C.E.B, France). Les ovocytes matures (en métaphase II) sont ensuite déposés dans des microgouttes de 7µl de Ferticult hepès sous huile de paraffine (Mineral oil, SIGMA, M-8410, Germany) dans une boîte de pétri (CELLSTAR 60/15mm, Greiner, Germany). Les spermatozoïdes sélectionnés sont déposés dans une microgoutte visqueuse contenant de Polyvinyl-pyrrolidone à 90% (PVP, SIGMA, P5288, Germany). L'injection est réalisée sur la platine chauffante d'un microscope inversé Hoffman (ZEISS, ID03, Germany) équipé de deux macromanipulateurs. Le spermatozoïde candidat à l'injection est sélectionné dans la microgoutte de PVP. Une fois choisi, il est immobilisé et aspiré dans la pipette de d'injection pour être injecté dans l'ovocyte. Au moment de l'injection, l'ovocyte est fixé par une micropipette de contention de façon à garder le globule polaire en position verticale. La micropipette d'injection est délicatement introduite dans le cytoplasme de l'ovocyte à 3 heures en s'assurant d'avoir traversé l'oolemme. Le spermatozoïde est alors injecté avec le minimum de liquide. Les ovocytes microinjectés sont ensuite récupérés puis placés dans une boîte de culture à l'étuve (37°, 5 CO2).

### Evaluation de la fécondation et transfert d'embryons :

La fécondation est objectivée 18-22 heures après la microinjection par la présence de 2 pronuclei et 2 globules polaires. Les embryons sont replacés dans la cavité utérine 24 heures plus tard au stade de 4 cellules. Des cultures embryonnaires jusqu'au stade de blastocyste sont réalisées en cas d'échec d'implantation lors d'une tentative antérieure d'ICSI.

Le transfert est dans ces cas réalisé 5 à 6 jours après la micro-injection. Le nombre d'embryons replacé dépend du rang de la tentative, de l'âge de la patiente et de la qualité des embryons. Les grossesses biochimiques sont détectées, 14 jours après le transfert, par une augmentation transitoire du taux sérique de βHCG. Les grossesses cliniques sont définies par la mise en évidence d'un sac gestationnel objectivé par l'échographie endovaginale.

### Etude statistique :

Les données de notre étude ont été informatisées en utilisant le logiciel SPSS version 08. La comparaison de plusieurs moyennes a été réalisée par l'analyse de la variance à un seul facteur (Anova test). La comparaison de deux moyennes a été réalisée par le test de T-Student. Le seuil de signification de ces tests est 5%.

## RESULTATS

Nous avons réalisé un ensemble de 199 ICSI chez 162 couples. La majorité des couples (77,1%) ont bénéficié d'une seule tentative d'ICSI, 18,5% ont eu 2 tentatives et seulement 4,3% ont eu 3 tentatives ou plus. Le taux de transfert par ponction était de 79% (157 transferts /199 ICSI).

L'âge moyen des patientes était de 32,4 ans. Près de 1/3 des patientes étaient âgées de plus de 35 ans (29,1%). La durée moyenne d'infécondité était de 7,1 ans (extrêmes : 0,6 et 28 ans) et 55% des couples avaient une infécondité au-delà de 5 ans.

L'indication de l'ICSI était d'origine masculine dans tous les cas: portant sur l'un ou l'ensemble des paramètres du sperme (oligoasthénospermies sévères) ou une azoospermie dans 9,2% des cas. L'ICSI après échec de FIV classique a été réalisée dans 6,8% des cas. Chez les azoospermiques, 13 patients ont bénéficié d'une biopsie testiculaire, les restes ont eu une ponction épидидymaire.

Le nombre moyen d'ovocytes ponctionnés était de 7,5 ovocytes par cycle (Tableau N°1). La proportion des ovocytes matures

**Tableau N°1:** Analyses des paramètres cliniques et para-cliniques des patientes en ICSI.

	Moyenne (extrêmes)
Age des patientes (ans)	32,4 (20 - 48)
Age des patients (ans)	38 (26 - 55)
Durée d'infécondité (ans)	7,1 (0,6 - 28)
Nombre d'ovocytes ponctionnés / cycle	7,5 (1-18)
Nombre d'ovocytes matures/ cycle	4,6 (1-15)
Taux de fécondation (%)	50
Taux de segmentation (%)	66,2
Nombre d'embryons transférés	2,46 (1-7)

était de 62% avec un nombre moyen de 4,6 ovocytes matures par cycle. Le taux moyen de fécondation par cycle était de 50%. Le nombre moyen d'embryons transférés était de l'ordre de 2,46 par transfert. 81% des embryons ont été transférés au stade de 2 à 4 cellules contre 19% au stade de blastocyste.

Au total, 41 grossesses ont été recensées lors de l'étude dont 5 grossesses biochimiques (12,2%) et 36 grossesses cliniques (87,8%). Le taux de grossesses (y compris les grossesses biochimiques) était de 26,1% par transfert, de 25,3% par couple et de 21% par ponction (Tableau N°2).

Les 36 grossesses cliniques ont donné : 5 avortements précoces au premier trimestre (12,2%), 11 grossesses arrêtées entre 8 et 30 SA (26,8%) (Nous n'avons pas de causes précises d'arrêt de ces grossesses) ; et 20 accouchements au 3ème trimestre (48,8%). Seulement 4 grossesses étaient multiples (11,2%) dont 2 grossesses gémellaires et 2 grossesses triples. Parmi les 20 accouchements, 18 étaient à terme (après 36SA) et 2 étaient des accouchements prématurés à 34 SA (10%) : un accouchement par césarienne d'une grossesse triple et un accouchement spontané par voie basse d'une grossesse

**Tableau N°2:** Variation des taux de grossesses.

Pourcentage	
Taux de grossesses (y compris les grossesses biochimiques)	
-Par transfert	26,1 %
-Par couple	25,3 %
-Par ponction	21 %
Taux de grossesses cliniques	
-Par transfert	22,9 %
-Par couple	22,2 %
-Par ponction	18 %

gémellaire. Nous avons noté une mort fœtale in-utero à terme. Un ensemble de 22 naissances (12 garçons et 10 filles) vivantes ont été recensés lors de l'étude : 17 naissances simples, 1 naissance gémellaire et une naissance triple. Après un recul moyen de 10 mois, 21 enfants sont vivants en bon état de santé. Un seul enfant était décédé 17 jours après sa naissance.

L'analyse des facteurs pronostiques de notre série n'a concerné que les 162 premiers cycles d'ICSI dans le but d'éliminer les biais liés à la répétition de la tentative chez un même couple.

Le tableau N°2 représente les résultats de l'ICSI selon l'âge des patientes. Les 162 patientes ont été réparties en 3 tranches d'âge : ≤ 35 ans, 36 à 40 ans et au-delà de 40 ans. L'analyse de la

**Tableau N°3:** Résultats selon l'âge des patientes.

Age des patientes	≤ 35 ans (n=114)	36-40 (n=37)	> 40 ans (n=11)	Valeur de « p »*
Nombre d'ovocytes ponctionnés	8,64(3,8)	5,41 (2,9)	5,09 (4,2)	0,000
Nombre d'ovocytes matures	5,14 (2,7)	3,78 (2,2)	3,64 (3,2)	0,011
Taux de fécondation	52	40	37	0,078
Taux de segmentation	71,1	49,54	31,8	0,001
Nombre d'embryons transférés	2,2 (1,5)	1,11 (1)	1,45 (1,8)	0,000
Taux de grossesses	27	11	0	0,021
Taux de grossesses cliniques	24	8,1	0	0,027

\* Test "One Way Anova"

variance a montré des résultats statistiquement meilleurs chez les patientes jeunes. Le nombre d'ovocytes ponctionnés ou matures, les taux de segmentation, le nombre d'embryons transférés chutent de façon très significative après l'âge de 40ans. Le taux de fécondation baisse avec l'âge mais cette diminution n'a pas atteint un degré de signification (p=0,07). Les chances de grossesses cliniques, qui sont de l'ordre de 24% dans le groupe de patientes âgées de moins de 35 ans, diminuent avec l'âge et s'annulent après 40 ans (p=0,02). Le tableau N°4 représente les résultats de l'ICSI selon l'origine des spermatozoïdes. Le premier groupe représente les patients

**Tableau N°4:** Comparaison des différents paramètres cliniques et para-cliniques selon l'origine des spermatozoïdes.

	Sperme éjaculé (n=147)	Biopsie testiculaire (n=13)	Valeur de « p »*
Age des patientes	32,7 (5,6)	29 (5,5)	0,098
Durée d'infécondité (ans)	7,4 (5,1)	5 (3,9)	0,444
Nombre d'ovocytes ponctionnés	7,6 (3,8)	6,8 (5,2)	0,196
Nombre d'ovocytes matures	4,7 (2,7)	3,7 (2,2)	0,159
Taux de fécondation (%)	49,4	35,3	0,148
Taux de segmentation (%)	64,5	46	0,592
Taux de grossesses / cycle	22%	15%	0,791
Taux de grossesses cliniques / cycle	18%	15%	

\* Test de T- Student

ayant un sperme frais (n=147), le second représente les patients qui ont eu un prélèvement des spermatozoïdes par biopsie testiculaire pour une azoospermie d'origine non obstructive (n=13). En comparant les caractéristiques des deux groupes, on n'a pas noté de différences significatives en terme de durée d'infécondité, du nombre d'ovocytes ponctionnées ou matures. La seule différence était retrouvée en moyenne d'âge des patientes qui était plus bas dans le groupe « biopsies testiculaires » (32,7 versus 29 ans ; p=0,02). Les résultats en terme de taux de fécondation, de taux de segmentation et de taux de grossesses étaient meilleurs pour le groupe « sperme frais » mais la différence n'était pas statistiquement significative.

Les autres facteurs étudiés sont représentés par le tableau N°5. Dans notre étude, les taux de fécondation et de grossesses n'ont pas été influencés par la mobilité spermatique, par la durée d'infécondité et par le nombre total d'embryons transférés. Le taux de grossesses augmente en fonction du nombre total d'embryons transférés, mais cette augmentation n'était pas significative. Par contre, les chances de grossesses augmentent de façon significative avec le nombre d'embryons à 4 cellules transférés (13% si transfert d'un seul embryon à 4 cellules versus 36% si transfert de 3 embryons ou plus).

**Tableau N°4:** Analyse des taux de fécondation et de grossesses selon la mobilité des spermatozoïdes, la durée d'infécondité et le nombre d'embryons transférés.

	0-5	6-15	16-25	?25	« P »*
Mobilité initiale des spermatozoïdes (%)					
Taux de fécondation (%)	40	52,8	50	50,6	0,536
Taux de grossesses (%)	13	33	27	22	0,230
Taux de grossesses cliniques (%)	12	29	21	20	0,355
Durée d'infécondité (ans)	0-2	3-4	5-6	> 6	
Taux de fécondation (%)	55,4	39	53,3	49,2	0,206
Taux de grossesses (%)	33	21	16	21	0,572
Taux de grossesses cliniques (%)	28	16	16	18	0,736
Nombre d'embryons transférés	1	2	?3		
Taux de grossesses (%)	14	26	36	-	0,112
Taux de grossesses cliniques (%)	11	26	31	-	0,134
Nombre d'embryons à 4 cellules transférés	1	2	?3	-	
Taux de grossesses (%)	15	35	43	-	0,032
Taux de grossesses cliniques (%)	13	35	36	-	0,044

\* Test "One Way Anova"

## DISCUSSION

L'ICSI est une technique de fécondation in vitro (FIV) qui consiste à réaliser mécaniquement la pénétration du spermatozoïde dans l'ovocyte. Cette technique, qui a été mise au point dès le début des années 90 a révolutionné la prise en charge de l'infertilité masculine.

En cas de FIV classique, les infertilités d'origine purement masculine débouchent dans 11,8% à 13,6% des cas vers des grossesses [3]. Ses résultats sont plus mauvais en cas d'anomalies sévères du sperme. Dans ces cas, l'ICSI constitue pour de nombreux couples une chance réelle d'avoir un enfant. Les taux de fécondation par cette technique varient entre 50 et 70% par ponction (50% dans notre série) quelque soit l'intensité de l'oligoasthénospermie ou l'origine de spermatozoïdes (éjaculés, épидидymaires ou testiculaires) [3]. L'ICSI permet ainsi d'obtenir des fécondations à partir de spermatozoïdes naturellement non fécondants, en particulier dans les cas où la FIV classique est vouée à l'échec.

Selon le troisième rapport de la société européenne de reproduction humaine et d'embryologie (ESHRE) [4], le taux de grossesses cliniques obtenues par ICSI a varié entre 17,4% (Ukraine) et 32,4% (Espagne) par ponction et entre 18,5% (Ukraine) et 35,2% (Grèce) par transfert. Dans notre série, ce taux était de 18% par ponction et de 22,9% par transfert et concordent avec les données de la littérature [4].

Plusieurs facteurs pronostiques de l'ICSI ont été évalués dans la littérature. L'âge maternel demeure l'un des facteurs les plus certains [5, 6,7]. Dans notre étude, le nombre d'ovocytes ponctionnés et d'ovocytes matures, le taux de segmentation et

le taux de grossesses étaient influencés de façon significative par l'âge des patientes avec des résultats meilleurs chez les femmes jeunes âgées de moins de 35 ans. Par contre, la différence en terme de taux de fécondation n'était pas significative. Nos résultats sont équivalents à ceux retrouvés par Steven D et al dans leur étude rétrospective de 821 cycles d'ICSI [5]. Les taux d'implantation et de grossesses cliniques diminuent respectivement de 50% et de 20% et de façon significative entre les femmes âgées de moins de 35 ans et celles âgées de plus de 40 ans mais pas de différence en terme de taux de fécondation [5]. Il a été démontré que le nombre et la qualité des ovocytes sont affectés par l'âge maternel [5,8] et que les échecs d'implantation chez les femmes âgées sont en rapport en grande partie à des taux très importants d'aneuploïdies [5]. Chez la femme âgée, l'ovocyte perd sa capacité à extérioriser son deuxième globule polaire ce qui donne une augmentation significative du taux de digynie et en l'occurrence une augmentation du taux de triploïdie [5]. Selon Grifo et al, le taux d'aneuploïdies dépasse les 40% chez les femmes âgées de plus de 40 ans [9].

L'ICSI qui comporte une étape initiale de dénudage des ovocytes permet une étude détaillée de la morphologie et la maturation ovocytaire. Environ un tiers des ovocytes recueillis après stimulation ovarienne sont dysmorphiques et sont responsable d'un échec de fécondation en FIV conventionnelle [10]. Il a été démontré que la technique d'ICSI permet par contre des taux de fécondation identiques, que l'ovocyte soit dysmorphique ou non [11,12]. Si l'anomalie morphologique était responsable d'un défaut de fécondation, ce dernier est levé par l'ICSI. Toutefois, Alikani et al, rapportent un taux de 58% de grossesse biochimiques et d'ufs clairs après transfert d'embryons issus d'ovocytes dysmorphiques, ce taux est de 20% seulement si les ovocytes sont normaux [11]. Ces pertes embryonnaires précoces pourraient être en rapport avec la fréquence des aneuploïdies dans les ovocytes dysmorphiques [13]. La morphologie ovocytaire, dévoilée grâce à l'ICSI, peut par conséquence servir comme un critère de sélection des embryons à transférer.

La qualité embryonnaire n'a pu être évaluée avec précision en raison du caractère rétrospectif de notre étude. Nous avons par contre étudié les résultats en fonction du nombre d'embryons à 4 cellules transférés 48 heures après la micro-injection. Les taux de grossesses augmentent de façon significative en fonction du nombre des embryons à 4 cellules transférés, ce résultat n'atteint pas un degré de signification si on tient compte de l'ensemble des embryons transférés (tableau N° VI). Selon Saias- Magan et al, il existe une corrélation étroite entre les embryons à haut score morphologique et le taux de clivage [14]. Le pronostic de l'ICSI dépend donc de ces embryons à 4 cellules qui sont les plus réguliers et les plus synchrones dans la chronologie de segmentation. Le taux de grossesses ne semble pas être lié au nombre des embryons transférés, mais plutôt à la qualité embryonnaire [14, 15,16]. Il a été également démontré que des embryons à faible potentiel de clivage et score morphologique ont un impact négatif sur le pronostic des grossesses [15].

Contrairement à d'autres études [17, 18,19], il n'y avait pas

d'impact significatif de la durée d'infécondité sur les résultats de l'ICSI dans notre étude. Markus S et al, dans une étude prospective de 175000 procédures de fécondations assistées, concernant 103 centres de PMA en Allemagne, ont démontré une corrélation négative et significative entre la durée d'infécondité et le taux de grossesses cliniques [17]. Les taux de grossesses diminuent de façon significative pour une durée d'infécondité de 2 ans ou plus. Les plus mauvais résultats ont été observés avec une durée infécondité supérieure à 8 ans. Dans cette même étude, il a été démontré que le pronostic de l'ICSI est meilleur en cas d'infertilité secondaire, surtout quand il s'agit d'une grossesse antérieure conçu par une technique de PMA.

Des spermatozoïdes prélevés par des biopsies testiculaires ont été utilisés avec succès en FIV depuis 1993 pour des patients ayants des azoospermies d'origine obstructive [20], puis cette technique est devenue une solution pertinente et réelle en cas d'atteinte sévère de la spermatogenèse et en particulier pour les cas d'azoospermie non obstructive. Dans notre série, nous avons noté des résultats comparables en termes de taux de fécondation, de taux de clivage et de taux de grossesses entre les spermatozoïdes prélevés chirurgicalement chez des patients ayants des azoospermies non obstructives et les spermatozoïdes éjaculés. Dans la littérature, il existe des controverses en ce qui concerne l'impact de l'origine des spermatozoïdes sur le pronostic de l'ICSI. Pour certains auteurs, le taux de fécondation, de clivage et d'implantation sont comparables entre sperme éjaculé, épидидymaire ou d'origine testiculaire pour une origine obstructive ou non obstructive de l'azoospermie [2, 21,22].

Les résultats d'autres études sont en faveur du mauvais pronostic de l'ICSI chez les patients souffrant d'une azoospermie non obstructive [22, 23,24]. Le potentiel de fécondation et les taux de grossesses sont significativement plus bas dans ce groupe de patients. Ceci peut être expliqué par les altérations sévères de la spermatogenèse [21]. Certains auteurs [25,26] suggèrent la présence de facteurs inhibiteurs de la maturation des spermatozoïdes dans le parenchyme testiculaire. Cette maturité n'est totalement acquise qu'après passage dans les voies épидидymaires. Ces mêmes patients peuvent souffrir d'une barrière génétique déterminante de la reproduction [27]. Palermo et al rapportent un taux de 20% d'aberrations chromosomiques et un taux de 40% de biopsies testiculaires blanches en cas d'azoospermie non obstructive [28].

L'influence de la qualité du sperme sur les résultats de l'ICSI (concentration, mobilité et morphologie) a également été étudiée par certains auteurs. John L et al, dans une étude comparative entre FIV classique (182 patientes) et ICSI (71 patientes) réalisés chez des patientes âgées de moins de 37 ans, ont noté une meilleure qualité embryonnaire en FIV classique avec un taux significativement plus important d'embryons grade I et d'embryons non fragmentés. Dans cette étude, l'ICSI a été indiquée essentiellement pour des hypofertilités d'origine masculine. En étudiant ce groupe d'ICSI, ces auteurs n'ont pas noté d'influence de la variabilité de la qualité du sperme sur le taux d'embryons fragmentés [29]. Ces mêmes constatations ont été illustrés par Bar-Hava I et al [30]. Dans certaines études,

comme la notre, le taux de fécondation et de grossesses ne semble pas être affecté par la qualité du sperme en ICSI [31,32]. L'absence de corrélation directe entre la qualité du sperme et le pronostic de l'ICSI peut être expliquée, d'une part par le fait que cette technique est généralement réservée pour des patients ayant tous des altérations sévères du sperme, d'une autre part par le fait qu'il est exceptionnel de ne pas trouver un spermatozoïde de morphologie normale pour la micro-injection. Reste à démontrer si l'impact de l'ICSI sur la qualité embryonnaire est attribué à la micromanipulation des ovocytes ou à la mauvaise qualité du sperme ?

La technique d'ICSI constitue un essor efficace en cas d'infertilité masculine, mais tout en court-circuitant certains facteurs naturels limitants de la fécondation. Les débats actuels concernent les risques de transmission des anomalies chromosomiques, d'autant plus fréquemment observés que la production spermatique est faible (de 0,6% dans la population générale à 10% pour les hommes azoospermiques) [33]. Cette technique doit par conséquent être réservée pour des indications précises et ne doit pas être une solution de facilité.

## CONCLUSION

L'ICSI est actuellement le traitement de choix des couples ayant des altérations spermatiques extrêmes. Dans notre étude, l'âge des patientes et le nombre des embryons à 4 cellules transférés sont les principaux facteurs prédictifs du pronostic de l'ICSI. Les échecs d'implantation doivent en partie être considérés comme une sélection tardive d'embryons porteurs d'aneuploïdies ou d'aberrations chromosomiques, équivalente à une sélection naturelle si la fécondation avait été physiologique.

## Références

1-Palermo G.D, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem A. Pregnancies after intracytoplasmic sperm injection of a single spermatozoon into an oocyte. *Lancet*, 1992; 340:17-18.

2-Silber SJ, Van Steirteghem AC, Liu J, Nagy Z, Tournaye H, Devroey P. High fertilisation and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection with spermatozoa obtained from testicle biopsy. *Hum. reprod.*, 1995;10:148-52.

3-Moutel G, Hervé C, Tritto J, Boukaya V, Le Roux N. Injection intracytoplasmic de spermatozoïde (ICSI). Enjeux éthiques et évaluation. *Presse Med.*, 1996 ;25 :989-93.

4-Nygren K.G, Nyboe Andersen A. Assisted reproductive technologie in Europe, 1999. Results generated from European registers by ESHRE. *Hum. reprod.*, 2002;17:3260-74.

5-Sponderfer S, Avrech O, Colombero LT, Palermo G, Rosenwaks Z. Effect of parental age on fertilisation and pregnancy characteristics in couples treated by intracytoplasmic sperm injection. *Hum. reprod.*, 1998;13:334-8.

6-Oehninger S, Veeck L, Lanzendorf S, Maloney M, Toner J, Muasher S. Intracytoplasmic sperm injection: achievement of high pregnancy rates in couples with severe male factor infertility is dependent primarily upon female and not male factors. *Fertil. Steril.*, 1995;64:977-81.

7-Devroey P, Godoy H, Smitz J, Camus M, Tournaye H, Derde MP, Van Steirteghem A. Female age predicts embryonic implantation after

ICSI: a case controlled study. *Hum. Reprod.* 1996; 11:1324-7.

8- Craft I, Ah-Moye M, Al-Shawaf T, Fiamanya W, Lewis P, Robertson D, Serhal P, Shrivastav P, Simons E, Brinsden P. Analysis of 1071 GIFT procedures – the case of for a flexible approach to treatment. *Lancet*, 1988; 1094-7.

9-Grifo J, Rosenwaks Z, Cohen J, Munné S. Implantation failure of morphologically normal embryos is due largely to aneuploidy. In Abstract Book of the American fertility Society 1994, Abstr.O-003.

10-Mandelbaum J, Antoine J.M, Plachot M, Belaisch-Allart, Salat-Baroux J. Y-a-t-il des indications féminines d'ICSI. *Contracept. Fertil.*, 1997 ;25 :607-10.

11-Alikani A, Palermo G, Adler A, Bertoli M, Blake M, Cohen J. Intracytoplasmic sperm injection in dysmorphic human oocytes. *Zygote* 1995; 3:283-8.

12-De Sutter P, Dizortsev D, Quian C, Dhont M. Oocyte morphology does not correlate with fertilisation rate and embryo quality after intracytoplasmic sperm injection. *Hum. Reprod.*, 1996;3:595-7.

13-Van Blerkom J, Henry G. Oocyte dysmorphism and aneuploidy in meiotically mature oocytes after ovarian stimulation. *Hum. Reprod.*, 1992;7:379-90.

14-Saias-Magnan J, Mendizabal H, Guichaoua M.R, Carles F, Grillo G.M, Luciani J.M. Aspect morphologique des embryons obtenus après une fécondation in vitro pour indication masculine ou ICSI. *Gynécol. Obstét. Fertil.*, 2000 ;28 :896-903.

15- Hsu MI, Mayer J, Aronshon M, Lanzendorf S, Muasher S, Kolm P, Oehninger S. Embryo implantation in in vitro fertilisation and intracytoplasmic sperm injection: impact of cleavage status, morphology grade, and number of embryos transferred. *Fertil. Steril.*, 1999;72:679-85.

16-Shen S, Khabani A, Klein N, Battaglia D. Statistical analysis of factors affecting fertilization rates and clinical outcome associated with intracytoplasmic sperm injection. *Fertil.Steril.*,2003;79:355-60.

17-Kupka MS, Dorn C, Richter O, Felberbaum R, Van der Ven H. Impact of reproductive history on in vitro fertilisation and intracytoplasmic sperm injection outcome: evidence from the German IVF Registry. *Fertil. Steril.*, 2003;80:508-16.

18-Templeton A, Morris JK, Parslow W. Factors that affect outcome of in vitro fertilisation treatment. *Lancet* 1996;348:1402-6.

19-Eimers JM, Te Velde ER, Gerritse R, Vogelzang ET, Looman CW, Habbema JD. The prediction of the chance to conceive in subfertile couples. *Fertil. Steril.*, 1994;61:44-52.

20-Craft I, Bennet V, Nicholson N. Fertilising ability of testicular spermatozoa. *Lancet* 1993; 342:864.

21-Bukulmez O, Yucel A, Yarali H, Bildirici I, Gurgan T. The origin of spermatozoa does not affect intracytoplasmic sperm injection outcome. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 2001; 94:250-5.

22-Mansour R.T, Kamal A, Fahmy I, Tawab N, Serour G.I, Aboulghar M.A. Intracytoplasmic sperm injection in obstructive and non obstructive azoospermia. *Hum. Reprod.*, 1997;12:1974-9.

23-Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI, Fahmy I, Kamal A, Tawab NA, Amin YM. Fertilisation and pregnancy rates after intracytoplasmic sperm injection using ejaculate semen and surgically retrieved sperm. *Fertil. Steril.*, 1997;68:108-11.

24-Kahraman S, Ozgur S, Alatas C, Aksoy S, Tasdemir M, Nuhoglu A, Tasdemir I, Balaban B, Biberoglu K, Schoysman R, Nijs M, Vanderzwalmen P. Fertility with testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in non-obstructive azoospermic men. *Hum. Reprod.*, 1996;11:756-60.

25-Balaban B, Urman B, Sertac A, Alatas C, Aksoy S, Mercan R, Nuhoglu A. In vitro culture of spermatozoa induces motility and increases implantation and pregnancy rates after testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection. *Hum. Reprod.*, 1999;14:2808-11.

- 26-Hu Y, Maxson WS, Hoffman DI, Ory SJ, Licht MR, Eager S. Clinical application of intracytoplasmic sperm injection using in vitro cultured testicular spermatozoa obtained the day before egg retrieval. *Fertile. Steril.* 1999; 72:666-9.
- 27-Vogt PH. Genetic aspects of Human infertility. *Int. J. Androl.*, 1995; 18:3-6.
- 28-Palermo GD, Schlegel PN, Hariprashad JJ, Ergun B, Mielnik A, Zaninovic N, Veeck LL, Rosenwaks Z. Fertilisation and pregnancy outcome with intracytoplasmic sperm injection for azoospermic men. *Hum. Reprod.*, 1999;14:741-8.
- 29-Frattarelli JL, Leondires MP, Miller BT, Segars JH. Intracytoplasmic sperm injection increases embryo fragmentation without affecting clinical outcome. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2000; 17:207-12.
- 30-Bar-Hava I, Ashkenazi J, Shelef M, Schwartz A, Brengauz M, Feldberg D, Orvieto R, Ben-Rafael Z. Morphology and clinical outcomes of embryos after in vitro fertilisation are superior to those after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil. Steril.*, 1997;68:653-7.
- 31-Parinaud J, Mieusset R, Vieitez G, Labal B, Rochoilly G. Influence of sperm parameters on embryo quality. *Fertil. Steril.*, 1993;60:888-92.
- 32-Ron-el R, Nachum H, Herman A, Golan A, Caspi E, Soffer Y. Delayed fertilization and poor embryonic development associated with impaired semen quality. *Fertil. Steril.*, 1991;55:338-44.
- 33-Véronique G. Icsi : le comité d'éthique en appelle au principe de précaution. *Presse Med.* 2003 ; 32 :531-2.