

# L'utilisation du MSOME : expérience de six ans

## IMSI: six years of practice

M. Dumont · A.-M. Junca · S. Belloc · P. Cohen-Bacrie · M. Cohen-Bacrie · Y. Menezo · M. Benkhalifa · J. de Mouzon · N. Prisant

Reçu le 31 mars 2010 ; accepté le 31 janvier 2011  
© SALF et Springer-Verlag France 2011

**Résumé Introduction :** L'analyse fine de la morphologie des spermatozoïdes à un grossissement de 6600 x, appelée MSOME (motile sperm organellar morphology examination) et appliquée en ICSI, a donné naissance à l'IMSI (intracytoplasmic morphologically selected sperm injection). Cette technique est proposée aux couples en échecs répétés d'implantation embryonnaire en ICSI, dans le but d'obtenir une grossesse évolutive.

**Matériel et méthodes :** L'étude concerne une cohorte observationnelle de 11535 ICSI pratiquées avec du sperme éjaculé frais, de janvier 2004 à juillet 2009. Parmi celles-ci, 2509 ont été réalisées avec IMSI. Les paramètres étudiés sont : le taux de clivage à J2 par ovocyte injecté, le taux de grossesses cliniques par ponction et le taux de fausses couches spontanées, en fonction du rang de la tentative et/ou de la qualité du sperme du bilan. Ces données ont été comparées entre l'ICSI et l'IMSI et les comparaisons ont été faites à l'aide de  $\chi^2$  et d'analyse de variance.

**Résultats :** Nous n'avons pas observé de différence significative entre l'ICSI et l'IMSI en termes de taux de clivage à J2 et taux de grossesses cliniques. Par contre, le taux de grossesses, en IMSI de rang 1, est significativement plus

élevé en cas d'anomalie du sperme si on regroupe les tératozoospermies avec les oligozoospermies et les oligotératozoospermies (34,4 vs 27,1%,  $p = 0,02$ ). De plus, si l'on regroupe les tératozoospermies et les oligotératozoospermies, le taux de fausses couches est plus faible en IMSI comparé à l'ICSI, de manière proche de la significativité (12,6% vs. 19,6%,  $p = 0,08$ ).

**Conclusion :** En présence d'une tératozoospermie sévère, l'IMSI semble augmenter les taux de grossesses et diminuer les taux de fausses couches. **Pour citer cette revue : Andrologie 21 (2011).**

**Mots clés** MSOME · IMSI · Sélection · Spermatozoïdes · Grossesses

**Abstract Introduction:** MSOME (Motile Sperm Organellar Morphology Examination) is a new method for real-time evaluation of sperm morphology under 6600x high magnification. ICSI modified procedure with sperm selected by MSOME is named IMSI (Intracytoplasmic Morphologically Selected sperm Injection). IMSI has been developed to improve ongoing pregnancy rate in couples with repeated implantation failure.

**Material and methods:** The study concern an observational cohort of 11535 ICSI performed with fresh ejaculated sperm in our ART lab between January 2004 and July 2009. Among them, 2509 were realized with IMSI. The primary outcome measures were cleavage rate per injected oocyte on day 2, clinical pregnancy and abortion rates. Comparisons were performed using Chi square<sup>2</sup> test and univariate analysis of variance.

**Results:** There were no significant difference between conventional ICSI and IMSI groups in term of cleavage and pregnancy rates. Couples with abnormal sperm (teratozoospermia, oligozoospermia and oligotératozoospermia) and no previous ICSI failure, had a significantly higher clinical pregnancy with IMSI than with ICSI (34.4% vs. 27.1%,  $p = 0.02$ ). Furthermore, pregnancies obtained in patients with teratozoospermia were associated with a

---

M. Dumont (✉)  
Laboratoire d'Eylau-Unilabs, unité AMP Eylau-Cherest,  
5, rue Pierre-Cherest, F-92200 Neuilly-sur-Seine, France  
e-mail : mdh@eylau.fr

A.-M. Junca  
Laboratoire d'Eylau-Unilabs, unité AMP La Muette,  
46–48, rue Nicolo, F-75116 Paris, France

S. Belloc · P. Cohen-Bacrie · M. Cohen-Bacrie · Y. Menezo ·  
M. Benkhalifa · N. Prisant  
Laboratoire d'Eylau-Unilabs, 55, rue Saint-Didier,  
F-75116 Paris, France

J. de Mouzon  
Inserm, service de gynécologie obstétrique II  
et de médecine de la reproduction, groupe hospitalier  
Cochin–Saint-Vincent-de-Paul, 82, avenue Denfert-Rochereau,  
F-75014 Paris, France

lower abortion rate after IMSI than after ICSI, close to significance (12.6% vs. 19.6%,  $p = 0.08$ ).

**Conclusion:** In cases of severe teratozoospermia, IMSI appears to improve pregnancy rate and pregnancy outcome.

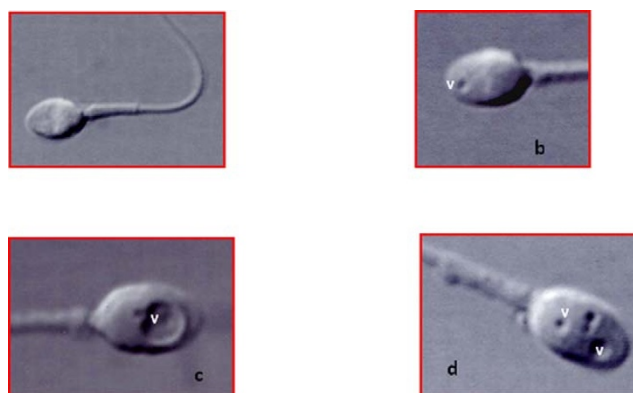
**To cite this journal:** *Andrologie 21 (2011).*

**Keywords** MSOME · IMSI · Selection · Sperm · Pregnancies

## Introduction

Suite à la publication de Palermo et al. [1], ce n'est pas sans une certaine appréhension que les biologistes ont commencé à pratiquer l'ICSI en 1993, surtout lorsque les spermés déficients présentaient également une tératozoospermie sévère. L'analyse des résultats a tout d'abord montré qu'il n'y avait pas de relation entre le pourcentage de formes anormales dans le sperme et les taux de grossesses en ICSI [2]. Cependant, les anomalies morphologiques individuelles du spermatozoïde injecté peuvent être responsables d'une baisse des taux de fécondation, de grossesse et d'implantation embryonnaire [3].

Après les succès de l'ICSI pour la fécondation, s'est posé le problème des échecs répétés d'implantation embryonnaire. Bartoov et al. [4] ont apporté l'espoir que le choix des spermatozoïdes des hommes infertiles sur leur morphologie fine permettrait d'obtenir des accouchements chez des couples en échecs répétés d'implantation embryonnaire. Dans ce but, ils ont mis au point un microscope en haute résolution permettant d'observer les spermatozoïdes à un grossissement de 6600 ×. La technique, appelée MSOME (*motile sperm organellar morphology examination*), consiste à noter tous les détails morphologiques (décrits en fonction d'observations préalables faites en microscopie électronique à transmission et à balayage) des spermatozoïdes mobiles en temps réel. L'observation porte sur six parties du spermatozoïde : acrosome, lamina postacrosomique, cou, mitochondries, flagelle, noyau. Pour le noyau, forme et taille sont notées, et une grande attention est portée à la tête du spermatozoïde : le nombre et la taille des « vacuoles » sont répertoriés. La tête d'un spermatozoïde est considérée comme normale si sa longueur est de  $4,75 \pm 0,28 \mu\text{m}$  et sa largeur de  $3,28 \pm 0,20 \mu\text{m}$ , et si les vacuoles occupent moins de 4 % de la surface nucléaire (spermatozoïde de premier choix). L'observation au fort grossissement permet donc non seulement de mieux voir la morphologie globale des spermatozoïdes, mais aussi de constater la présence de « vacuoles ou cratères » de taille et de localisation variables (Fig. 1). Si certaines de ces vacuoles pourraient correspondre à des variations physiologiques et/ou avoir une localisation membranaire ou acrosomique, d'autres, de grande taille et de localisation intranucléaire,



**Fig. 1** Spermatozoïdes humains observés au microscope inversé en contraste de Nomarski, 3300 ×. a : sans vacuole, 6600 × ; b : avec une petite vacuole (v) ; c : avec une grosse vacuole (v) ; d : avec plusieurs vacuoles (v)

seraient associées à des défauts d'organisation de la chromatine, donc de pronostic plus sévère [5–7]. Sur une série de 100 patients pour lesquels l'ICSI a été réalisée de façon conventionnelle, les spermatozoïdes mobiles non utilisés ont été soumis au MSOME (100 spermatozoïdes observés pour chaque patient). L'analyse des résultats montre que seul le pourcentage de noyaux spermatiques normaux est corrélié au taux de fécondation et au taux de grossesse. Dans cette série de patients, aucun des spermés contenant moins de 20 % de noyaux normaux n'a permis d'obtenir une grossesse [8].

L'application du MSOME en ICSI par Bartoov et al. [9] a donné naissance à l'IMSI (*intracytoplasmic morphologically selected sperm injection*). L'injection de spermatozoïdes ayant de grandes vacuoles est associée à une diminution des grossesses et à une augmentation des fausses couches précoces [10].

Tout naturellement, dans notre centre, les premiers patients inclus en IMSI ont été ceux présentant des échecs répétés d'implantation embryonnaire après ICSI conventionnelle, pour lesquels il est important d'essayer d'améliorer la prise en charge, si possible avant la dernière tentative remboursée par la sécurité sociale.

Les objectifs de l'étude sont :

- de rapporter l'évolution de la pratique de l'IMSI dans un centre de référence ;
- d'analyser la fréquence de sa pratique en fonction d'un certain nombre de caractéristiques de l'infertilité (rang, caractéristiques du sperme) ;
- de comparer les résultats observés (taux de fécondation, de grossesse et d'avortements spontanés) avec l'ICSI classique en fonction des mêmes caractéristiques, sur l'ensemble de la cohorte observationnelle, avec les limites connues de ce type de comparaison.

Par ailleurs, si l'IMSI peut apporter de meilleurs résultats chez les couples de mauvais pronostic, sélectionnés par

l'échec, il est légitime de se poser la question de savoir si, proposée en première intention chez des couples avec téra-tozoospermie sévère et/ou altération de l'ADN spermatique, elle ne pourrait pas leur permettre d'accéder plus rapidement à la parentalité et, ainsi, diminuer le nombre de stimulations ovariennes chez les femmes.

## Matériel et méthodes

### Patients

L'étude a concerné, dans un premier temps, la cohorte totale de couples pris en charge dans les centres cliniques d'AMP Pierre-Cherest et la Muette de janvier 2004 à juillet 2009 et traités par ICSI (avec ou sans IMSI) au laboratoire d'Eylau, soit 13 187 ponctions. L'analyse a ensuite été restreinte aux ponctions utilisant du sperme éjaculé, soit à 11 535 ponctions, dont 2 509 IMSI. L'IMSI est généralement proposée après un ou plusieurs échecs d'implantation embryonnaire ou, plus rarement, en raison d'une oligoasthénotérazoospermie (OAT) avec térazoospermie sévère (< 10 % de formes typiques selon la classification de David [11]) dans le spermogramme du bilan du patient, ou d'une augmentation de la fragmentation de l'ADN spermatique (% ADN fragmenté > 30 %) [12].

### Préparation du sperme

Après liquéfaction et évaluation des paramètres conventionnels du spermogramme, le sperme est déposé sur un gradient de densité deux couches (45–90 %) de PureSperm®100 (JCD, Lyon, France) et centrifugé pendant 20 minutes à 400 g. La fraction 90 est lavée avec une solution saline de tyrode par centrifugation à 400 g pendant dix minutes. Le culot de spermatozoïdes est de nouveau suspendu dans 200 à 500 µl de milieu BM1 (Eurobio, Les Ulis, France) et incubé à 37 °C dans une étuve à CO<sub>2</sub>, sous 5 % de CO<sub>2</sub> dans l'air.

### Déroulement de l'IMSI et de l'ICSI

Pour l'IMSI, une goutte de 4 µl de spermatozoïdes est déposée près d'une goutte de 5 µl de polyvinylpyrrolidone (PVP, Irvine Scientific France, Paris, France) ou d'acide hyaluronique (Spermcatch, JCD, Lyon, France) ; une communication est établie entre les deux gouttes et le tout est recouvert d'huile minérale. Les spermatozoïdes sont observés au contraste de Nomarski, sur un microscope inversé Olympus® IX70, dans une boîte WillCo-dish® (WillCoWells BV, Amsterdam, Pays-Bas) à fond de verre d'une épaisseur de 0,17 mm. On utilise un objectif à immersion 100 × haute performance lequel, avec le sélecteur de grossissement

(1,5 ×), nous donne un grossissement de 150 × sur le microscope. L'image obtenue au microscope est récupérée par une caméra vidéo de telle sorte que le grossissement final sur la vidéo soit de 6600 ×. Les spermatozoïdes de premier choix — forme normale et absence de vacuole (ou présence d'une petite) sur la tête (Fig. 1) —, selon la classification de Berkovitz et al. [13], sont injectés en priorité. Ils peuvent être préalablement triés et gardés dans une petite goutte de 2 µl de milieu BM1 avant l'injection ; ou bien triés et injectés simultanément.

Pour l'ICSI, les spermatozoïdes sont observés et choisis au grossissement 300 ×, en contraste interférentiel d'Hoffman ou de Nomarski.

### Analyse statistique

Après avoir calculé le taux d'IMSI sur l'ensemble de la population traitée par ICSI de 2004 à 2009, l'analyse a été restreinte aux ICSI avec sperme éjaculé frais. Elle a d'abord porté sur la fréquence de l'IMSI selon le rang de la ponction et la qualité du sperme. Celle-ci a été définie, selon les valeurs du spermogramme, en O, A, T et leurs associations (O : concentration < 20 millions par millilitre, A : mobilité totale < 40 %, T : formes normales < 10 %).

Puis, les résultats de l'IMSI ont été décrits en termes de taux de clivage à j2 par ovocyte injecté et de taux de grossesses cliniques par ponction, comparativement à l'ICSI habituelle. Ceux-ci ont été analysés de manière globale puis en prenant en compte la qualité du sperme et le rang de la technique. Le taux de fausses couches spontanées a ensuite été analysé globalement et en prenant en compte le sperme du bilan. La qualité embryonnaire a été analysée dans un sous-groupe. Les embryons ont été considérés de bonne qualité s'ils contenaient moins de 20 % de fragments. Les comparaisons ont été faites à l'aide de Chi<sup>2</sup> pour les variables qualitatives, et d'analyse de variance pour les variables quantitatives. Les Chi<sup>2</sup> ont été corrigés lorsque les effectifs calculés étaient inférieurs à cinq et éventuellement ajustés pour prendre en compte le niveau d'une covariable. L'analyse a été réalisée avec le logiciel SAS.

## Résultats

### Description de la cohorte

En 2004, l'activité d'IMSI débutait et n'a représenté que 1,8 % de l'ensemble de l'activité d'ICSI (Tableau 1). Puis, elle a augmenté pour se stabiliser entre 25 et 30 % de 2007 à 2009. Depuis 2006, les IMSI ont été pratiquées deux fois plus souvent chez des couples ayant déjà eu plusieurs tentatives d'AMP (Tableau 2), bien que 16 % des ICSI de rang 1 aient aussi été réalisées par IMSI. Elle a aussi été plus

	2004	2005	2006	2007	2008	2009
ICSI <sup>a</sup>	2 159	2 133	2 408	2 434	2 387	1 666
IMSI : <i>n</i>	40	261	452	729	615	441
Pourcentage	1,8	12,2	18,8	30,0	25,8	26,5

<sup>a</sup> Total, incluant les IMSI.

Rang	1	2	3	4	5	≥ 6
ICSI, total <sup>a</sup>	3 324	2 743	2 082	1 444	865	997
IMSI : <i>n</i>	532	439	479	418	274	325
Pourcentage	16,0	16,0	23,0	29,0	31,7	32,6

<sup>a</sup> IMSI incluses ; *p* < 0,001.

Sperme	O	A	T	OA	OT	AT	OAT	Normal
ICSI <sup>a</sup>	278	1 196	127	1 896	95	506	1 453	1 072
IMSI : <i>n</i>	69	360	31	508	30	174	468	265
Pourcentage	24,8	30,1	24,4	26,8	31,6	34,4	32,2	24,7

O : concentration < 20 millions par millilitre ; A : mobilité totale < 40 % ; T : formes normales < 10 %.

<sup>a</sup> IMSI incluses ; *p* < 0,001.

fréquemment pratiquée (Tableau 3) lorsque le sperme comportait l'association d'une tératospermie sévère (moins de 10 % de formes typiques) et d'une autre anomalie du spermogramme, oligozoospermie (< 20 millions de spermatozoïdes par millilitre) et/ou asthénozoospermie (moins de 40 % de spermatozoïdes mobiles). Au total, l'IMSI a été pratiquée dans 532 cas en première intention, dans 439 après un premier échec et dans 1 496 cas après échecs répétés.

### Résultats de l'IMSI selon le rang de la tentative

Nous n'avons pas observé de différence significative des taux de clivage à j2 et de grossesses cliniques entre les deux techniques, ICSI et IMSI, quel que soit le rang de la tentative (Tableau 4). On note simplement que le taux de grossesse diminue significativement avec le rang, de manière parallèle dans les deux techniques.

	Taux de clivage/ovocyte injecté ( <i>m</i> ± ET)			Grossesses cliniques (%)		
	IMSI	ICSI <sup>a</sup>	<i>p</i>	IMSI	ICSI <sup>a</sup>	<i>p</i>
Tous rangs ( <i>n</i> ponctions)	64,2 ± 25,1 (2 493)	63,7 ± 27,4 (8 695)	0,41	23,0 (2 510)	24,5 (9 082)	0,11
Rang 1 ( <i>n</i> ponctions)	66,5 ± 23,7 (528)	64,9 ± 26,3 (2 712)	0,20	29,3 (532)	27,8 (2 792)	0,46
Après 2 échecs d'ICSI ( <i>n</i> ponctions)	62,1 ± 25,6 (472)	62,8 ± 27,9 (1 250)	0,65	22,2 (473)	23,2 (1 325)	0,66
Après 3 échecs d'ICSI ( <i>n</i> ponctions)	62,7 ± 26,7 (371)	61,2 ± 29,1 (739)	0,40	19,7 (371)	21,2 (796)	0,54

<sup>a</sup> IMSI exclus.

**Tableau 5** Taux de clivage en IMSI et en ICSI selon les paramètres spermatiques évalués avant la tentative d'ICSI ou d'IMSI (ponctions avec sperme éjaculé frais)

	Au rang 1 ( $m \pm ET$ )			Après 2 échecs d'ICSI ( $m \pm ET$ )		
	IMSI	ICSI <sup>a</sup>	<i>p</i>	IMSI	ICSI <sup>a</sup>	<i>p</i>
Non O–non T ( <i>n</i> ponctions)	67,7 ± 26,2 (144)	69,2 ± 26,3 (360)	0,56	61,0 ± 30,2 (106)	68,2 ± 27,9 (210)	0,04
O–non T ( <i>n</i> ponctions)	67,3 ± 23,7 (90)	65,7 ± 26,6 (554)	0,56	64,2 ± 22,1 (132)	65,6 ± 27,8 (235)	0,60
T–non O ( <i>n</i> ponctions)	67,1 ± 24,3 (51)	70,2 ± 27,0 (172)	0,44	67,4 ± 23,9 (50)	63,0 ± 28,1 (48)	0,41
OT ( <i>n</i> ponctions)	65,3 ± 23,7 (118)	66,1 ± 26,1 (405)	0,75	59,9 ± 25,5 (87)	61,2 ± 27,9 (132)	0,72

O : oligospermie (< 20 millions/ml) ; T : tératospermie (< 10 % formes normales, classification de David).  
<sup>a</sup> IMSI exclus.

**Tableau 6** Taux de grossesses cliniques en IMSI et en ICSI selon le sperme du bilan (ponctions avec sperme éjaculé frais)

	Au rang 1 (%)			Après 2 échecs d'ICSI (%)		
	IMSI	ICSI	<i>p</i>	IMSI	ICSI	<i>p</i>
Non O–non T ( <i>n</i> ponctions)	22,9 (144)	30,0 (377)	0,11	20,6 (107)	20,4 (226)	0,97
O–non T ( <i>n</i> ponctions)	30,0 (90)	25,3 (565)	0,35	21,2 (132)	24,0 (254)	0,54
T–non O ( <i>n</i> ponctions)	37,7 (53)	26,1 (180)	0,10	28,0 (50)	30,0 (50)	0,83
OT ( <i>n</i> ponctions)	36,1 (119)	29,8 (426)	0,19	23,0 (87)	21,4 (145)	0,77

O : oligospermie (< 20 millions/ml) ; T : tératospermie (< 10 % formes normales, classification de David).  
*p* < 0,02 pour l'IMSI au rang 1 entre le groupe non O–non T et le regroupement des trois groupes O, T et OT.

**Tableau 7** Taux de fausses couches (%) en IMSI et en ICSI selon le sperme du bilan (ponctions avec sperme éjaculé frais)

	Non O–non T	O–non T	T–non O	OT
IMSI, % ( <i>n</i> grossesses)	26,1 (115)	20,4 (113)	16,1 (31)	11,5 (104)
ICSI, % ( <i>n</i> grossesses)	21,1 (279)	21,1 (298)	28,2 (71)	16,6 (205)
<i>p</i>	0,29	0,86	0,19	0,24

*p* = 0,08 en regroupant T et OT.

### Résultats de l'IMSI selon le sperme du bilan et le rang de ponction

Que l'on soit au rang 1 ou après deux échecs d'ICSI, nous n'avons pas observé de différence de taux de clivage à j2 entre l'ICSI et l'IMSI, quelle que soit la qualité du sperme du bilan (Tableau 5). On note par ailleurs que les résultats sont globalement inférieurs lorsqu'oligospermie et tératospermie sont associées. En revanche, pour les taux de grossesses, les résultats sont différents selon le rang (Tableau 6). Au rang 1, le taux de grossesses est légèrement, bien que non significativement, supérieur en ICSI lorsque le sperme est normal ( $p = 0,11$ ), mais est plus élevé en IMSI en cas d'anomalie, de manière significative si on regroupe les trois types d'anomalie (34,4 vs 27,1 %,  $p = 0,02$ ). Ces différences ne sont pas retrouvées après deux échecs d'ICSI, où les taux de grossesses des deux groupes sont très proches quel que soit le sous-groupe de qualité spermatique.

### Évolution des grossesses

Le taux de fausses couches ne présente pas de différence significative entre l'ICSI et l'IMSI dans chacun des groupes de qualité du sperme. Cependant, si l'on regroupe les tératozoospermies avec les oligotératozoospermies, le taux de fausses couches est plus faible en IMSI comparé à l'ICSI, de manière proche de la significativité ( $p = 0,08$ ) (Tableau 7).

### Qualité des embryons en IMSI vs ICSI chez les mêmes patients

La qualité embryonnaire a été analysée dans le sous-groupe de patientes prises en charge à la clinique Chérest, qui avaient bénéficié de l'IMSI après un ou plusieurs échecs d'ICSI dans notre centre. Deux sous-groupes ont été constitués, selon que les transferts avaient tous été réalisés à j2–j3 (29 patientes) ou tous à j5 (24 patientes). Dans le premier



sous-groupe, d'âge moyen de 34,4 ans (25 à 39) et dont le nombre moyen de tentatives d'ICSI est de 2,17 (1 à 5), le taux d'embryons de bonne qualité (< 20 % fragments) était comparable en IMSI et dans les cycles d'ICSI précédents (28,8 vs 27,5 %, NS). Dans le second sous-groupe, d'âge moyen de 34,5 ans (24–40) et dont le nombre moyen de tentatives est de 2,8 (1 à 4), le nombre de blastocystes obtenus et transférés est significativement plus élevé en IMSI qu'en ICSI (81,4 vs 58,6 % des embryons transférés,  $p < 0,01$ ).

## Discussion

Bien que plusieurs auteurs n'aient pas noté de relation entre le pourcentage de formes typiques dans le sperme et les résultats de l'ICSI, une analyse rétrospective de 1 667 cycles d'ICSI (1 393 transferts) a montré, dès 2003 [3], une baisse du taux de fécondation lorsque les spermatozoïdes injectés étaient jugés anormaux au grossissement habituel ( $\times 400$ ), par rapport à des spermatozoïdes normaux (60,7 vs 71,7 %), cela quelle que soit l'origine des spermatozoïdes (éjaculat, épидидyme, testicule). De même, les taux de grossesses et d'implantation étaient significativement plus élevés avec les spermatozoïdes normaux (36,7 vs 20,2 % et 18,7 vs 9,6 %). La présélection des spermatozoïdes sur leur morphologie paraît donc une étape cruciale de la procédure d'ICSI.

L'application du MSOME en ICSI [4], chez 24 couples en échecs répétés de cycles de FIV/ICSI ( $7,6 \pm 2,1$  cycles), a permis d'obtenir 14 grossesses sur 21 transferts d'embryons (58 %). Une étude portant sur 100 couples avec deux échecs d'ICSI, répartis en deux groupes, le premier ayant une troisième ICSI et le second une IMSI, a montré un taux de grossesses de 30 % en ICSI vs 66 % en IMSI [13]. Certes, une seule étude randomisée a montré la supériorité de l'IMSI sur l'ICSI, avec un taux de grossesses cliniques de 39,2 vs 26,5 % [14], mais pour d'autres auteurs, le bénéfice de l'IMSI semble plus évident pour les couples ayant eu au moins deux échecs d'implantation embryonnaire [14,15].

De plus, le transfert d'embryons obtenus par l'injection de spermatozoïdes de premier choix donne un taux de grossesses supérieur à celui observé lorsque les embryons transférés ont été obtenus avec des spermatozoïdes de second choix (46,2 vs 18,4 %), et les transferts composés d'embryons provenant de spermatozoïdes de premier choix et de second choix aboutissent à un résultat intermédiaire (26,5 %). Enfin, les patientes dont la grossesse a été obtenue avec des embryons conçus à partir de spermatozoïdes de second choix ont un taux de fausses couches très élevé (57,1 %) [13].

Dans notre étude, on ne trouve pas de différence significative ni pour les taux de fécondation ni pour les taux de grossesses entre les IMSI et les ICSI. En revanche, pour les

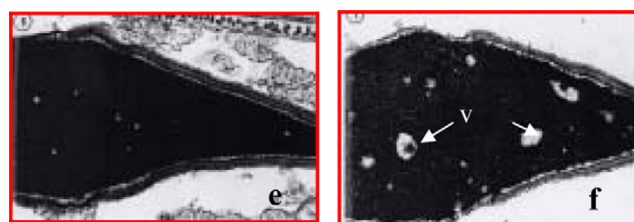
cycles de rang 1, si on regroupe les patients ayant une térazoospermie et/ou une oligozoospermie, le taux de grossesses cliniques par ponction est significativement plus élevé ( $p < 0,02$ ) en IMSI qu'avec l'ICSI. De plus, alors que, globalement, on ne constate pas de différence significative dans l'évolution des grossesses entre l'ICSI et l'IMSI, en présence d'une térazoospermie, l'IMSI donne moins de fausses couches que l'ICSI, cette différence étant proche de la significativité.

Certes, ce travail souffre des limites d'une étude observationnelle, et seule une étude randomisée, sur un grand échantillon, pourrait apporter de véritables preuves scientifiques. Cependant, les difficultés de mettre en place une telle étude sont bien connues, et la publication de résultats observés sur une grande cohorte, même non randomisée, peut être considérée comme une étape préalable indispensable à la réalisation d'un véritable essai. Elle permet aussi de rassurer les praticiens et les patients sur l'innocuité apparente de la technique.

Comme cela a déjà été rapporté [16,17], l'IMSI permet d'obtenir plus d'embryons capables d'évoluer jusqu'au stade blastocyste que l'ICSI, et l'obtention de bons blastocystes dépend du grade du spermatozoïde injecté. Les spermatozoïdes ayant de zéro à deux petites vacuoles donnent un nombre et une qualité de blastocystes significativement meilleurs que les spermatozoïdes multivacuolés ou à larges vacuoles. La culture prolongée met en évidence l'impact négatif des vacuoles sur le développement embryonnaire, et cela même si on ne voit pas de différence dans l'aspect morphologique des embryons à j2 et j3 entre l'ICSI et l'IMSI. Cela suggère un effet paternel non visible jusqu'à j3, mais qui s'exprimerait après lors de l'activation du génome embryonnaire [18].

Plusieurs études rapportent une corrélation entre des défauts de la chromatine et la présence des vacuoles [6,7,9,13]. L'ADN fragmenté des spermatozoïdes a un impact négatif sur le développement embryonnaire tardif [19] et pourrait avoir des effets à long terme sur la santé des individus comme cela a été décrit chez la souris [20].

Alors que certaines vacuoles d'origine nucléaire ont déjà été décrites en microscopie électronique à transmission [21] (Fig. 2), d'autres seraient plutôt d'origine acrosomique [22].



**Fig. 2** Coupes de spermatozoïdes humaines observées en microscopie électronique à transmission d'après Bedford et al. [21]. e : chromatine bien condensée ; f : chromatine avec vacuoles (v)

Dans ce cas, l'injection de spermatozoïde dépourvu de vacuoles signifierait que le spermatozoïde a fini sa réaction acrosomique. Le taux de naissances vivantes chez l'homme semble être augmenté grâce à l'injection de spermatozoïdes « acrosome réagi » [23,24], comme cela avait déjà été montré chez d'autres espèces (souris, hamster) pour lesquelles l'acrosome, plus grand, doit être retiré avant l'injection pour obtenir des fécondations et des naissances.

## Conclusion

Mieux évaluer la morphologie des spermatozoïdes injectés ne peut pas nuire et rassure l'opérateur au moment de l'injection. Pour autant, il est important de définir de nouveaux critères d'évaluation des spermatozoïdes afin de sélectionner les couples auxquels proposer une IMSI plus efficiente que l'ICSI. En présence d'une tératozoospermie sévère, l'IMSI semble augmenter les taux de grossesses et diminuer les taux de fausses couches. Cependant, compte tenu de la lourdeur de la technique, il est difficile de proposer une IMSI à tous les couples candidats à l'ICSI. Une approche plus précise du pouvoir fécondant du spermatozoïde par le MSOME couplé à des tests comme le marquage de l'acrosome, la fragmentation de l'ADN, la décondensation de la chromatine, la FISH, pourrait permettre d'identifier des tératozoospermies plus sévères que d'autres et d'améliorer la prise en charge des couples concernés, dès la première ou la seconde tentative de micro-injection.

**Conflit d'intérêt :** les auteurs déclarent ne pas avoir de conflit d'intérêt.

## Références

- Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC (1992) Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 340:17–8
- Nagy ZP, Liu J, Joris H, et al (1995) The result of intracytoplasmic sperm injection is not related to any of the three basic sperm parameters. *Hum Reprod* 10:1123–9
- De Vos A, Van De Velde H, Joris H, et al (2003) Influence of individual sperm morphology on fertilization, embryo morphology, and pregnancy outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 79:42–8
- Bartoov B, Berkovitz A, Eltes F (2001) Selection of spermatozoa with normal nuclei to improve the pregnancy rate with intracytoplasmic sperm injection. *N Engl J Med* 345:1067–8
- Franco JG Jr, Baruffi RL, Mauri AL, et al (2008) Significance of large nuclear vacuoles in human spermatozoa: implications for ICSI. *Reprod Biomed Online* 17:42–5
- Garolla A, Fortini D, Menegazzo M, et al (2008) High-power microscopy for selecting spermatozoa for ICSI by physiological status. *Reprod Biomed Online* 17:610–6
- Travers A, Perdrix A, Gruel E, et al (2009) Caractérisation des vacuoles observées dans les spermatozoïdes de type 3 au grossissement 6600. 14<sup>es</sup> Journées de la FFER, 18 au 20 novembre 2009, Clermont-Ferrand, poster n° 21
- Bartoov B, Berkovitz A, Eltes F, et al (2002) Real-time fine morphology of motile human sperm cells is associated with IVF-ICSI outcome. *J Androl* 23:1–8
- Bartoov B, Berkovitz A, Eltes F, et al (2003) Pregnancy rates are higher with intracytoplasmic morphologically selected sperm injection than with conventional intracytoplasmic injection. *Fertil Steril* 80:1413–9
- Berkovitz A, Eltes F, Ellenbogen A, et al (2006) Does the presence of nuclear vacuoles in human sperm selected for ICSI affect pregnancy outcome? *Hum Reprod* 21:1787–90
- World Health Organization (1992) WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 3rd edn. Cambridge University Press, Cambridge
- Cohen-Bacrie P, Belloc S, Ménézou YJ, et al (2009) Correlation between DNA damage and sperm parameters: a prospective study of 1,633 patients. *Fertil Steril* 91:1801–5
- Berkovitz A, Eltes F, Yaari S, et al (2005) The morphological normalcy of the sperm nucleus and pregnancy rate of intracytoplasmic injection with morphologically selected sperm. *Hum Reprod* 20:185–90
- Antinori M, Licata E, Dani G, et al (2008) Intracytoplasmic morphologically selected sperm injection: a prospective randomized trial. *Reprod Biomed Online* 16:835–41
- Kulski O, Plachot M, Mayenga JM, et al (2009) Bénéfice de l'IMSI après échecs de 2 ICSI ? 14<sup>es</sup> Journées de la FFER, 18 au 20 novembre 2009, Clermont-Ferrand, poster n° 9.
- Cassuto NG, Bouret D, Plouchart JM, et al (2009) A new real-time morphology classification for human spermatozoa: a link for fertilization and improved embryo quality. *Fertil Steril* 92:1616–25
- Vanderzwalmen P, Hiemer A, Rubner P, et al (2008) Blastocyst development after sperm selection at high magnification is associated with size and number of nuclear vacuoles. *Reprod Biomed Online* 17:617–27
- Tesarik J (2005) Paternal effects on cell division in the human preimplantation embryo. *Reprod Biomed Online* 10:370–5
- Tesarik J, Greco E, Mendoza C (2004) Late, but not early, paternal effect on human embryo development is related to sperm DNA fragmentation. *Hum Reprod* 19:611–5
- Fernández-Gonzalez R, Moreira PN, Pérez-Crespo M, et al (2008) Long-term effects of mouse intracytoplasmic sperm injection with DNA-fragmented sperm on health and behaviour of adult offspring. *Biol Reprod* 78:761–72
- Bedford JM, Bent MJ, Calvin H (1973) Variations in the structural character and stability of the nuclear chromatin in morphologically normal human spermatozoa. *J Reprod Fert* 33:19–29
- Kacem O, Sifer C, Barraud-Lange V, et al (2010) Sperm nuclear vacuoles, as assessed by motile sperm organellar morphological examination, are mostly of acrosomal origin. *Reprod Biomed Online* 20:132–7
- Gianaroli L, Magli MC, Collodel G, et al (2008) Sperm head's birefringence: a new criterion for sperm selection. *Fertil Steril* 90:104–12
- Gianaroli L, Magli MC, Ferraretti AP, et al (2010) Birefringence characteristics in sperm heads allow for the selection of reacted spermatozoa for intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 93:807–13