




Disponible en ligne sur
 ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
 EM|consulte
www.em-consulte.com



TRAVAIL ORIGINAL

Azoospermie non obstructive : intérêt du prélèvement testiculaire synchrone du recueil ovocytaire

Non-obstructive azoospermia: Option of the testicular sperm extraction performed on the day of oocyte retrieval

M. Grynberg^{a,*}, N. Chevalier^{a,c,d}, A. Mesner^{b,c,d}, L. Rocher^{e,h},
N. Prisant^{b,c,d}, S. Madoux^{b,c,d}, E. Feyereisen^{a,c,d}, S. Ferlicot^{f,h},
R. Fanchin^{a,c,d}, R. Frydman^{a,c,d}, N. Frydman^{e,h}, V. Izard^{a,c,d,g,h}

^a Service de gynécologie-obstétrique et médecine de la reproduction, hôpital Antoine-Béclère, AP-HP, 157, rue de la Porte-de-Trivaux, 92141 Clamart, France

^b Service de biologie de la reproduction, hôpital Antoine-Béclère, AP-HP, 157, rue de la Porte-de-Trivaux, 92141 Clamart, France

^c Université Paris-Sud, 92140 Clamart, France

^d Inserm, U782, 92140 Clamart, France

^e Service de radiologie, hôpital Bicêtre, AP-HP, 78, rue du Général-Leclerc, 94275 Le Kremlin-Bicêtre, France

^f Service d'anatomie pathologique, hôpital Bicêtre, AP-HP, 78, rue du Général-Leclerc, 94275 Le Kremlin-Bicêtre, France

^g Service d'urologie et d'andrologie, hôpital Bicêtre, AP-HP, 78, rue du Général-Leclerc, 94275 Le Kremlin-Bicêtre, France

^h Université Paris-Sud, 94275 Le Kremlin-Bicêtre, France

Reçu le 15 août 2010 ; avis du comité de lecture le 31 octobre 2010 ; définitivement accepté le 17 novembre 2010
Disponible sur Internet le 22 décembre 2010

MOTS CLÉS

Infertilité masculine ;
Azoospermie non
obstructive ;
ICSI ;
Biopsie testiculaire

Résumé

Objectif. – Analyser les résultats et valider la procédure de recueil chirurgical de spermatozoïdes synchrone (biopsie testiculaire [BT]) de la ponction ovocytaire en cas d'azoospermie non obstructive (ANO).

Patients et méthodes. – Soixante BT synchrones ont été réalisées chez 52 hommes ANO. Les patients ont été séparés en trois groupes : 1 : BT positive avec possibilité de congélation de spermatozoïdes ($n=20$) ; 2 : BT positive sans cryopréservation de spermatozoïdes ($n=27$) ; 3 : BT négative ($n=13$). Les résultats de l'ICSI dans les deux groupes avec BT positive ont été comparés à ceux d'ICSI réalisées après décongélation de spermatozoïdes testiculaires prélevés en asynchrone.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : michael.grynberg@abc.aphp.fr (M. Grynberg).

KEYWORDS

Male infertility;
Non obstructive
azoospermia;
ICSI;
Testicular sperm
extraction

Résultats. – Le taux de biopsies testiculaires retrouvant des spermatozoïdes était de 78 %. Alors que le taux global de grossesses cliniques était de 50 %, aucune différence dans les taux de fécondation, d'implantation et de grossesses cliniques n'était retrouvée dans les deux groupes avec BT synchrone positive comparativement au groupe avec sperme décongelé. Douze grossesses cliniques ont été obtenues chez les patients sans congélation au décours de la BT synchrone positive.

Conclusion. – Après BT chez les patients ANO, les résultats en ICSI sont comparables avec sperme frais ou congelé. Cependant, la BT synchrone peut offrir, en présence de rares spermatozoïdes qui ne survivraient pas à la congélation–décongélation, la possibilité d'un transfert d'embryon(s) frais. Les couples doivent cependant être informés d'un éventuel recueil ovocytaire sans possibilité de réaliser l'ICSI en cas de BT négative.

© 2010 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Summary

Objective. – Analyzing the results and validating the procedure of testicular sperm extraction (TESE) performed on the day of oocyte retrieval in non obstructive azoospermia (NOA) patients.

Patients and methods. – Sixty TESE were performed on the day of oocyte retrieval (dOR), in 52 NOA men. Patients were sorted into three groups according to the results of the surgical procedure: 1: sperm recovery with possible sperm freezing ($n=20$); 2: sperm recovery without freezing ($n=27$); 3: "negative" biopsy ($n=13$). ICSI outcomes in the two groups with sperm recovery were compared to those of ICSI performed with frozen-thawed sperm obtained from TESE performed ($n=13$).

Results. – The rate of positive sperm retrieval was 78%. While the overall clinical pregnancy rate was 50%, no difference in the fertilization, implantation and clinical pregnancy rates was found in the two groups with positive sperm retrieval as compared to frozen-thawed sperm group. Twelve pregnancies were obtained in patients without further sperm cryopreservation.

Conclusion. – After TESE in NOA men, cryopreserved sperm produced comparable results with freshly obtained sperm. However, TESE performed on dOR can offer the opportunity, in patients with rare sperm that might not survive freeze-thaw, to have a possible fresh embryo transfer. Couples should be counselled regarding the possibility of oocyte retrieval without sperm for ICSI.

© 2010 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Introduction

Les premiers résultats en FIV avec des prélèvements chirurgicaux de spermatozoïdes furent obtenus avec des spermatozoïdes épидидymaires frais [1]. Après la découverte de la technique de l'ICSI [2], les résultats rapportés avec les spermatozoïdes épидидymaires congelés s'avèrent aussi encourageants qu'avec les prélèvements frais [3,4]. Se posa alors la question d'utiliser les spermatozoïdes testiculaires, prélevés au niveau de la pulpe, en effectif plus faible dans le tube séminifère et doués d'une moindre mobilité. Par la suite, les prélèvements testiculaires effectués dans des cas d'azoospermie obstructive (AO) permirent de récupérer un nombre suffisant de spermatozoïdes pour pouvoir les congeler [5], puis les utiliser avec succès après décongélation [6–8]. L'utilisation de spermatozoïdes obtenus à partir d'un prélèvement chirurgical de pulpe testiculaire, chez des patients présentant une azoospermie non obstructive (ANO), sécrétoire, avec déficience de la spermatogenèse, s'avère généralement plus délicate. En effet, dans ces situations, les testicules sont hypotrophiques, faisant courir un risque de dysfonctionnement endocrine testiculaire en cas biopsies testiculaires multiples et/ou itératives. Cependant, certaines études ont montré que les résultats en FIV-ICSI, à partir de biopsies du tissu testiculaire, en cas d'AO ou non obstructive étaient

comparables avec des spermatozoïdes frais ou congelés [9,10].

Nous rapportons dans cette étude l'expérience d'un centre hospitalier universitaire pluridisciplinaire pratiquant l'assistance médicale à la procréation (AMP) et les raisons pour lesquelles nous optons, dans la majorité des cas, pour une synchronisation entre la biopsie testiculaire et le recueil ovocytaire.

Patients et méthodes

Entre 2001 et 2008, 60 biopsies testiculaires synchrones du recueil ovocytaire, ont été réalisées chez 52 hommes présentant une ANO. Préalablement à la chirurgie, tous les patients avaient fait l'objet d'un examen clinique, notamment scrotal. Dans tous les cas, l'azoospermie avait été confirmée sur deux spermogrammes réalisés à trois mois d'intervalle. Dans le cadre de l'exploration de l'azoospermie ont été systématiquement pratiqués une échographie-doppler du contenu scrotal avec notamment mesure du volume testiculaire, une échographie prostatovésiculaire endorectale et des mesures sériques de FSH et d'inhibine B. Le dosage de la FSH était réalisé à l'aide d'un système automatisé multianalyse avec une détection de chimioluminescence (ACS-180 ; Bayer Diagnostics, Puteaux, France). Pour l'inhibine B, le dosage utilisait par une technique

d'Elisa double-anticorps (Serotec, Varilhes, France), avec un seuil de sensibilité fonctionnelle de 15 pg/mL, et des coefficients de variation intra-essai et inter-essai (CV) de moins de 6 et 9%, respectivement. Enfin, chaque patient bénéficiait systématiquement d'un caryotype sanguin constitutionnel et d'une recherche de microdélétion du chromosome Y. Si une anomalie génétique était constatée, le patient bénéficiait d'une consultation avec un généticien.

Au cours de la même période, 13 cycles de FIV/ICSI ont été pratiqués en utilisant des spermatozoïdes décongelés issus d'un recueil chirurgical réalisé préalablement à la ponction ovocytaire chez des hommes ANO (groupe asynchrone) ayant, avec leur conjointe, refusé le prélèvement synchrone.

Recueil chirurgical de spermatozoïdes testiculaires

L'acte chirurgical masculin était réalisé au bloc opératoire de l'hôpital Bicêtre, équipé pour la microchirurgie, sous anesthésie générale, avec masque laryngé ou intubation orotrachéale, ou plus rarement anesthésie locorégionale (rachianesthésie). Après une courte incision scrotale sur le raphé médian, puis une ouverture de la tunique vaginale explorant le côté du testicule le plus trophique, une biopsie testiculaire était pratiquée par albuginotomie à la lame froide n° 11. La taille du prélèvement testiculaire était adaptée au volume gonadique, en moyenne de 3 × 3 × 3 mm. L'aspect macroscopique des tubes séminifères (couleur favorable blanc-ivoire ou piètre aspect jaunessafran suggestif d'une hyperplasie leydigienne; calibre des tubes séminifères plus ou moins trophiques et consistants...) aidait, d'une part, à expertiser la qualité du prélèvement biologique et, d'autre part, à présager du résultat histologique différé. Un examen biologique extemporané entre lame et lamelle de la pulpe préalablement disséquée au micro-ciseaux était systématiquement effectué en salle d'opération, à l'aide d'un microscope biologique Olympus CH-2 (grossissement × 200 ou × 400). En cas de non-visualisation de spermatozoïdes, l'abord du testicule controlatéral était justifié. Un petit fragment de pulpe fixé dans l'AFA était adressé en anatomo-pathologie pour coloration et examen histologique différé. L'essentiel du prélèvement de pulpe, non dilacéré, était placé à température ambiante dans un milieu de culture en cours de validité (Ferticult-Hepes®) en tube Nunc® stérile 1,8 mL, et transféré dans les plus brefs délais au laboratoire de biologie de la reproduction de l'hôpital Antoine-Béclère. L'intervention se terminait par une albuginorrhaphie testiculaire par surjet de fil non résorbable (polypropylène 7/0), permettant de constituer une trace pérenne de l'incision pour une éventuelle intervention ultérieure. La tunique vaginale était suturée par surjet, les plans intermédiaire et cutané l'étant par des points séparés de fil polyglactine à résorption rapide (calibre 3/0). Une infiltration dans le cordon de 10 cc de ropivacaine (7 mg/ml) permettait de parfaire l'analgésie per- et postopératoire.

La préparation du prélèvement testiculaire

Le prélèvement apporté au laboratoire était disséqué, puis étalé et observé sous microscope à fort grossissement

(× 200–400). Il était ensuite placé dans un tube conique et centrifugé pendant cinq minutes à 1500 tours par minute. Après préparation dans un milieu de culture, il était mis dans un incubateur à 37 °C dans un air enrichi à 5% de CO₂ pour la procédure d'ICSI (durée d'environ trois à cinq heures). Lors de l'examen direct entre lame et lamelle, si la concentration de spermatozoïdes était supérieure à cinq spermatozoïdes mobiles par goutte de 20 µL, alors la congélation était réalisée. Ainsi, lorsque la concentration de spermatozoïdes mobiles était inférieure à 250 par mL, les spermatozoïdes recueillis étaient utilisés pour l'ICSI et l'excédant non congelé.

Évaluation du statut folliculaire ovarien et stimulation ovarienne

Préalablement à la stimulation ovarienne en vue de la FIV/ICSI, toutes les patientes avaient eu une mesure des concentrations de FSH et d'inhibine B sériques en phase folliculaire précoce (troisième jour du cycle) dans le cadre de l'évaluation de leur statut folliculaire ovarien. Les techniques de dosage étaient similaires à celles utilisées chez l'homme (cf. supra).

La stimulation ovarienne était réalisée par injection quotidienne sous-cutanée de gonadotrophines exogènes (Gonal F®, laboratoire Serono Boulogne, France; ou Menopur®, laboratoire Ferring Gentilly, France), après une désensibilisation hypophysaire par une injection d'agoniste retard de la GnRH suivant un protocole long (Decapeptyl® 3 mg, laboratoire Ipsen Paris, France). Lorsque les critères de déclenchement étaient obtenus (association de cinq follicules matures mesurés entre 16 et 20 mm par échographie vaginale et d'un taux d'estradiolémie supérieur à 1000 pmol/ml), une administration d'hormone chorionique gonadotrophine (hCG) était pratiquée par voie intramusculaire pour assurer la maturation ovocytaire finale. Le recueil ovocytaire était réalisé sous contrôle échographique au bloc opératoire sous anesthésie locale ou générale, 36 heures maximum après l'injection d'hCG. Les ovocytes étaient ensuite décoronés et seuls ceux en métaphase II microinjectés selon la procédure classique d'ICSI.

Transfert embryonnaire et diagnostic de grossesse

Les embryons étaient transférés dans la cavité utérine le deuxième ou troisième jour après la ponction ovarienne, à l'aide d'un cathéter de Frydman (CCD Neuilly en Thelle, France), sous contrôle échographique. Un dosage sanguin quantitatif de β-hCG était réalisé 14 jours après la ponction, contrôlé à 48 h en cas de positivité.

Constitution des groupes

Dans le but d'analyser l'influence des résultats de la biopsie testiculaire sur le devenir de la FIV/ICSI, trois groupes de patients ont été séparément analysés, en fonction du moment de réalisation de la biopsie testiculaire (synchrone ou asynchrone) et des résultats de celle-ci (positive avec ou sans possibilité de cryopréservation de spermatozoïdes ou négative). Ainsi, ont été définis un groupe ayant eu un

prélèvement de tissu testiculaire asynchrone du recueil ovocytaire et pour lequel les spermatozoïdes récupérés avaient été congelés (groupe asynchrone); un groupe avec biopsie testiculaire synchrone positive ayant permis une cryopréservation de spermatozoïdes après l'ICSI (groupe synchrone avec congélation); un groupe avec biopsie testiculaire synchrone positive sans possibilité de cryopréservation de spermatozoïdes après l'ICSI (groupe synchrone sans congélation). Un quatrième groupe pour lequel la biopsie n'a pas permis la récupération de spermatozoïdes (Groupe biopsie négative), ne pouvait de fait pas être inclus dans l'analyse des résultats en termes de devenir de la FIV/ICSI.

Statistiques

La mesure de tendance centrale utilisée était la moyenne et la mesure de la variabilité l'erreur standard. Les intervalles de confiance (95 % IC) étaient utilisés lorsque nécessaire. La comparaison des variables continues dans les groupes asynchrone, synchrone avec congélation et synchrone sans congélation était réalisée par ANOVA. Une valeur de $p < 0,05$ était considérée comme statistiquement significative.

Résultats

La moyenne d'âge de ces hommes était de $36,5 \pm 0,7$ ans et celle de leurs partenaires de $32,2 \pm 0,5$ ans. Les concentrations moyennes de FSH masculines étaient de $16,2 \pm 0,3$ mUI/mL, avec un volume testiculaire moyen de $8,2 \pm 0,3$ mL.

Globalement, les caractéristiques de la population féminine ne différaient pas dans les quatre groupes étudiés, notamment l'âge et les paramètres d'évaluation du statut folliculaire ovarien (Tableau 1).

Sur les 52 patients suivis, cinq cas de microdélétion du chromosome Y ont été retrouvés, portant sur la zone AZFc. Par ailleurs, le caryotype constitutionnel demandé systématiquement chez les patients ayant une ANO a permis de diagnostiquer deux translocations robertsoniennes ($45,XY,-13,-15,+t(13p;15q)$ et $45,XY,der(13;14)(q10;q10)$,

dont une a entraîné une prise en charge en diagnostic pré-implantatoire).

Globalement, sur les 60 prélèvements de pulpe testiculaire réalisés de manière contemporaine au recueil ovocytaire, 47 ont permis la récupération de spermatozoïdes utilisables pour l'ICSI (78 %). Parmi ceux-là, 20 présentaient des caractéristiques compatibles avec une congélation de spermatozoïdes surnuméraires au décours immédiat de la réalisation de l'ICSI (groupe synchrone avec congélation), tandis que cette possibilité ne se présentait pas pour les 27 autres prélèvements (groupe synchrone sans congélation). Pour 13 (22 %) biopsies testiculaires synchrones, aucun spermatozoïde n'a été retrouvé (groupe biopsie négative), et l'utilisation des ovocytes matures recueillis lors de la ponction ovarienne n'a pas été possible. Lors de l'examen histologique des ces 13 biopsies testiculaires « négatives », le diagnostic le plus souvent retenu était celui d'arrêt de maturation (69 %), et plus rarement de sclérose tubulaire (31 %). En ce qui concerne les sept patients pour lesquels le bilan génétique avait été contributif, tous les recueils de spermatozoïdes se sont avérés être positifs avec possibilité des cryopréservation des spermatozoïdes surnuméraires après ICSI pour six patients excepté dans un cas de microdélétion du chromosome Y.

L'intervalle minimal entre deux tentatives d'AMP pour un même couple était de trois mois dans le cas où des spermatozoïdes avaient pu être congelés lors de la tentative précédente et était porté à six mois si une nouvelle biopsie testiculaire controlatérale ou itérative bilatérale devait être envisagée.

Caractéristiques de la population en fonction des résultats du recueil chirurgical de spermatozoïdes

Les caractéristiques générales de la population des quatre groupes étudiés figurent dans le Tableau 1. L'âge moyen des femmes, ainsi que les concentrations de FSH et d'inhibine B sériques au troisième jour du cycle ne différaient pas significativement dans les quatre groupes. De même, aucune différence significative n'était notée dans l'âge moyen des hommes, leur taux de FSH et d'inhibine B sériques, ni leur

Tableau 1 Caractéristiques générales de la populations masculine et féminines en fonction des résultats du recueil chirurgical synchrone ou asynchrone.

Male and female general characteristics according to the results of the surgical sperm retrieval.

	Synchrone avec congélation (n=20)	Synchrone sans congélation (n=27)	Asynchrone (n=13)	Biopsie négative (n=13)	p
Âge moyen homme (années)	37,0 ± 1,3	35,8 ± 1,0	37,5 ± 1,7	38,9 ± 0,8	NS
Âge moyen femme (années)	32,2 ± 1,2	31,8 ± 0,6	34,3 ± 1,3	30,0 ± 1,5	NS
FSH sérique masculine (mUI/mL)	15,0 ± 1,5	15,2 ± 1,1	18,3 ± 1,9	17,6 ± 3,8	NS
FSH sérique féminine (mUI/mL)	6,4 ± 0,3	5,8 ± 0,3	6,0 ± 0,2	6,7 ± 0,7	NS
Inhibine B sérique masculine (pg/mL)	36,5 ± 5,1	32,9 ± 6,2	37,5 ± 6,6	32,3 ± 5,9	NS
Inhibine B sérique féminine (pg/mL)	68,5 ± 1,5	69,9 ± 1,6	70,4 ± 1,2	70,1 ± 1,2	NS
Estradiol sérique féminine (pg/mL)	34,5 ± 2,1	34,1 ± 2,2	36,3 ± 2,2	30,1 ± 2,1	NS
No. follicules (3 à 12 mm)	12,3 ± 0,5	13,1 ± 0,5	12,1 ± 0,7	13,7 ± 0,7	NS
Volume testiculaire moyen (cm ³)	8,4 ± 0,4	8,1 ± 0,4	8,2 ± 0,7	8,6 ± 0,8	NS

NS : non significatif.

Tableau 2 Résultats de la procédure de FIV/ICSI en fonction du moment du recueil chirurgical de spermatozoïdes vis-à-vis de la ponction ovocytaire, et selon la qualité du sperme obtenu.
IVF/ICSI outcomes according to the moment of the surgical sperm retrieval vis-à-vis of the oocytes puncture, and according to the semen quality.

	Synchrone avec congélation (n = 20)	Synchrone sans congélation (n = 27)	Asynchrone (n = 13)	p
Nombre moyen d'ovocytes ponctionnés	11,3 ± 4,8	13 ± 5,9	7,92 ± 3,9	< 0,03
Taux de fécondation (95 % IC) (%)	58,3 (51,4–65,2)	57,5 (54,9–60,1)	59,8 (55,8–63,8)	NS
Nombre moyen d'embryons obtenus	5,6 ± 3,1	5,5 ± 2,9	4,73 ± 2,4	NS
Nombre moyen d'embryons transférés	2,6 ± 0,7	2,2 ± 0,8	2,7 ± 0,6	NS
Taux de grossesses cliniques par ponction (%)	55,0	44,0	54,5	NS
Taux d'implantation (95 % IC) (%)	31,6 (23,5–39,7)	23,7 (19,9–27,5)	26,6 (23,1–30,1)	NS
Nombre de FCS	0	0	0 (1 GEU)	NS

NS : non significatif.

volume testiculaire, quels que soient les résultats de la biopsie.

Résultats de la FIV/ICSI en fonction du sperme utilisé et des résultats du recueil chirurgical de spermatozoïdes

Les résultats de la FIV/ICSI en fonction du type de spermatozoïdes utilisés (frais ou congelés) et de la qualité du prélèvement testiculaire synchrone figurent dans le [Tableau 2](#). En dépit d'un nombre plus faible d'ovocytes recueillis dans le groupe BT asynchrone, comparativement aux deux autres groupes, le nombre d'embryons obtenus ne différait pas dans les trois groupes. Le taux de grossesse clinique par ponction et le taux d'implantation tendaient à être plus faibles dans le groupe synchrone sans congélation (44,0 et 23,7 %, respectivement) comparativement aux groupes synchrone avec congélation (55,0 et 31,6 %, respectivement) ou BT asynchrone (54,5 et 26,6 %, respectivement). Aucun cas de fausse couche spontanée n'est rapporté dans cette série.

Discussion

Le développement de l'extraction chirurgicale de spermatozoïdes testiculaires, combinée à l'ICSI, a apporté de nouvelles armes thérapeutiques dans la gestion des couples inféconds dont l'homme présente une ANO [11–14]. Notre étude avait pour objectif d'évaluer les résultats de la FIV/ICSI, chez des patients présentant une ANO, et qui ont bénéficié d'un recueil chirurgical des spermatozoïdes, synchrone du recueil ovocytaire. Nos résultats confirment l'intérêt d'une telle pratique, dans la mesure où malgré la présence de spermatozoïdes sur le prélèvement de pulpe testiculaire, permettant ainsi la micro-injection ovocytaire, la congélation de spermatozoïdes testiculaires n'est pas toujours réalisable du fait d'un nombre insuffisant de gamètes. Ainsi, dans le groupe synchrone sans congélation, 12 grossesses évolutives ont été obtenues, soit un taux de grossesse de 44 %, chez des patients pour qui le prélèvement

asynchrone n'aurait pas permis la réalisation de la FIV. Ce résultat est toutefois à pondérer par les 13 biopsies testiculaires négatives ayant entraîné 13 ponctions d'ovocytes non utilisables.

Le taux d'extraction infructueuse de spermatozoïdes testiculaires habituellement rapportés en cas d'ANO est d'environ 50 % [15–16]. Dans cette série, ces cas ne représentaient que 22 % des prélèvements de pulpe testiculaire. Comme l'avaient déjà démontré précédemment d'autres auteurs, ni le volume testiculaire, ni les concentrations de FSH sériques n'étaient prédictifs du succès de la biopsie testiculaire [15–21].

Dans l'analyse des marqueurs génétiques, la découverte d'une microdélétion des zones AZFa et AZFb sur le chromosome Y pourrait être prédictive de l'absence de spermatozoïdes et dissuader d'effectuer la biopsie testiculaire [22]. En revanche, une microdélétion de la zone AZFc [23–24], tout comme la formule de caryotype constitutionnel 47,XXY retrouvée dans l'aneuploïdie gonosomique du syndrome de Klinefelter permet d'évaluer à environ 50 % la perspective d'obtenir des spermatozoïdes sur la biopsie testiculaire. Une anomalie génétique est retrouvée dans moins de 10 % des cas au cours d'un bilan d'une azoospermie sécrétoire. Dans notre série, aucun des marqueurs génétiques étudiés ne semblait prédictif d'une biopsie testiculaire positive, ou d'une possible congélation de spermatozoïdes testiculaires.

S'il n'existe aucune différence dans les taux de fécondation, d'implantation et de grossesse clinique entre l'utilisation de spermatozoïdes épидидymaires ou testiculaires en cas d'AO [25], les situations d'ANO sont moins favorables [26]. En effet, outre une probabilité plus faible de récupération de spermatozoïdes sur le prélèvement chirurgical comparativement aux AO, les taux de fécondation, d'implantation et de grossesse clinique, sont également significativement diminués. Ces résultats pourraient être la conséquence d'un défaut de développement embryonnaire. Ainsi, il a été démontré une réduction des taux de blastulation et d'implantation des embryons provenant de patients ayant une ANO comparativement à ceux issus de spermatozoïdes éjaculés ou épидидymaires [27]. Ces données sont

en faveur d'une implication paternelle dans le développement embryonnaire et l'implantation. Une des explications pourrait être l'incidence plus élevée d'anomalies chromosomiques spermatiques mise en évidence par fluorescence in situ hybridation (FISH) chez les sujets ANO [28]. Ainsi, tous les candidats à la parentalité via l'ICSI et plus particulièrement lorsqu'il s'agit d'une ANO, doivent être informés d'un risque génétique plus élevé pour la descendance [29].

Par ailleurs, l'analyse des résultats de cycles de FIV/ICSI utilisant des spermatozoïdes testiculaires frais ou congelés/décongelés [25,30] met en évidence des résultats similaires, bien s'il soit difficile, dans ces séries, d'isoler les étiologies sécrétoires pures. Dans la méta-analyse de Nicopoulos et al., les taux de fécondation étaient similaires en frais et en décongelé, avec toutefois de taux d'implantation significativement plus élevés avec le sperme testiculaire frais [25].

Au total, tous groupes confondus, les taux de grossesses cliniques obtenus dans notre centre après biopsie testiculaire synchrone chez des patients ANO s'élèvent à 50% par ponction, avec un nombre moyen d'embryons transférés compris entre deux et trois. Le nombre relativement important d'embryons transférés dans tous les groupes s'explique par le fait qu'avant la mise en place d'une politique de réduction du nombre d'embryons transférés (2003) visant à réduire l'incidence des grossesses multiples, les cas d'infertilité masculine avec ANO étaient considérés comme de « moins bon pronostic ».

Dans notre expérience, le prélèvement testiculaire synchrone s'est finalisé par l'obtention de 12 grossesses évolutives pour des couples chez lesquels la piètre qualité apparente du matériel testiculaire frais n'aurait pas permis de proposer sereinement une tentative d'AMP consécutivement à un recueil masculin asynchrone décongelé, sans évoquer une réintervention scrotale sur une gonade cicatricielle souvent déjà nettement hypotrophique initialement. Ces résultats sont à mettre en balance avec les 13 biopsies testiculaires négatives. Après une information éclairée évoquant les divers aspects de la médicalisation du projet parental (et notamment l'information du couple en vue d'un projet hétérologue par consultation formalisée auprès d'un CECOS avant la biopsie), et sur le risque de biopsie testiculaire négative, les couples sont souvent favorables à la réalisation d'un prélèvement synchrone. La prise de risque réelle humaine et économique d'une biopsie testiculaire négative, contemporaine d'un recueil d'ovocytes non utilisables, permet au final un taux de grossesse évolutive satisfaisant (44%). Il est par ailleurs relativement facile, au bloc opératoire, lors d'un examen extemporané, de savoir si la pulpe contient des spermatozoïdes, si une autre biopsie doit être effectuée, si l'autre testicule doit être abordé et de s'adapter, en contactant directement le laboratoire d'AMP, au nombre d'ovocytes recueillis lors de la ponction folliculaire. Enfin, la congélation de spermatozoïdes testiculaires excédentaires ne sera effectuée au cas de prélèvement positif, que si la concentration et de mobilité sont jugées satisfaisantes pour une ré-utilisation après décongélation.

Finalement, nous reconnaissons parfaitement le précieux avantage de l'activité asynchrone dans le cadre des prélèvements testiculaires pour ANO, à savoir de ne pas infliger de stimulation ovarienne inappropriée, en cas d'absence de spermatozoïdes à la biopsie testiculaire. Cependant, les

récents progrès de la cryopréservation ovocytaire viennent désormais pondérer cet argument. En effet, les taux de grossesse désormais rapportés par les meilleures équipes après décongélation ovocytaire [31] font qu'il est possible de proposer, en cas de biopsies testiculaires négative, une cryopréservation des ovocytes matures, en vue d'une éventuelle utilisation en FIV avec don de sperme.

Conclusion

Nous rapportons chez des patients présentant une ANO, des taux de grossesse cliniques élevés en cas de recueil chirurgical de spermatozoïdes synchrone du prélèvement ovocytaire, sans différence avec ceux obtenus après utilisation des spermatozoïdes testiculaires décongelés. Ces données confirment l'intérêt porté par notre équipe à la réalisation de prélèvements testiculaires synchrones dans ces situations, visant à offrir une chance d'obtenir une grossesse, issue de gamètes frais, à des couples informés du risque de biopsie testiculaire « négative », pour lesquels le recueil de pulpe testiculaire ne paraît pas toujours adéquat. Ce travail repose sur une étroite collaboration avec une équipe multidisciplinaire composée de gynécologues, uro-andrologues, biologistes et psychiatres ou psychologues. La qualité de l'information donnée au couple paraît essentielle dans cette prise en charge, et une étude sur le vécu des couples nous permettrait d'améliorer notre pratique pour nous adapter au mieux à chaque cas.

Conflit d'intérêt

Les auteurs n'ont pas déclaré de conflit d'intérêt.

Références

- [1] Temple-Smith PD, Southwick GJ, Yates CA, Trounson AO, de Kretser DM. Human pregnancy by in vitro fertilization (IVF) using sperm aspirated from the epididymis. *J In Vitro Fert Embryo Transf* 1985;2:119–22.
- [2] Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 1992;340:17–8.
- [3] Nagy Z, Liu J, Janssenwillen C, Silber S, Devroey P, Van Steirteghem AC. Using ejaculated, fresh and frozen-thawed epididymal and testicular spermatozoa gives rise to comparable results after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 1995;63:808–15.
- [4] Devroey P, Silber S, Nagy Z, Liu J, Tournaye H, Joris H, et al. Ongoing pregnancies and birth after intracytoplasmic injection with frozen-thawed epididymal spermatozoa. *Hum Reprod* 1995;10:903–6.
- [5] Craft I, Tzirigotis M. Simplified recovery, preparation and cryopreservation of testicular spermatozoa. *Hum Reprod* 1995;10:1623–7.
- [6] Gil-Salom M, Romero J, Minguez Y, Rubio C, De los Santos MJ, Remohi J, et al. Pregnancies after intracytoplasmic sperm injection with cryopreserved testicular spermatozoa. *Hum Reprod* 1996;11:1309–13.
- [7] Podsiadly BT, Woolkott RJ, Stanger JD, Stevenson K. Case report: pregnancy resulting from intracytoplasmic injection of cryopreserved spermatozoa recovered from testicular biopsy. *Hum Reprod* 1996;11:1306–8.

- [8] Verheyen G, Nagy Z, Joris H, De Croo I, Tournaye H, Van Steirteghem A. Quality of frozen-thawed testicular sperm and its preclinical use for intracytoplasmic sperm injection into in vitro matured germinal-vesicle stage oocytes. *Fertil Steril* 1997;67:74–80.
- [9] Friedler S, Raziel A, Soffer Y, Strassburger D, Komarovsky D, Ron-El R. The outcome of intracytoplasmic injection of fresh and cryopreserved epididymal spermatozoa from patients with obstructive azoospermic patients undergoing ICSI. *Hum Reprod* 2002;17:570–5.
- [10] Sousa M, Cremades N, Silva J, Oliveira C, Ferraz L, Teixeira da Silva J, et al. Predictive value of testicular histology in secretory azoospermic subgroups and clinical outcome after microinjection of fresh and frozen-thawed sperm and sperm-tids. *Hum Reprod* 2002;17:1800–10.
- [11] Devroey P, Liu J, Nagy Z, Goossens A, Tournaye H, Camus M, et al. Pregnancies after testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 1995;10:1457–60.
- [12] Tournaye H, Camus M, Goossens A, Nagy Z, Silber S, Van Steirteghem AC, et al. Recent concepts in the management of infertility because of non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 1995;10:115–9.
- [13] Silber S, Van Steirteghem A, Nagy Z, Liu J, Tournaye H, Devroey P. Normal pregnancies resulting from testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection for azoospermia due to maturation arrest. *Fertil Steril* 1996;55:110–7.
- [14] Schlegel PN, Palermo GD, Goldstein M, Menendez S, Zaninovic N, Veeck LL, et al. Testicular sperm extraction with intracytoplasmic sperm injection for non-obstructive azoospermia. *Urology* 1997;49:435–40.
- [15] Tournaye H, Verheyen G, Nagy P, Ubaldi F, Goossens A, Silber S, et al. Are there any predictive factors for successful testicular sperm recovery in azoospermic patients? *Hum Reprod* 1997;12:80–6.
- [16] Tournaye H, Camus M, Vandervorst M, Nagy Z, Joris H, Van Steirteghem A, et al. Surgical sperm retrieval for intracytoplasmic sperm injection. *Int J Androl* 1997;20:69–73.
- [17] Gottschalk-Sabag S, Weiss DB, Folb-Zacharow, Zukerman Z. Is one testicular specimen sufficient for quantitative evaluation of spermatogenesis? *Fertil Steril* 1995;64:399–402.
- [18] Ezeh UIO, Taub NA, Moore HDM, Cooke ID. Establishment of predictive variables associated with testicular sperm retrieval in men with non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 1999;14:1005–12.
- [19] Chen CS, Chu SH, Lai YM, Wang ML, Chan PR. Reconsideration of testicular biopsy and follicle-stimulating hormone measurement in the era of intracytoplasmic sperm injection for non-obstructive azoospermia? *Hum Reprod* 1996;11:2176–9.
- [20] Mulhall JP, Burgess CM, Cunningham D, Carson R, Harris D, Oates RD. Presence of mature sperm in testicular parenchyma of men with non-obstructive azoospermia: prevalence and predictive factors. *Urol* 1997;49:91–6.
- [21] Seo JT, Ko WJ. Predictive factors of successful testicular sperm recovery in non-obstructive azoospermia patients. *Int J Androl* 2001;24:306–10.
- [22] Brandell RA, Mielnik A, Liotta D, Ye Z, Veeck LL, Palermo GD, et al. AZFb deletions predict the absence of spermatozoa with testicular sperm extraction: Preliminary report of a prognostic genetic test. *Hum Reprod* 1998;13:2812–5.
- [23] Tilford CA, Kuroda-Kawaguchi T, Skaletsky H, Rozen S, Brown LG, Rosenberg M, et al. A physical map of the human Y chromosome. *Nature* 2001;409:943–5.
- [24] Silber SJ, Repping S. Transmission of male infertility to future generations: lessons from the Y chromosome. *Hum Reprod Update* 2002;8:217–29.
- [25] Nicopoullos JD, Gilling-Smith C, Almeida PA, Norman-Taylor J, Grace I, Ramsay JW. Use of surgical sperm retrieval in azoospermic men: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2004;82:691–701.
- [26] Vernaeve V, Tournaye H, Osmanagaoglu K, Verheyen G, Van Steirteghem A, Devroey P. Intracytoplasmic sperm injection with testicular spermatozoa is less successful in men with nonobstructive azoospermia than in men with obstructive azoospermia. *Fertil Steril* 2003;79:529–33.
- [27] Balaban B, Urman B, Isiklar A, Alatas C, Mercan R, Aksoy S, et al. Blastocyst transfer following intracytoplasmic injection of ejaculated, epididymal or testicular spermatozoa. *Hum Reprod* 2001;16:125–9.
- [28] Palermo GD, Colombero LT, Hariprashad JJ, Sclegel PN, Rosenwaks Z. Chromosome analysis of epididymal and testicular sperm in azoospermic patients undergoing ICSI. *Hum Reprod* 2002;17:570–5.
- [29] Tournaye H. ICSI: a technique too far? *Int J Androl* 2003;26:63–9.
- [30] Friedler S, Raziel A, Soffer Y, Strassburger D, Komarovsky D, Ron-El R. Intracytoplasmic injection of fresh and cryopreserved testicular spermatozoa in patients with non-obstructive azoospermia—a comparative study. *Fertil Steril* 1997;68:892–7.
- [31] Ubaldi F, Anniballo R, Romano S, Baroni E, Albricci L, Colamaria S, et al. Cumulative ongoing pregnancy rate achieved with oocyte vitrification and cleavage stage transfer without embryo selection in a standard infertility program. *Hum Reprod* 2010;25:1199–205.