

## Il y a vingt ans, naissait Louise Brown.

**Cette naissance fit l'effet d'une bombe : pour la première fois, un enfant était conçu hors du milieu naturel, hors du ventre de sa mère. Pas encore dans un chou, certes, mais tout de même, dans une éprouvette... "Ce bébé venu d'ailleurs", n'hésita pas à titrer *Le Point*. Pourtant, le bébé venait bel et bien de ses parents et allait redonner l'espoir à des milliers de couples infertiles. "Le bébé éprouvette anglais risque de rester longtemps un cas unique", expliquait *Le Figaro*. La presse décidément refusait de croire à l'inimaginable. Or, pour la seule année 1996, en France, plus de 32 000 tentatives de fécondations *in vitro* (FIV) ont été tentées. Et chaque année, ce sont quelque 7 000 enfants qui naissent dans notre pays grâce aux techniques d'assistance médicale à la procréation (AMP). Il y a tout juste quatre ans, l'AMP connaissait une seconde révolution avec la première micro-injection de spermatozoïde. Grâce à cette technique, il suffit d'un seul et unique spermatozoïde pour concevoir un enfant et l'on peut désormais, après la stérilité féminine, apporter une réponse aux stérilités d'origine masculine.**

Si l'affaire, sur le moment, fit moins de bruit, elle constitue pourtant un exploit scientifique au moins aussi étonnant que la première Fivete. On ne se contente plus de reproduire *in vitro* la fécondation telle qu'elle se déroule naturellement. On force le passage en injectant directement le spermatozoïde au cœur de l'ovule. Aujourd'hui, 35 % des FIV sont tentées par micro-injection.

La réussite d'une fécondation *in vitro* reste pourtant, chaque fois, un exploit. Car il ne suffit pas de placer un spermatozoïde en contact d'un ovule dans une "éprouvette" (qui se trouve être en fait une boîte de Pétri) pour concevoir un enfant. D'ailleurs, même en fécondation naturelle, le processus est éminemment complexe. Combien d'ovocytes immatures, de spermatozoïdes peu mobiles ou mal formés, d'embryons imparfaits, fragmentés, avant d'aboutir à une fécondation ? Combien de spermatozoïdes n'arriveront pas à temps à la rencontre de l'ovule ?

Médecins et biologistes poursuivent donc avec acharnement leurs recherches, pour améliorer les

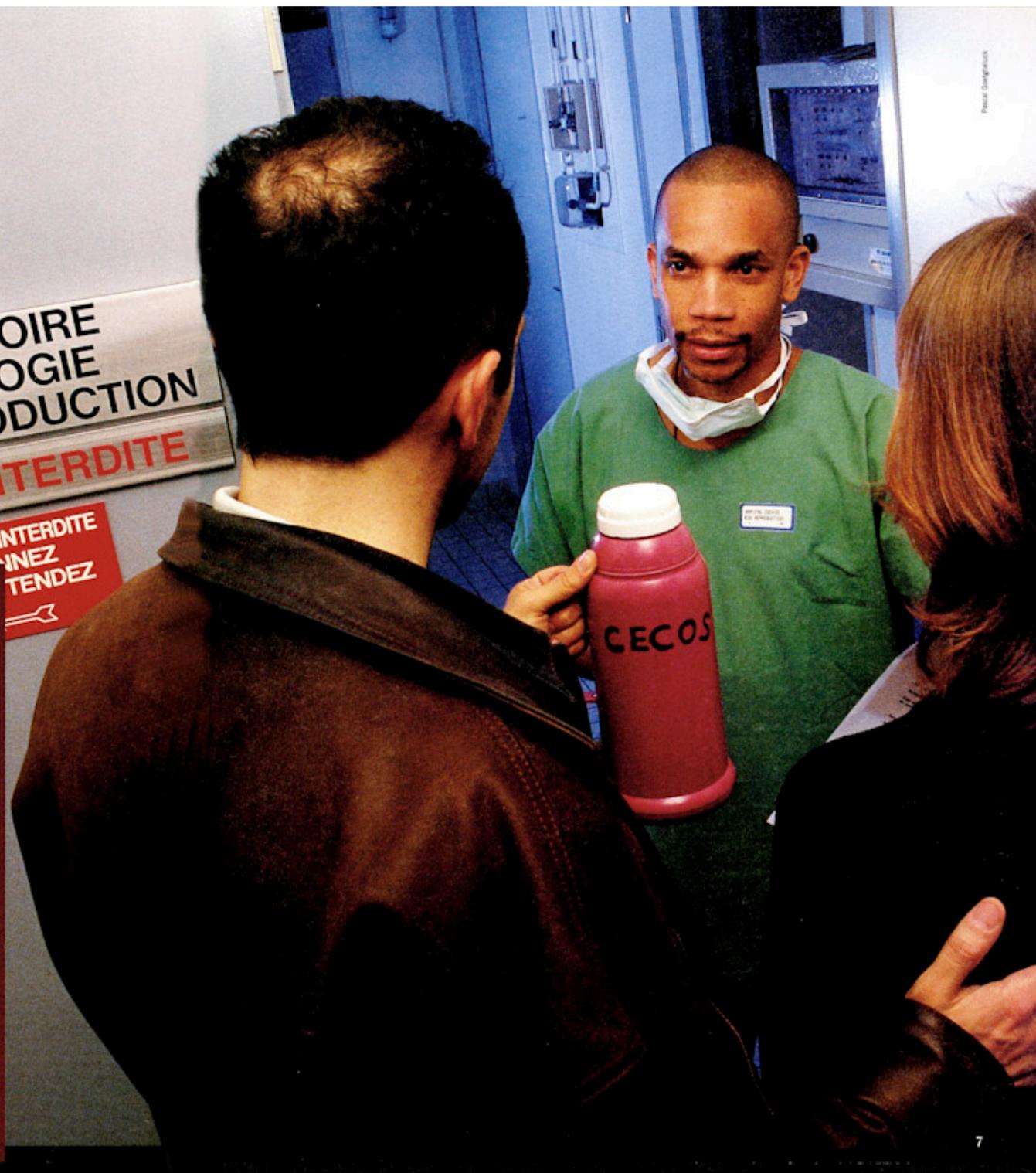
LABORATOIRE  
de BIOLOGIE  
de la REPRODUCTION  
ENTREE INTERDITE

ENTREE INTERDITE  
NE VENEZ  
PAS TENDEZ

résultats de l'assistance médicale à la procréation. La demande est forte. Certains couples tentent plus de dix FIV afin de mettre au monde un enfant. Malgré la difficulté du parcours, malgré les douleurs à la fois psychologiques et physiques, les médecins se trouvent souvent acculés à réussir, du moins à tout tenter, pour répondre au désir d'enfant. A l'heure où des biologistes s'interrogent sur les risques potentiels liés à la généralisation d'une technique comme la micro-injection, la révision, l'an prochain, de la loi de bioéthique, devrait relancer le débat. Comment à la fois améliorer les résultats de la FIV et refuser d'effectuer des recherches sur l'embryon ? Que faire des embryons surnuméraires conservés aujourd'hui dans les laboratoires ? *Eurêka* vous invite à voyager au cœur des "fabriques de bébés" (1), naturelles ou... artificielles. Des photos exclusives vous permettront d'assister "en direct" au choix des "bons" spermatozoïdes ou d'observer le déroulement d'une congélation d'embryon. Et ainsi de mieux comprendre dans quelle mesure l'homme peut, ou non, maîtriser le hasard de la fécondation.

Marina Julienne

(1) l'expression est du biologiste Jacques Testart.



# Les trois premiers jours d'un bébé éprouvette

REPORTAGE

Trois jours : c'est le temps nécessaire pour réaliser les différentes étapes de la fécondation *in vitro* et le transfert d'embryon (fivete) proprement dit. Du conditionnement des ovocytes et des spermatozoïdes jusqu'à l'examen des embryons et leur éventuel transfert ou leur congélation, nous avons suivi l'équipe du laboratoire de fécondation *in vitro* de l'hôpital Cochin, à Paris, dirigé par le professeur Pierre Jouannet. Une équipe qui réalise environ 1 200 FIV par an.

Laboratoire de biologie de la reproduction. Entrée interdite. Sonnez et attendez que l'on vous ouvre". C'est derrière cette porte, située à l'extrémité d'un couloir du pavillon Baudelocque, que se trouve l'une des quatre-vingt quinze "fabriques de bébés" – selon une expression utilisée par le professeur Jacques Testart – existantes en France. Aujourd'hui, entre 8 heures et 16 heures, une dizaine de fécondations seront effectuées, dont environ 20 % se traduiront par la naissance d'un enfant. Le centre de fécondation *in vitro*, qui compte une quinzaine de personnes, est ouvert sept jours sur sept. Il est 8 heures. Dès leur arrivée, la première préoccupation des techniciens est d'aller observer les embryons. C'est ainsi que pourra être précisée, lors de la réunion de toute l'équipe, à 8h30, le nombre d'embryons à transférer. Nadège Grolleau, René Rose, Jérôme Terribile, Colette Brenez et Anne Lievin, tous techniciens de laboratoire, se répartissent les tâches. Selon les informations inscrites sur le tableau, la journée sera chargée : on attend aujourd'hui sept ponctions d'ovocytes suivies de sept FIV, dont trois par micro-injection, trois décongélations, six congélations et onze transferts d'embryons. René

s'occupera des spermatozoïdes, Nadège et Jérôme des ovocytes, de la congélation et de la décongélation des embryons et Colette sera à la micro-injection. Les gynécologues eux aussi prennent leur poste : ils assurement les ponctions ovocytaires et les transferts d'embryons. 9 heures : les premiers patients arrivent. Monsieur M. vient de traverser tout l'hôpital, une bouteille Thermos à la main. D'un air malicieux, il soulève le bouchon... Les vapeurs qui émanent de la bouteille ne proviennent pas d'un café brûlant, mais de l'azote liquide dans lequel baignent, depuis trois ans, des embryons congelés lors d'une première FIV. Un couple se fait aussi discret que possible pour entrer dans la cabine de recueil du sperme. Ce n'est pas toujours le cas, mais aujourd'hui la femme aidera son mari pour favoriser l'éjaculation de la précieuse substance blanche qui s'obtient par masturbation. Des revues à caractère pornographique sont censées apporter un peu d'érotisme à un lieu qui, il faut bien le reconnaître, est totalement dépourvu de charme. "Les locaux sont un peu anciens, ils n'ont pas été prévus à l'origine pour cet usage", s'excuse un des techniciens du laboratoire. ●●●

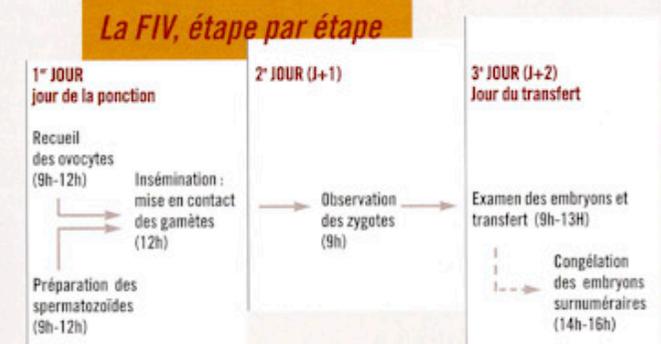
## fécondation artificielle

Eurêka vous invite à suivre l'aventure de la conception d'un enfant avec l'équipe du centre de fécondation *in vitro* Cochin-Port Royal. Des photos inédites vous feront découvrir les premières heures d'un bébé-éprouvette. Le côté parfois artisanal des manipulations démystifiera sans doute l'image que chacun peut avoir des bébés conçus par la Science avec un grand S. La fécondation *in vitro* reste une technique lourde et hasardeuse. Les femmes sont astreintes à des traitements douloureux, dont l'efficacité n'est jamais garantie. Les couples doivent résoudre, en cas

de dons de gamètes, les questions liées à l'anonymat et, malgré la médicalisation de la procédure, ne pas oublier que l'enfant à naître sera bien le leur. Les médecins, eux, doivent concilier technique et psychologie, donner espoir sans faire miroiter de faux espoirs. Le constat devrait finalement rassurer ceux qui redoutaient, avec l'AMP, l'ère de "l'enfant parfait quand je veux" : dans ces hauts lieux de technique médicale, la vie n'a rien perdu de sa complexité. Marina Julienne

Reportage photo : Pascal Goetgheluck. Conseil scientifique : professeur Pierre Jouannet, docteur Hervé Lucas et docteur Catherine Poirot (Centre de FIV Cochin Port-Royal).

3



Source du tableau : Les médecines de procréation, par Claude Humeau et Françoise Arnal, Ed O. Jacob, 1994, P. 114.

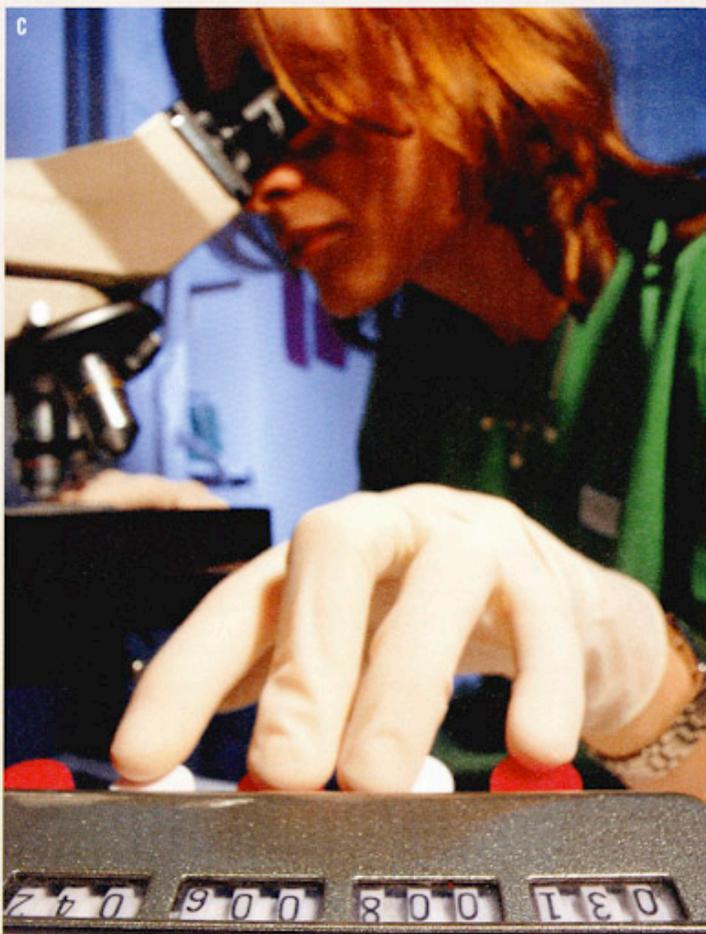
## 1. PRÉPARATION DU SPERME

Sitôt recueillis, les éjaculats sont placés dans une étuve à 37°C pendant une demi-heure environ, temps nécessaire à leur liquéfaction. *"La préparation du sperme vise à débarrasser les spermatozoïdes du liquide séminal (qui les empêche de développer trop précocement leur pouvoir fécondant) et à concentrer les plus mobiles, c'est-à-dire les plus potentiellement féconds",* explique Catherine Patrat, praticien hospitalier dans le service de biologie de la reproduction. L'une des techniques utilisées est la migration des spermatozoïdes à travers un gradient (solution) de macromolécules. Les tubes contenant le gradient sur lequel a été déposé le sperme sont placés dans une centrifugeuse **photo A**, qui tourne durant vingt minutes à 300 G (l'unité de mesure de la vitesse de rotation), ce qui permet de séparer les spermatozoïdes du liquide séminal, mais aussi de concentrer les spermatozoïdes les plus mobiles qui traversent le gradient pour se retrouver au fond du tube sous forme d'un culot cellulaire **photo B**. Reste à les récupérer. *"D'après ce que je vois là, il n'y a pas grand monde, commente René. Quand les spermatozoïdes sont nombreux, on s'en rend compte à l'œil nu : il se forme un dépôt blanchâtre au fond du tube."* Une fois sélectionnés, les spermatozoïdes retrouvent la centrifugeuse. Il n'y a plus rien, cette fois, que dix minutes, mais tournent à 600 G pour concentrer les spermatozoïdes mobiles dans un volume plus réduit. Puis René procède à une série de contrôles de la suspension pour évaluer la concentration en spermatozoïdes et le pourcentage de spermatozoïdes mobiles. Leur nombre est calculé après dilution d'une très faible partie de la préparation avec une solution les immobilisant. Une goutte de



PREMIER JOUR | 9H-12H

cette dilution est placée dans une cellule de comptage quadrillée, et le compte est fait manuellement grâce à un compteur mécanique **photo C**. Selon la mobilité des spermatozoïdes, sont classés en "a" ceux qui se déplacent vite et en ligne droite ; en "b" ceux qui se déplacent de manière peu efficace, en zigzaguant ; en "c" ceux qui font du surplace et en "d" ceux qui ne bougent pas. Sur le dossier du patient, René re-



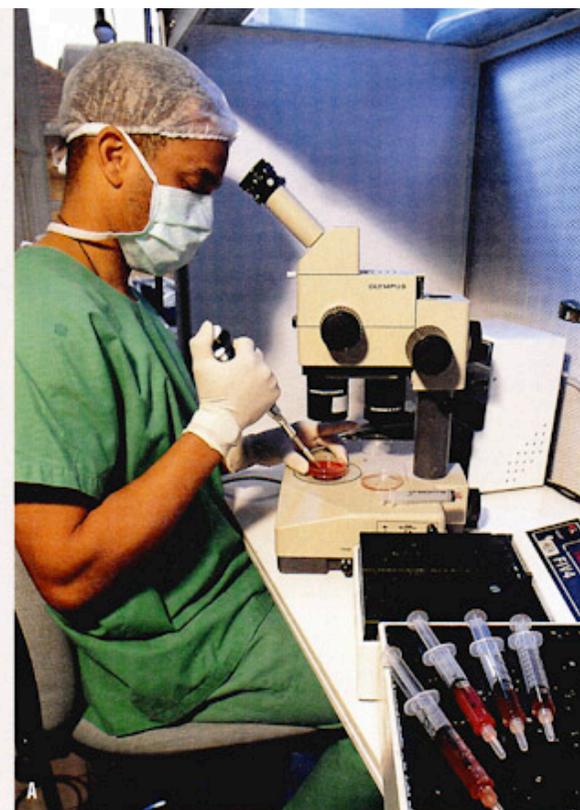
ARRIÈRES LENTS SUR PLACE IMMOBIL.

## 2. RECUEIL ET PRÉPARATION DES OVOCYTES

PREMIER JOUR | 9H-12H

Pendant ce temps, Nadège s'occupe des gamètes féminins. Un patient vient de lui confier une large boîte isotherme. A l'intérieur, une dizaine de grosses seringues sont protégées par une pochette plastique hermétique qui baigne elle-même dans un fond d'eau à 37°C : un thermomètre en témoigne **photo B**. *"Les seringues contiennent le liquide folliculaire qui a été prélevé dans les ovaires (1) d'une femme suivie à l'hôpital Saint-Vincent-de-Paul, explique Nadège. C'est au mari qu'il revient de traverser le boulevard qui sépare notre établissement de Saint-Vincent pour nous les apporter. Généralement, les patients sont très émus. Transporter ces seringues ou des embryons congelés, pour eux, c'est comme de tenir un trésor."* L'isolement des ovocytes contenus dans le liquide folliculaire doit se faire le plus rapidement possible **photo A**. Le liquide, d'une teinte plus ou moins rose, brune ou rouge, est versé petit à petit dans une boîte de Pétri. *"On repère les complexes cumulo-ovocytaires à l'œil nu, explique Antoine Kerjean, interne dans le service de biologie. Ils forment une tâche nacrée qui peut difficilement nous échapper."* Vu de l'extérieur, l'activité d'isolement des ovocytes n'est pas loin de ressembler à la pêche à la ligne. Sur les dix seringues, Antoine isolera cette fois-ci seize ovocytes. Bonne pêche !

(1) La ponction ovarienne du liquide folliculaire se déroule généralement sous contrôle échographique et sous anesthésie légère.

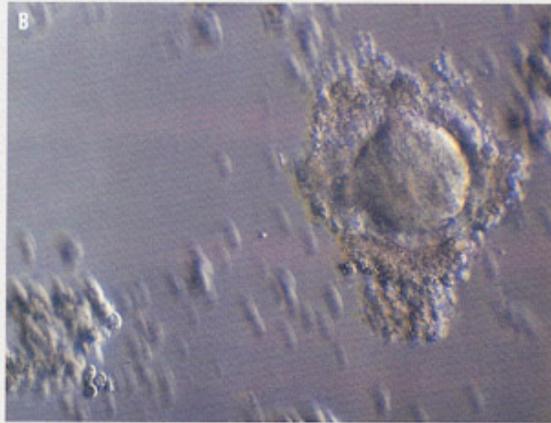


## 3. L'INSÉMINATION

PREMIER JOUR | 12H

Dans le cas d'une FIV classique, on

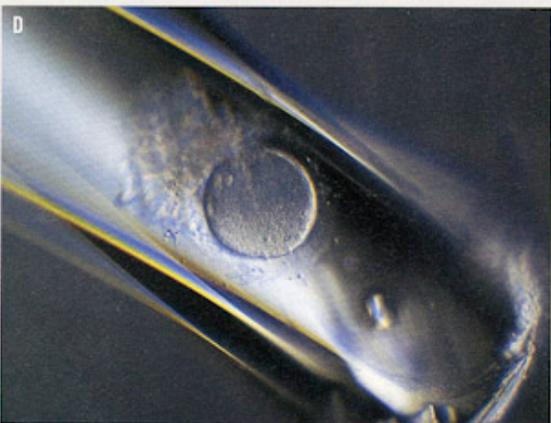
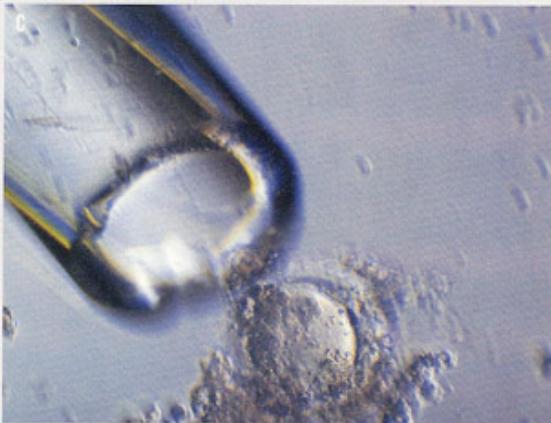
procède alors à la mise en contact des spermatozoïdes avec les ovocytes. C'est l'insémination. Chaque ovocyte entouré des cellules du cumulus est placé dans une microgoutte de milieu de culture, dans une boîte de Pétri. Pour chaque ovocyte, on dépose quelques microlitres contenant environ dix mille spermatozoïdes. Ils sont alors mis en culture dans un incubateur, à 37°C. Dix-huit à vingt heures après l'insémination, on pourra observer combien d'ovocytes ont été fécondés.



## 4.

### DÉCORONISATION DES OVOCYTES

**PREMIER JOUR | 11H** Dans le cas d'une fécondation par micro-injection (voir page 56), l'ovocyte devra d'abord être débarrassé des cellules folliculaires qui l'entourent. C'est cette opération de "décoronisation" que Colette s'apprête à réaliser. Encore une fois, le travail du technicien paraît bien artisanal. Sous la loupe binoculaire, Colette a placé la dizaine d'ovocytes qu'elle doit décoroniser. Elle y dépose une solution enzymatique qui va commencer le travail de dispersion des cellules folliculaires. Mais c'est insuffisant. Entre ses lèvres, Colette place une pipette montée sur un tuyau grâce à laquelle elle va pouvoir, par un jeu subtil d'aspiration et de refoulement de l'ovocyte, dégager celui-ci des cellules folliculaires **photos A, B, C, et D**. "L'intérêt de cette manipulation est triple, explique Hervé Lucas, co-responsable du laboratoire avec Catherine Poirot : distinguer les ovocytes matures qui présentent un globule polaire, rendre possible l'injection du spermatozoïde sans barrière à celle-ci, dénuder l'ovocyte de ces cellules pour le rendre "manipulable" sans risque que les cellules bouchent les pipettes." Même en cas de FIV classique, on procède à cette décoronisation dix-sept heures après l'insémination pour observer les signes de la fécondation (présence de deux pro-noyaux) et les anomalies éventuelles.



## 5. L'ICSI

#### Préparation de la micro-injection

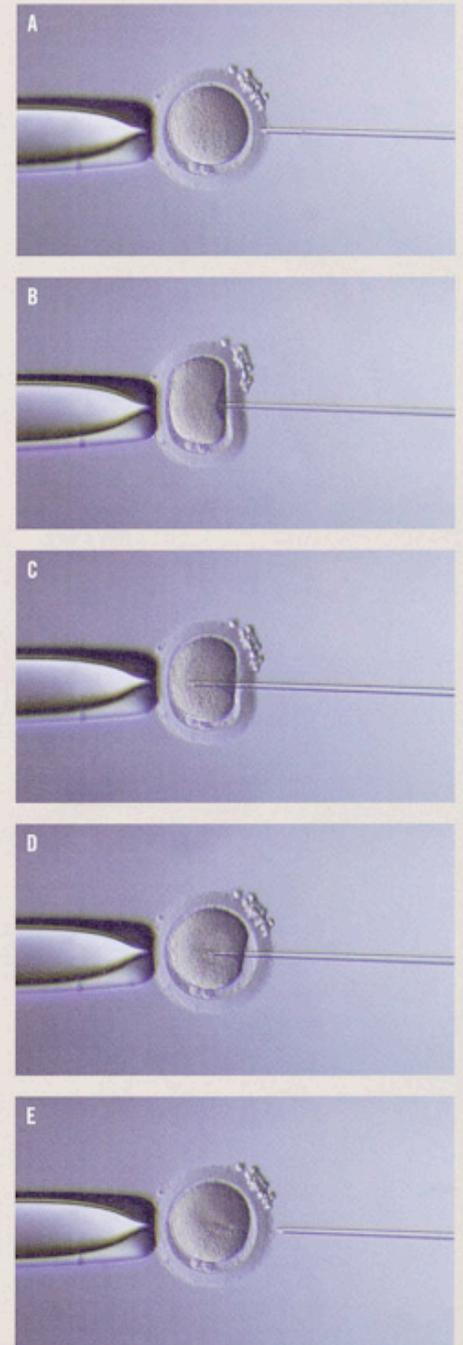
**PREMIER JOUR | 10H - 11H** Il est 10 h 30. Jérôme prend sa place devant le microscope sous lequel va être réalisée la micro-injection. Dans la petite boîte de Pétri, sur la gauche, se trouvent quatre gouttes, numérotées de 1 à 4, destinées à recevoir les ovocytes. En haut, quatre gouttes visqueuses, de forme ovale, dans lesquelles ont été déposés les spermatozoïdes. Cette solution ralentit leur mouvement : le technicien pourra les saisir plus facilement. Comme pour un jeu vidéo, Jérôme dispose de deux micromanipulateurs reliés à des manettes lui permettant d'actionner deux pipettes en verre : à sa main gauche, la pipette de contention qui maintient l'ovocyte, et à sa main droite, la pipette de micro-injection qui contient le spermatozoïde **photo A**. La pipette de contention, légèrement incurvée à son extrémité,

est reliée à une seringue contenant de l'huile. Quand Jérôme pousse sur la seringue, le niveau d'huile repousse l'ovocyte. À l'extrémité de la pipette de micro-injection, une petite pointe permet de transpercer la membrane élastique de l'ovocyte.

La synchronisation des gestes est essentielle. Jouant des manettes et des seringues, Jérôme termine la phase de réglage. "Elle permet de bien caler l'ovocyte en face du spermatozoïde, et de placer le globule polaire de l'ovocyte "à midi" ou "à six heures", afin que la pointe de la pipette, lors de l'injection du spermatozoïde, ne détériore pas le fuseau (1) situé à l'intérieur de l'ovocyte, en regard du premier globule polaire", explique Hervé Lucas.

(1) Ce fuseau est une sorte de rail protéique qui a pour fonction de guider les chromosomes.





### L'injection

**PREMIER JOUR | 12H00** Reste à injecter le spermatozoïde à l'intérieur du cytoplasme ovocytaire.

Jérôme introduit la pipette au sein de l'ovocyte **photo A et B**. Il aspire très légèrement en tirant sur la seringue : la membrane plasmique s'invagine dans la pipette **photo C**. Encore une légère pression sur la seringue pour repousser le spermatozoïde. Cette fois-ci, ça y est : le spermatozoïde est bien entré au centre de l'ovocyte **photo D**. Durant quelques secondes, l'ovocyte garde une empreinte **photo E**, infime cicatrice laissée par la pointe de la pipette qui disparaîtra très vite. Mais il arrive que certains ovocytes, plus fragiles, ne supportent pas l'icisi. Pour ce couple, Jérôme ne disposait que de deux ovocytes à féconder. "Mais, sachant que le pourcentage de réussite en micro-injection est de 60 % en moyenne, même avec seulement deux ovocytes, je devrais avoir un embryon demain."

Les ovocytes sont placés dans un incubateur où ils seront conservés à 37°C sous air CO<sub>2</sub> jusqu'au transfert embryonnaire si la fécondation a réussi.

## 5. L'ICSI (suite)

### La capture du spermatozoïde

**PREMIER JOUR | 12H00** Jérôme observe les spermatozoïdes qui, animés d'un curieux instinct grégaire, nagent vers la périphérie de la goutte. Les immobiles, eux, restent au centre. "Quand les spermatozoïdes sont peu nombreux, nous leur tendons un piège **photo A**. Nous savons que, lorsqu'une goutte n'est pas parfaitement ronde, ils auront tendance à se nicher dans le creux. Nous les attendons là." Jérôme se place "en bord de goutte" **photo B** pour choisir le "bon" spermatozoïde : celui-ci n'avance pas assez vite, celui-

là dispose de deux flagelles, un troisième a la tête anormalement grosse. Finalement, Jérôme se décide et assène avec sa pipette un coup **photo C** sur le flagelle d'un spermatozoïde bien mobile et morphologiquement normal afin de l'immobiliser. Il n'y a plus qu'à l'aspirer par la queue **photo D**. "Ce qui est impressionnant, c'est que, selon le spermatozoïde que je choisis, ce seront des personnes différentes qui naîtront, explique Jérôme. Même après quatre ans d'exercice, c'est toujours un moment magique."

## 6. OBSERVATION DES SIGNES DE FÉCONDATION

**DEUXIÈME JOUR | 9H00** René examine au microscope les ovocytes inséminés la veille. Dans le cas d'une FIV, les signes de la fécondation sont observés dix-huit à vingt heures après l'insémination. Dans le cas d'une Icsi, ce délai est ramené à seize heures (car le spermatozoïde n'a pas perdu de temps à traverser la zone pellucide). Si la fécondation a bien eu lieu, deux noyaux apparaissent, un mâle (issu de la tête du spermatozoïde) et un femelle (issu de l'ovocyte). Ces deux pronuclei (c'est le terme consacré) se sont accolés l'un à l'autre **photo A**, permet-

tant l'association des chromosomes mâles et femelles. "Ça commence mal, commente René, je ne vois aucun signe de fécondation sur ces premiers ovocytes. Ah non, en voilà deux bons, avec leurs deux pro-noyaux et leur globe polaire." La fécondation a bien eu lieu. "L'apparition des pronuclei ne dure que quelques heures. On peut les rater, explique René. Nous ne sommes vraiment certains de la présence d'un embryon que le surlendemain de l'insémination, à J + 2." Les ovocytes sont donc replacés dans un incubateur à 37 °C pour être à nouveau examinés 24 heures plus tard.



## 7. EXAMEN DES EMBRYONS

Nadège peut se consacrer à l'examen des embryons et dresser un "score de qualité embryonnaire". Ce score dépend à la fois du nombre de cellules et de la présence de fragments cytoplasmiques entre les cellules. A J + 2, l'embryon atteint habituellement le stade de quatre cellules, appelées blastomères. Il peut parfois n'en avoir que trois ou, au contraire, déjà cinq.

Par ailleurs, les embryons sont plus ou moins fragmentés. Sont notés "A" les embryons sans fragment **photo A**, "B" ceux qui en présentent de 1 à 20 % **photo B**, "C" les 21 à 50 % **photo C** et "D" les embryons fragmentés à plus de 50 % **photo D**. "Nous transférons de préférence les types A au stade de quatre cellules, explique Nadège. Les autres A et B sont congelés, mais les C et D ne résistent pas au processus de congélation/décongélation. Pour ce couple par exemple, sur onze embryons, j'ai deux 4-A (quatre cellules sans fragment), un 5-C, quatre 4-B, deux 2-B et deux 4-D. Nous allons donc transférer les deux 4-A et un des 4-B, laisser de côté les deux 4-D et le 5-C et congeler les 5 autres."



## 8. LE TRANSFERT DES EMBRYONS

Il est 11 heures. L'heure de pointe. Il reste deux ponctions ovocytaires à faire, tandis que les premières patientes venues pour un transfert embryonnaire sont arrivées. Un gynécologue pousse la porte. Il demande les embryons de Nadine X. Cette patiente a déjà eu un premier enfant par FIV, il y a trois ans. Les embryons qu'elle avait gardés à l'époque dans la perspective d'une seconde tentative ont-ils été décongelés (voir page 45) et peuvent-ils être transférés ? La réponse est oui. Il ne reste plus qu'à les rincer avant de les introduire dans un fin tube en plastique, appelé cathéter. Le transfert embryonnaire sera réalisé par un gynécologue. La manipulation est tout à fait indolore pour la femme : le cathéter est adapté à une seringue. Son extrémité est introduite par le col de la cavité utérine et la goutte contenant les embryons y est poussée par simple pression sur le piston de la seringue.

## La congélation des spermatozoïdes

Certains couples peuvent avoir recours à un don de spermatozoïdes en cas de stérilité masculine grave ou de risque de transmission de maladie génétique. En France, les Cecos (centres d'étude et de conservation des œufs et du sperme humain) gèrent la congélation du sperme. "Les donneurs sont anonymes, bénévoles, doivent vivre en couple, avoir au moins un enfant, et disposer de l'accord de leur conjoint : c'est le don d'un couple à un autre couple, explique Jean-Marie Kunstmann, médecin responsable au Cecos Paris-Cochin. Ils ne sont pas assez nombreux, d'où un délai d'attente pour bénéficier d'un don de sperme supérieur à un an !". Différents examens permettent de s'assurer que le donneur est indemne de toute maladie génétique et virale. La congélation de son sperme se déroule alors selon le même principe (mais pas tout à fait selon les mêmes modalités) que celle des embryons. On ajoute au sperme un cryoprotecteur, puis on le stocke dans des paillettes que l'on conserve à -196°C dans l'azote liquide. Lors de l'insémination, le contenu de la paillette est transféré dans le col utérin ou même dans l'utérus. L'IAD (insémination artificielle avec donneur) peut être répétée d'un mois sur l'autre plusieurs fois. On compte 10 % à 15 % de succès par tentative, et 80 % de succès au bout d'un an si l'on cumule régulièrement les tentatives. Afin d'éviter le risque de consanguinité, le nombre d'enfants vivants issus d'un même donneur est limité à cinq. L'activité d'IAD est en baisse grâce aux nouvelles techniques de micro-injection qui permettent de pallier de graves infertilités masculines. Mais les Cecos pratiquent aussi la congélation de sperme à titre préventif dans toutes les situations où l'on peut craindre une atteinte définitive de la spermatogénèse : c'est le cas, par exemple, des hommes souffrant d'un cancer et bénéficiant de traitements (radiothérapie ou chimiothérapie) qui risquent de les rendre stériles.

Paillettes de spermatozoïdes congelés dans un bocal d'azote.

## 9. PRÉPARATION DE LA CONGÉLATION DES EMBRYONS

La fin de la matinée approche et il reste "six couples à congeler", ce qui représente, cette fois-ci, un total de trente-deux embryons. René et Nadège vont unir leurs forces et s'occuper de trois couples chacun. "Les cellules embryonnaires sont constituées essentiellement d'eau qui se cristallise sous l'effet du refroidissement, explique Catherine Poirot. Ces cristaux peuvent créer des dommages irréversibles, notamment aux membranes cellulaires." La technique de congélation consiste donc, grâce à des solutions contenant des substances cryoprotectrices, à réduire la formation des cristaux et donc les traumatismes membranaires. Nadège prépare ainsi deux solutions de congélation qui contribuent à une déshydratation partielle des cellules. L'embryon reste vingt minutes dans la première solution. Puis il passe dans un second bain, environ un quart d'heure. Pendant ce temps, René et Nadège préparent les paillettes. Minutieusement, ils y inscrivent à la main le nom de la patiente, la date de la congélation, le nombre d'embryons placés dans chaque paillette. "La satisfaction est là. Quand une femme est enceinte, on est heureux, expliquent René et Nadège. Mais il vaut mieux ne pas trop penser au fait que nous manipulons des embryons, sinon on stresse. Ces quelques cellules ont une valeur inestimable."

## 10. CONGÉLATION DES EMBRYONS

A l'aide d'un "aspire embryons", ces derniers sont insérés dans une paillette placée dans un congélateur automatique qui assurera une descente précise en température des embryons. La température de la cuve passe d'abord de 20°C à -7°C, stade auquel René procède au "seeding" : "Nous appliquons, durant une seconde, un fer refroidi à -196°C sur la paillette pour initier la cristallisation des embryons." Puis les embryons, baignant dans les vapeurs d'azote, vont passer très doucement (en une heure et demie environ) de -7°C à -150°C. Pendant ce temps, les techniciens vont déjeuner. Ce n'est que lorsque la température des paillettes sera descendue à -150°C qu'ils les plongeront dans l'azote, liquide cette fois, à -196°C. Les embryons peuvent alors y dormir quelques siècles en toute sécurité... A la fin du cycle de congélation, les bonbonnes d'azote contenant ces paillettes sont acheminées vers le Cecos Paris-Cochin qui assure leur conservation. Il est 16 heures, les techniciens enlèvent leur blouse. Dans le couloir, Nadège rencontre un gynécologue. "Tu sais que Mme D. est enceinte de son deuxième enfant ? Décidément Nadège, tu as la main verte !". Marina Julienne



Nous remercions Sidi El Matribi, Françoise Raques et Cynthia Le Bon pour leur collaboration.

## La décongélation des embryons

Il suffit de quelques secondes pour décongeler des embryons, en les plaçant dans un incubateur à 37°C. Ils sont ensuite transférés dans différents bains contenant des

solutions permettant de retirer les cryoprotecteurs des cellules et donc de les réhydrater. Ils seront réimplantés quelque 24 heures après la

décongélation, le temps de vérifier qu'ils ont bien "récupéré" de leur séjour au froid. 50 à 60 % des embryons peuvent être réimplantés, 40 à 50 % pouvant avoir été détériorés lors du processus de congélation/décongélation.

# PREVENTION Dépister les maladies génétiques

Le diagnostic préimplantatoire (DPI) est désormais possible en France. Il représente un réel espoir pour les couples porteurs de maladies génétiques.

Nos familles vivent des drames d'autant plus intolérables qu'ils auraient pu être depuis longtemps évités. Quand une femme porteuse du gène de la myopathie réalise pour la troisième fois une interruption médicale de grossesse (IMG), sa détresse est absolue. Ce discours volontaire est tenu par Bernard Barataud, président de l'Association française contre les myopathies (AFM). Raison de sa colère ? La trop longue attente imposée aux couples demandeurs d'une technique de diagnostic précoce des maladies génétiques, le diagnostic préimplantatoire (DPI). Prévu par la loi de bioéthique du 29 juillet 1994 n° 94654, ce n'est qu'au *Journal officiel* du 27 mars dernier qu'est paru le décret d'application fixant les modalités pratiques du DPI en France.

## Deux types d'anomalies concernées

Le DPI est un examen génétique pratiqué sur un embryon au stade huit cellules, conçu par fécondation *in vitro*, avant son implantation. L'analyse d'une cellule prélevée permet de détecter une mutation génique ou une anomalie chromosomique, afin de ne transférer dans l'utérus maternel que les embryons sains (voir infographie p. 69). L'intérêt, pour les couples porteurs d'une anomalie qu'ils ne veulent pas transmettre à leur enfant, est énorme : éviter le recours systématique au diagnostic prénatal (DPN), un examen réalisé en cours de grossesse (onzième semaine d'aménorrhée) et qui conduit, lorsque l'embryon est porteur de la maladie, à une interruption médicale de grossesse (IMG). A qui s'adressera le DPI ? Le décret d'application, soucieux d'éviter tout risque de dérive, est clair. Le DPI "n'est autorisé qu'à titre exceptionnel (...) : un médecin (...) doit attester que le couple

En France, le diagnostic pré-implantatoire se pratique sur une cellule prélevée de l'embryon âgé de trois jours. Celui-ci, au stade de huit cellules, est stabilisé au moyen d'une seringue à pression d'huile (photo 1). Puis on pratique, au moyen d'une pipette, un trou à l'aide d'une gouttelette d'acide (*hatching chimique*) dans sa membrane (photo 2). Ensuite, une pipette plus grosse permet d'extraire, par aspiration, la cellule dont l'ADN sera analysé afin d'y détecter d'éventuelles anomalies génétiques (photos 3, 4 et 5).

a une forte probabilité de donner naissance à un enfant atteint d'une maladie génétique d'une particulière gravité reconnue comme incurable au moment du diagnostic", précise le texte.

## Des maladies souvent mortelles

En pratique, le DPI va permettre de dépister deux grands types de maladies. Tout d'abord, les maladies génétiques, c'est-à-dire ayant pour origine la transmission par l'un des parents à l'enfant d'un gène muté. On en connaît environ 5 000, parfois extrêmement rares, qui sont en grande majorité incurables et, pour beaucoup, mortelles. La plus fréquente, la mucoviscidose, touche environ un enfant sur 2 500 à la naissance. Elle est causée par la mutation d'un gène situé sur le chromosome 7, qui entraîne l'absence de la protéine CFTR, indispensable au bon fonctionnement des bronches : au fil des années, la respiration devient pénible, puis impossible. D'autres maladies atteignent les fibres musculaires, comme les différentes myopathies ou la dystrophie myotonique. D'autres encore, comme le déficit en ADA, une enzyme métabolique, touchent le système immunitaire. La plupart du temps, les parents apprennent qu'ils sont "porteurs sains" de la maladie à la naissance d'un premier enfant atteint. Le deuxième groupe de maladies dépistées par le DPI est dû à des anomalies chromosomiques. Certaines personnes – environ 0,2 % de la population – sont porteuses d'une "translocation" : des fragments d'ADN se sont échangés entre deux chromosomes. Chez d'autres, plus rares, un fragment s'est renversé en restant sur le même chromosome : on parle alors d'"inversion". Ces remaniements peuvent entraîner, à travers la transmission du matériel génétique, un ●●●

