

Le Journal Officiel

Lois et Décrets

Ministère de l'emploi et de la solidarité

Arrêté du 12 janvier 1999 relatif aux règles de bonnes pratiques cliniques et biologiques en assistance médicale à la procréation modifié par Arrêtés du 10 mai 2001 et du 19 juillet 2002 abrogé par Arrêté du 11 avril 2008.

NOR : MESP9920284A

Le secrétaire d'Etat à la santé et à l'action sociale,

Vu le code de la santé publique, et notamment les articles L. 184-1, L. 673-5, R 184-1-11 ;

Vu l'avis de la Commission nationale de médecine et de biologie de la reproduction et du diagnostic prénatal,

Arrête :

Art. 1er. - Les règles de bonnes pratiques que doivent respecter les établissements de santé, les laboratoires d'analyses de biologie médicale et les organismes autorisés à pratiquer une ou plusieurs activités d'assistance médicale à la procréation définies à l'article R. 152-9-1 du code de la santé publique ou les activités de recueil, traitement, conservation et cession de gamètes issus de dons prévues à l'article L. 673-5 du code de la santé publique sont énoncées dans le guide de bonnes pratiques cliniques et biologiques en assistance médicale à la procréation, figurant en annexe du présent arrêté.

Art. 2. - Le directeur général de la santé et le directeur des hôpitaux sont chargés, chacun en ce qui le concerne, de l'exécution du présent arrêté, qui sera publié au Journal officiel de la République française.

Fait à Paris, le 12 janvier 1999.

Bernard Kouchner

ANNEXE

GUIDE DE BONNES PRATIQUES CLINIQUES ET BIOLOGIQUES EN ASSISTANCE MEDICALE A LA PROCREATION (AMP)

Commission nationale de médecine et de biologie de la reproduction et du diagnostic prénatal

1. Dispositions communes à l'ensemble des pratiques d'AMP

1.1. Fonctionnement et organisation des centres

1.1.1. Organisation

Les actes cliniques ou biologiques d'AMP sont effectués sous la responsabilité d'un ou plusieurs praticiens nommément agréés pour une ou plusieurs des activités cliniques ou biologiques.

Dans le cas où plusieurs praticiens sont agréés pour les activités cliniques, ils désignent parmi eux un coordinateur. Il en est de même pour les activités biologiques. Dans le cas où un seul praticien est agréé, il assure cette tâche.

Le coordinateur :

- veille au respect des dispositions législatives et réglementaires qui s'attachent à ces activités ;
- établit le rapport d'activité prévu à l'article L. 184-2 du CSP ;
- veille à l'animation de l'équipe ;
- veille également à ce que le personnel qui participe à la mise en oeuvre de l'AMP dispose des compétences spécifiques nécessaires. Ces compétences doivent être régulièrement actualisées par des formations appropriées.

L'ensemble des cliniciens et biologistes participant à l'activité d'AMP constituent une équipe pluridisciplinaire, tel qu'il est mentionné à l'article L. 152-10 du CSP, équipe à laquelle doivent s'adjoindre, en tant que de besoin, un psychiatre ou un psychologue, un généticien et un andrologue. Elle a pour rôle, outre les missions mentionnées à l'article L. 152-10 (vérification de la motivation et information des couples), de discuter préalablement à toute AMP, au cours de réunions régulières : son indication, les protocoles de stimulation, le choix de la technique d'AMP.

Doivent aussi être discutés, si nécessaire, la poursuite, la modification ou l'arrêt du protocole d'AMP en cours.

De manière plus générale, le rôle de l'équipe pluridisciplinaire comprend également : l'organisation générale des activités, les orientations thérapeutiques et la discussion des problèmes éthiques.

Un compte rendu de chaque réunion sera établi et conservé au moins 3 ans. Les décisions individuelles seront consignées dans le dossier médical des patients.

Aucun patient ne peut être pris en charge en vue d'AMP dans les établissements autorisés sans cette évaluation préalable par l'équipe pluridisciplinaire. Ces dispositions s'appliquent à l'ensemble des actes d'AMP, y compris l'IAC.

Dans le cadre de l'IAC, la concertation implique, au minimum, le biologiste agréé et le correspondant clinique.

1.1.2. Conditions techniques de fonctionnement

Locaux

a) Toute structure clinique autorisée à pratiquer les activités cliniques d'AMP doit comprendre au minimum (R. 184-1-5 du CSP) :

- une pièce pour les entretiens avec les couples ;
- un bloc opératoire ;
- une salle de ponction située à proximité du bloc opératoire et équipée d'un matériel permettant la pratique d'une anesthésie générale et d'une réanimation en cas de besoin ;
- une pièce destinée au transfert des embryons ;
- une salle de réveil conforme au décret no 94-1050 du 5 décembre 1994 relatif aux conditions techniques de fonctionnement des établissements de santé en ce qui concerne la pratique de l'anesthésie ;
- des lits d'hospitalisation.

b) Tout laboratoire autorisé à pratiquer les activités biologiques d'AMP doit comprendre au minimum, en fonction des activités pour lesquelles il est autorisé (R. 184-1-9 du CSP) :

Pour l'ensemble des activités biologiques d'AMP :

- une pièce exclusivement affectée au recueil de sperme. Cette pièce doit être équipée d'un lavabo équipé d'un dispositif automatique permettant l'arrivée d'eau sans intervention manuelle, et de dispositifs permettant d'assurer l'hygiène du recueil, avec affichage des procédures. La pièce doit offrir toutes les garanties de confidentialité ;
- une pièce exclusivement affectée au traitement des gamètes en vue d'AMP ; cette pièce ne peut en aucun cas être utilisée pour des analyses de biologie médicale, y compris pour la spermologie. Lorsque sont effectuées des activités de FIV, la pièce doit être équipée d'un sas.

Pour les activités de conservation de gamètes et d'embryons :

- une pièce exclusivement affectée à cette activité ; cette pièce doit être équipée d'un dispositif d'extraction de vapeur d'azote. Elle doit être également équipée d'une protection contre le vol.

En outre, il est recommandé de disposer d'une pièce pour les entretiens avec les couples et

d'un bureau de secrétariat et d'archives.

Les locaux doivent être de taille suffisante au regard de l'activité.

Matériel

a) Toute structure de gynécologie ou gynécologie-obstétrique autorisée à pratiquer le recueil par ponction d'ovocytes doit être équipée dans ses locaux, au minimum, du matériel suivant :

- un échographe de haute définition avec sonde vaginale (R. 184-1-5 du CSP) ;
- un matériel de ponction et recueil ovocytaire à usage unique, la sonde étant protégée de manière efficace sur toute sa longueur afin d'assurer la sécurité sanitaire ;
- un système permettant le maintien des prélèvements à 37 °C jusqu'à leur arrivée au laboratoire.

b) Toute structure autorisée à pratiquer le recueil par ponction de spermatozoïdes doit être équipée, au minimum, du matériel suivant :

- un matériel de ponction à usage unique ;
- un système permettant le maintien des prélèvements entre 20 °C et 35 °C jusqu'à leur arrivée au laboratoire.

c) Tout laboratoire autorisé à pratiquer les activités biologiques d'AMP doit être équipé, au minimum, du matériel suivant :

Pour le traitement du sperme en vue d'insémination :

- un matériel permettant des conditions d'asepsie rigoureuse (hotte à flux laminaire ou matériel équivalent) ;
- une centrifugeuse ;
- un microscope ;
- une étuve ou un bain-marie à 37 °C.

Pour la fécondation in vitro :

Outre le matériel nécessaire pour le traitement du sperme en vue d'insémination :

- un microscope inversé avec platine chauffante ou enceinte thermostatée à 37 °C ;
- un stéréomicroscope équipé de platine et plateau chauffant, thermostatés à 37 °C ;
- une étuve à CO² ;
- pour la FIV avec micromanipulation, un dispositif de

micromanipulation adapté sur le microscope inversé.

Pour la congélation et la conservation du sperme :

- une cuve de stockage des paillettes de sperme dans l'azote liquide équipée de visotubes et canisters ou équivalent ;
- une réserve d'azote liquide avec dispositif de remplissage des cuves.

En outre, il est souhaitable, en cas d'activité importante, que le laboratoire dispose d'appareils permettant le conditionnement automatique du sperme en paillettes et la congélation programmée du sperme dans les vapeurs d'azote.

Pour la congélation et la conservation des embryons :

- un appareil permettant la congélation programmée des embryons dans les vapeurs d'azote ;
- une cuve de stockage des paillettes contenant les embryons ; cette cuve doit être exclusivement affectée à cet usage ;
- une cuve d'azote de dépannage afin d'assurer la sécurité en cas d'incident technique.

Règles d'hygiène et de sécurité au laboratoire

a) L'ensemble du petit matériel en contact avec les gamètes et les embryons doit être à usage unique. Lorsqu'il est fourni non stérile, il doit être stérilisé. Les modalités de la stérilisation doivent faire l'objet d'une procédure écrite et validée.

b) Les milieux de culture et réactifs dont l'utilisation est décrite au chapitre 2.2.2, préparés ou reconstitués au laboratoire, doivent porter la date de leur préparation et celle de leur péremption. Les réactifs d'origine industrielle doivent comporter la date de leur réception au laboratoire et, le cas échéant, la date limite d'utilisation. Ils doivent être conservés dans des conditions appropriées, respectant les normes indiquées par les fabricants. La date de péremption des milieux et réactifs doit être vérifiée une fois par mois. La date de la dernière vérification doit être notée dans le cahier de préparation. Les réactifs périmés seront éliminés.

c) Les appareils utilisés doivent être régulièrement et efficacement nettoyés, décontaminés, entretenus et contrôlés. L'ensemble de ces opérations ainsi que les visites d'entretien réalisées par le constructeur ou par un organisme de maintenance doivent être notés dans un document affecté à chaque appareil. Des procédures de secours doivent être prévues en cas de panne ou de dysfonctionnement, notamment l'accès à la cuve de dépannage, préalablement identifiée, pour la conservation des gamètes et des embryons. Le matériel doit être renouvelé régulièrement en fonction de son obsolescence et de son usure.

d) Dans le cadre des précautions « universelles » à respecter pour les laboratoires travaillant sur des prélèvements humains, définies par le CDC d'Atlanta (MMWR no 2 spécial, 1987), le personnel du laboratoire doit suivre les règles suivantes :

- port de gants pour toutes les manipulations de produits humains, à changer chaque fois que nécessaire et nécessairement entre deux patients ;
- port de masque pendant les manipulations ;
- lavage des mains et de la peau immédiat en cas de projection ;
- prévention des piqûres et coupures (collecteurs, interdiction de reboucher les aiguilles).

Il est rappelé que la vaccination du personnel du laboratoire contre l'hépatite B est obligatoire.

e) Les locaux doivent faire l'objet d'un nettoyage et d'une désinfection efficaces quotidiens afin d'éviter tout risque de contamination. Les procédures d'entretien doivent être décrites et notées sur un cahier spécifique. Les produits utilisés à cet effet doivent être non toxiques.

1.1.3. Documents. - Dossier médical

L'équipe clinique et l'équipe biologique doivent être chacune en possession des pièces exigées avant le recours à l'AMP. En outre, l'équipe clinique doit disposer d'un résumé du dossier biologique et l'équipe biologique d'un résumé du dossier clinique. Ces dossiers doivent être conservés pendant une durée minimale de trente ans.

Ce dossier comprend :

- les pièces exigées avant le recours à l'AMP ;
- les éléments cliniques et biologiques communs à toute AMP ;
- les éléments cliniques et biologiques spécifiques de chaque AMP ;
- le double d'un compte rendu de la tentative remis aux patients.

Les règles concernant le contenu et la conservation du dossier du donneur ou de la donneuse sont traitées en 3.2.3.

Les pièces exigées avant le recours à l'AMP (L. 152-2 du CSP) sont :

- un justificatif du mariage ou d'une durée de vie commune d'au moins deux ans ;
- le consentement écrit du couple préalable à la mise en oeuvre de l'AMP, et renouvelé avant chaque transfert d'embryons ou chaque insémination.

Les éléments cliniques et biologiques communs à toute AMP sont :

- l'indication de l'AMP, accompagnée des éléments qui ont permis de l'établir ;

- les résultats des tests relatifs à la sécurité sanitaire ;
- le détail de l'ensemble des traitements administrés et la réponse ovarienne à la stimulation ;
- les techniques détaillées d'AMP utilisées à chaque étape ;
- en cas de grossesse, une information sur l'évolution de celle-ci et sur l'état de santé du ou des nouveau-nés.

Les éléments cliniques et biologiques de l'IAC sont :

- la détermination du moment estimé de l'ovulation ;
- les paramètres du sperme utilisé pour l'insémination, et notamment le nombre de spermatozoïdes mobiles inséminés ;
- la date et l'heure du recueil de sperme, de sa préparation et de l'insémination.

Les éléments cliniques et biologiques de la FIV sont :

- la date de la ponction (et son compte rendu) et le nombre d'ovocytes recueillis et inséminés ;
- la qualité ovocytaire (éventuellement atrésie, zone pellucide endommagée) ;
- les techniques spécifiques éventuellement mises en oeuvre (micromanipulation, coculture, éclosion assistée, etc.) ;
- le nombre de spermatozoïdes utilisés pour l'insémination in vitro ;
- le nombre d'ovocytes fécondés le lendemain de l'insémination, incluant les éventuelles fécondations anormales ;
- le nombre et la morphologie des embryons obtenus et leur stade de développement, le surlendemain de l'insémination et au moment du transfert, si celui-ci est différé ;
- la date et le nombre d'embryons transférés ;
- le nombre d'embryons congelés ;
- le compte rendu de la tentative doit comprendre au minimum le nombre d'ovocytes recueillis, inséminés, le nombre d'embryons total obtenus, transférés et congelés.

Registres et relevés chronologiques

Ces documents doivent être conservés dans le respect de la confidentialité. Ils doivent être reliés et numérotés. Ils doivent être gardés à proximité des locaux où sont réalisées les diverses activités qu'ils concernent (laboratoire de FIV, lieu de conservation des gamètes et embryons).

a) Relevé des activités cliniques :

Les établissements de santé doivent noter sur un registre toutes les prises en charge pour FIV, dès le début des cycles de stimulation, les causes d'arrêt éventuelles, la date de la ponction, le résultat de la tentative et l'issue de la grossesse.

b) Relevé chronologique des tentatives d'AMP :

Etabli par les biologistes, il doit comporter au minimum la date de l'AMP (date de l'insémination pour les IAC, date de la ponction d'ovocytes pour les FIV), l'identité du couple, le nom du centre clinique, la qualité des intervenants, la technique d'AMP mise en oeuvre et les milieux produits et matériels utilisés ainsi que le résultat de la tentative, cela afin d'obtenir la traçabilité des procédures mises en oeuvre pour chaque tentative.

c) Registre de conservation des gamètes :

Son contenu est précisé à l'article R. 184-2-1 du CSP. Chaque registre doit mentionner l'identité de la personne à l'origine des gamètes (nom du patient en cas d'autoconservation, code d'identification du donneur en cas de don), les lieux et dates de congélation des gamètes. Il comporte aussi les indications précises du lieu de conservation des gamètes dans la cuve affectée à cet effet. Enfin, il doit préciser les dates et les modes d'utilisation des gamètes, et, le cas échéant, l'identité du couple destinataire du don de gamètes.

d) Registre de conservation des embryons :

Son contenu est fixé par l'article R. 184-2-2 du CSP. Chaque registre doit mentionner l'identité du couple à l'origine de l'embryon (et, le cas échéant, le code d'identification du donneur de gamètes), le lieu et les dates de fécondation et de congélation et, le cas échéant, le lieu de conservation antérieur.

Pour chaque couple, il convient de noter le nombre d'embryons conservés, les indications précises du lieu de conservation des embryons dans la cuve affectée à cet effet et les informations relatives au devenir de tous les embryons (date de décongélation, date de transfert, aspect morphologique à la décongélation, date d'arrêt éventuel de la conservation) ainsi que le résultat de tous les transferts.

Enfin, il est nécessaire d'y faire figurer les dates des relances effectuées auprès des couples sur le point de savoir s'ils maintiennent leur demande parentale, et le résultat de celles-ci.

e) Cahier de procédures :

Un cahier de procédures est mis en place dans chaque unité clinique et laboratoire. Les procédures, tenues à jour, sont dactylographiées, datées et validées par le ou les responsables agréés, et signées par l'ensemble des intervenants.

1.1.4. Confidentialité et sécurité. - Locaux, documents

La pièce affectée à la conservation des gamètes et des embryons, ainsi que celle contenant les registres, doit être équipée d'une protection contre le vol. L'accès à ces locaux est placé sous la responsabilité des praticiens agréés. Les procédures de sécurité concernant la pièce affectée à la conservation des gamètes et des embryons sont écrites.

Les documents réglementaires sont gardés dans des conditions de sécurité garantissant une conservation de longue durée.

La communication d'éléments concernant les dossiers est placée sous la responsabilité des cliniciens et biologistes agréés.

Informatique

Les ordinateurs contenant les données nominatives ne doivent pas être reliés à un système extérieur à l'établissement, sauf accord de la Commission nationale Informatique et liberté (CNIL). L'accès aux informations nominatives est placé sous la responsabilité des responsables agréés et réservé aux personnes autorisées par le biais de codes d'accès confidentiels.

Des procédures sont écrites pour notifier les modalités d'introduction ou de modification des données nominatives ainsi que leur consultation. Il est indispensable de disposer d'une double conservation des données.

1.2. Etapes préalables à la mise en oeuvre de l'AMP

La décision d'AMP ne devra être prise qu'après avoir effectué un bilan médical complet du couple et après l'avoir informé, le cas échéant, d'autres possibilités thérapeutiques ainsi que de la faculté de recourir à l'adoption.

1.2.1. Cadre légal de l'AMP (art. L. 152-2 CSP)

L'AMP doit toujours répondre à une demande parentale, pour remédier à une infertilité dont le caractère pathologique a été médicalement constaté ou pour éviter la transmission à l'enfant d'une maladie d'une particulière gravité. Cette dernière indication correspond principalement à l'AMP avec don de gamètes, à l'accueil d'embryon ou à la FIV avec diagnostic pré-implantatoire si la maladie est considérée de plus comme incurable. Aucune AMP ne peut être réalisée pour des raisons de convenance personnelle.

La prise en charge ne peut concerner qu'un couple formé d'un homme et d'une femme, en âge de procréer.

Le couple doit être marié ou en mesure d'apporter la preuve d'une vie commune depuis au moins deux ans. Il appartient à l'équipe médicale de demander la production des documents attestant de l'identité des deux membres du couple, de la réalité du mariage (livret de famille, fiche récente d'état civil) ou de la durée de vie commune (par tout moyen).

Les deux membres du couple doivent être vivants au moment de la réalisation de l'AMP (insémination ou transfert d'embryon). En pratique, le respect de cette condition est assuré par l'exigence d'un double consentement signé au moment de chacune de ces opérations.

1.2.2. Indications et diagnostic

Lorsqu'elle a pour but de remédier à l'infertilité, l'AMP est réservée à des couples pour lesquels les chances de fécondation naturelle sont nulles ou très faibles. Certaines indications sont absolues, comme l'absence ou l'occlusion bilatérale des trompes (FIV conventionnelle) ou les stérilités masculines par azoospermie (ICSI, IAD).

En revanche, certaines indications sont relatives, notamment toutes celles qui correspondent à une simple hypofertilité, et doivent être jugées en fonction du bilan diagnostique, de l'âge des patients et de la durée d'infécondité. Il en est ainsi des altérations tubaires, des anomalies du spermogramme, des anticorps antispermatozoïdes, de l'endométriose, des anomalies de la glaire cervicale et des infécondités sans cause diagnostiquée (idiopathiques).

En cas d'indication relative, il est recommandé d'observer un délai raisonnable avant la mise en oeuvre de l'AMP, délai dont l'importance dépend de l'âge des patients et du temps écoulé depuis qu'ils essaient d'obtenir une grossesse. En effet, dans ce cas, la plus grande partie des couples concevront spontanément. Il n'est de ce fait pas raisonnable de proposer une FIV à un couple dont la femme a moins de trente-cinq ans sans une durée d'infécondité d'au moins deux ans. Ce délai peut être raccourci ensuite. Cependant, compte tenu de la faible efficacité des techniques au-delà de trente-sept ans, il est recommandé de ne prendre en charge des femmes plus âgées que dans les cas où la fonction ovarienne a été jugée satisfaisante.

En ce qui concerne l'exploration de l'infécondité, il est inutile d'observer un délai d'attente avant de la mettre en oeuvre si l'anamnèse fait envisager l'existence de troubles de la fertilité.

Explorations préalables :

La réalisation d'une AMP chez un couple infertile ne peut être envisagée sans un bilan comprenant au moins les examens suivants :

- examen clinique complet des deux partenaires ;
- exploration du cycle comprenant au minimum une courbe de température et un dosage de FSH et oestradiol en début de cycle (J 2 à J 5) ;
- hystérosalpingographie ;
- spermogramme, spermocytogramme, spermoculture.

Ce bilan minimum pourra être complété en fonction du contexte clinique, afin de mieux cerner le diagnostic, le pronostic de fertilité, l'attitude thérapeutique à adopter.

La constatation d'une anomalie du spermogramme selon les critères de l'OMS (concentration inférieure à 20 millions/ml, mobilité totale inférieure à 40 % ou mobilité progressive inférieure

à 25 %, taux de formes normales inférieur à 30 %) doit orienter vers l'exploration andrologique.

En cas d'azoospermie ou d'oligozoospermie sévère faisant envisager une ICSI, il est nécessaire de disposer d'un bilan spermatique approfondi comportant au moins un test de migration - survie indiquant le nombre total de spermatozoïdes mobiles et vivants au recueil et après vingt-quatre heures d'incubation. D'autres explorations sont à prévoir en fonction du contexte clinique. Une enquête génétique est indispensable dans la plupart des cas.

A l'issue de ce bilan, une stratégie thérapeutique pourra être proposée : technique retenue, nombre total de tentatives, alternatives en cas d'échec.

1.2.3. Entretiens du couple demandeur avec l'équipe médicale pluridisciplinaire (art. L. 152-10 CSP)

Préalablement à la mise en oeuvre de l'AMP, le couple demandeur doit rencontrer un clinicien et un biologiste de l'équipe pluridisciplinaire. Il doit pouvoir également, sur sa demande ou celle des praticiens, rencontrer tout autre membre de l'équipe, y compris le médecin qualifié en psychiatrie ou le psychologue dont l'établissement s'assure le concours. Il peut être fait appel en cas de besoin à un service social.

a) Information du couple :

Une information claire, précise et adaptée doit être donnée au couple au cours de ces entretiens sur la cause de son infécondité ainsi que sur le choix de la ou des techniques envisagées. Chaque technique doit être présentée avec ses chances de succès pour le couple, sa pénibilité ainsi que les contraintes, notamment d'ordre matériel, financier ou psychologique, qu'elle peut entraîner. Doivent être exposés les risques potentiels à court et à long terme, liés notamment à la stimulation ovarienne, au geste chirurgical, aux techniques biologiques utilisées ainsi que le risque de grossesses multiples. Une information sur les éventuelles solutions alternatives devra être délivrée : chances de concevoir spontanément, chirurgie des trompes ou des voies excrétrices masculines. De même, l'éventualité de devoir arrêter la prise en charge devra être envisagée d'emblée.

Une information doit aussi être délivrée sur les possibilités ouvertes par l'adoption (conditions légales, modalités pratiques, adresse des organismes).

Le couple doit être informé de l'état actuel et encore limité des connaissances concernant l'état de santé des enfants nés après AMP. Le praticien doit encourager le couple à participer aux études épidémiologiques qui pourront lui être proposées.

La remise d'un dossier-guide explicatif devra compléter ces informations.

b) Vérification de la motivation du couple :

Le praticien s'assure de la réalité du désir d'enfant chez la femme et chez l'homme. Il vérifie l'absence d'obstacle grave à la mise en oeuvre de l'AMP dans l'intérêt de l'enfant à naître. Si nécessaire, après entretien avec le psychiatre ou le psychologue et concertation au sein de l'équipe, la mise en oeuvre de l'AMP pourra être différée.

c) Confirmation de la demande :

L'AMP ne peut être mise en oeuvre sans que les deux membres du couple aient confirmé par écrit leur demande. Cette confirmation ne peut intervenir qu'à l'issue d'un délai d'un mois à compter du dernier entretien.

1.2.4. Tests de sécurité sanitaire

a) AMP intraconjugale :

Une bonne pratique médicale implique la réalisation de certains tests sanitaires avant la mise en oeuvre d'une AMP intra-conjugale pour éviter le risque de contamination de prélèvements d'autres couples, du personnel et de l'enfant à naître. Il est nécessaire de rechercher des marqueurs biologiques d'infection et, lorsque cela est techniquement possible, d'infectivité par VIH 1, VIH 2, les virus des hépatites B et C et la syphilis chez les deux membres du couple. Cette recherche doit être réalisée avant la première tentative et, pour les autres tentatives, si le délai depuis la dernière détermination est supérieur à douze mois.

En ce qui concerne l'infection par le VIH, la prise en charge des couples ne peut se faire que dans le cadre d'un protocole de recherche clinique pluridisciplinaire relevant des prescriptions de la loi Huriet comprenant l'avis d'un CCPPRB et validé par la CNMBRDP.

En ce qui concerne le virus de l'hépatite B, si l'homme est porteur de l'antigène HBS, il conviendra de vacciner la conjointe séronégative préalablement à toute AMP. Si la femme est porteuse de l'antigène HBS, l'AMP est possible, mais le couple doit être averti de la nécessité de réaliser la sérovaccination spécifique de l'enfant à la naissance.

En cas de séropositivité avec virémie de l'un ou l'autre ou des deux membres du couple vis-à-vis de l'hépatite C, la prise en charge des couples est uniquement possible dans le cadre d'un protocole de recherche clinique pluridisciplinaire, relevant des prescriptions de la loi Huriet comprenant l'avis d'un CCPPRB et validé par la CNMBRDP.

En cas de séropositivité pour la syphilis, l'AMP doit être précédée d'un traitement spécifique.

b) AMP avec don :

Des règles de sécurité sanitaire sont obligatoires (art. R. 673-5-10 à R. 673-5-13 du CSP) pour le recueil et l'utilisation de gamètes humains provenant de dons en vue de la mise en oeuvre d'une assistance médicale à la procréation. Un certain nombre d'analyses de biologie médicale doivent être pratiquées chez le donneur de gamètes avant le don, à la recherche

des marqueurs biologiques d'infection et, lorsque cela est techniquement possible, d'infectivité :

1. Pour les virus VIH 1, VIH 2, HTLV 1, HTLV 2, hépatites B et C, et pour la syphilis ;
2. Pour le cytomégalovirus (dosages d'IgM et IgG).

Si les résultats sont positifs à l'une des infections citées au 1, les donneurs ou les donneuses de gamètes ne peuvent être retenus. S'ils sont négatifs, un délai de six mois doit être respecté pendant lequel le sperme provenant du don ne peut pas être cédé, et les embryons issus d'ovocytes cédés ne peuvent pas être transférés. A l'issue de ce délai, les textes réglementaires prévoient que le bilan soit renouvelé pour les infections (1), à l'exception de HTLV 1 et HTLV 2. Il est cependant recommandé de les pratiquer. Le praticien est tenu de s'assurer que les résultats des analyses sont demeurés négatifs. Dans le cas où l'un ou plusieurs de ces résultats seraient devenus positifs, les gamètes ne pourraient être cédés ni les embryons transférés.

En ce qui concerne le CMV (2), si le premier test est positif, il est préférable, en l'absence d'IgM et après la période réglementaire de six mois, de n'utiliser les gamètes que pour les couples receveurs dont l'un au moins des membres est positif pour le CMV. En présence d'IgM, le don est récusé. Si le premier test est négatif, il doit être répété à l'issue de la période de six mois. Lorsque le deuxième test de CMV se positive, traduisant une infection récente, le don est récusé.

Enfin, il est préférable de réserver les gamètes provenant de donneurs négatifs pour le CMV à des couples receveurs dont les deux membres sont eux-mêmes négatifs.

1.3. Prise en charge en assistance médicale à la procréation des patients à risque viral

Suivant les recommandations universelles de sécurité sanitaire, tout prélèvement biologique doit être considéré à risque. Cependant, la présence de marqueurs biologiques de l'infection par le VIH, par les virus des hépatites B et C chez l'un ou les deux membres du couple (patients virémiques) sollicitant une assistance médicale à la procréation impose une prise en charge particulière des patients, des conditions renforcées d'organisation de l'équipe médicale clinico-biologique et une organisation du laboratoire adaptée au risque viral. Ces procédures permettent de réduire les risques de contamination du conjoint, de l'enfant à naître, des gamètes et des embryons appartenant à d'autres couples et, enfin, des personnels ; elles permettent aussi d'assurer un environnement médical et psychologique optimal de ces couples souvent vulnérables.

Les établissements autorisés aux activités cliniques et biologiques d'assistance médicale à la procréation souhaitant réaliser ce type de prise en charge doivent impérativement remplir les exigences figurant dans ce chapitre. Dans ce cas, chaque établissement devra déclarer cette activité au ministre chargé de la santé.

1.3.1. Organisation du laboratoire d'assistance médicale à la procréation prenant en charge des patients à risque viral

Il est impératif pour les personnels de respecter dans le laboratoire l'ensemble des dispositions du présent guide et les précautions universelles lors de la manipulation d'échantillons biologiques d'origine humaine mentionnées au sous-chapitre 1.1.2.

Le laboratoire doit mettre en place une organisation particulière en créant un circuit à risque viral bien identifié : les activités chez les patients à risque doivent être dissociées par rapport aux activités concernant les couples sans risque identifié. Soit il s'agira d'une dissociation dans le temps sur une période donnée, soit d'une dissociation dans l'espace du laboratoire, avec utilisation d'un poste de travail complet séparé avec personnel dédié ; cette dernière solution, permettant de ne pas désorganiser le fonctionnement du centre d'assistance médicale à la procréation, doit être mise en place dans les établissements ayant un fort recrutement. Dans tous les cas, le laboratoire doit bénéficier des matériels nécessaires pour assurer une sécurité sanitaire maximale.

Les procédures d'organisation et de sécurité doivent être écrites, révisées régulièrement et validées par le CLIN, si la structure en dispose. Elles doivent être connues par l'ensemble de l'équipe.

Le personnel des équipes clinique et biologique du centre d'assistance médicale à la procréation doit faire l'objet d'une formation spécifique adaptée à la prise en charge de patients et au traitement de prélèvements à risque viral.

Le poste de travail utilisé en situation de risque viral doit être équipé d'une **hotte à flux laminaire à flux vertical**. Pour la préparation des spermatozoïdes, il doit être équipé d'une **centrifugeuse à nacelle étanche**, d'un **incubateur à CO2** et d'un **microscope** ; pour l'utilisation en ICSI, le poste doit posséder le matériel nécessaire, il est recommandé dans ce cas que la hotte soit équipée d'une **loupe binoculaire**. La congélation des spermatozoïdes sera effectuée dans des paillettes dites de « haute sécurité », avec utilisation d'**appareil de soudure** adapté. Les cuves de stockage doivent être spécifiques et séparées pour les paillettes de patients VIH, pour les paillettes de patients VHC et pour les paillettes de patients VHB ; les paillettes de patients coinfecteds par le VIH et les hépatites seront déposées dans la **cuve VIH**. Les embryons congelés sont stockés également dans une **cuve spécifique**. Il est nécessaire de disposer d'une **cuve de secours**.

Des équipements spécifiques ne sont pas nécessaires dans le laboratoire de virologie, mais le personnel doit être particulièrement formé à ces techniques spécifiques.

1.3.2. Cas des couples sérodifférents dont l'homme est séropositif pour le VIH

La mise en oeuvre de techniques d'assistance médicale à la procréation permet de réduire au sein du couple les risques de contamination grâce à une préparation et un lavage du sperme, suivis d'une évaluation de la charge virale dans la fraction finale de spermatozoïdes avant utilisation. Il convient de rappeler qu'il s'agit d'une des indications légales de l'assistance médicale à la procréation à côté de la lutte contre l'infertilité.

A. - Nécessité d'une équipe pluridisciplinaire structurée et d'une organisation particulière :

La prise en charge de ces couples représente une charge de travail importante ; elle nécessite la présence d'une équipe clinico-biologique structurée au sein du centre d'assistance médicale à la procréation ; par ailleurs, doit s'installer une collaboration étroite entre l'équipe clinico-biologique d'assistance médicale à la procréation et un laboratoire de virologie spécialisé et reconnu, ayant une expérience particulière de ce type d'analyse. L'équipe doit comporter au minimum un clinicien et un biologiste de la reproduction, un clinicien spécialiste du sida ou un hépatologue selon les cas, un virologue et un psychiatre ou un psychologue, et se réunir régulièrement sur ces dossiers particuliers.

Son rôle est :

- d'assurer les entretiens préalables à l'assistance médicale à la procréation prévus à l'article L. 2141-10 en tenant compte de la situation particulière liée à la séropositivité ; les couples devront recevoir toute l'information nécessaire sur les procédures d'adoption et sur le don de sperme de donneur, garantissant un risque nul de contamination et sur les techniques de réduction du risque de contamination, qui ne peuvent être assimilées à une procréation sans risque ;
- d'évaluer les critères de prise en charge des patients sur le plan médical, psychologique et virologique et de valider les demandes. Certains couples pourront ne pas être retenus ; il convient de rappeler qu'en application de l'article L. 2141-10 un praticien peut toujours différer une assistance médicale à la procréation dans l'intérêt de l'enfant à naître ;
- de recueillir les consentements des deux membres du couple à l'assistance médicale à la procréation et à la mise en oeuvre des méthodes spécifiques de réduction des risques ;
- d'assurer le suivi médical et psychologique du couple tout au long de la prise en charge en assistance médicale à la procréation et pendant la grossesse.

B. - Critères de sélection des couples :

S'agissant de la mise en oeuvre d'une assistance médicale à la procréation, le couple doit remplir l'ensemble des conditions légales d'accès prévues à l'article L. 2141-2. Il doit s'engager à avoir une vie sexuelle protégée, y compris pendant la grossesse et l'allaitement. Le couple doit être averti de la nécessité d'avoir plusieurs entretiens avec l'équipe pluridisciplinaire clinico-biologique, incluant obligatoirement un entretien psychologique. L'homme doit être séropositif pour le VIH-1, porteur d'une souche quantifiable ; il peut être traité ou non, selon les recommandations habituelles dans ce domaine. Il doit attester d'un suivi régulier de son infection. Le patient ne doit pas être porteur de pathologies évolutives, et son taux de CD4 doit être supérieur à 200/mm³ à deux reprises dans les quatre mois précédant la demande et au moment de l'inclusion. Chez un sujet traité, le taux d'ARN plasmatique du VIH doit être stable, sans augmentation de plus de 0,5 log dans les quatre mois précédant la demande et au moment de l'inclusion.

La femme doit être séronégative dans les deux mois précédant la demande et lors de l'inclusion.

La validation définitive de la demande du couple sera effectuée par l'équipe pluridisciplinaire au vu de sa situation médicale, psychologique et virologique, notamment après traitement du

sperme.

C. - Mise en oeuvre de l'assistance médicale à la procréation et procédures cliniques de suivi :

Le centre d'assistance médicale à la procréation doit pouvoir mettre en oeuvre l'ensemble des activités, recueil et traitement du sperme, FIV, ICSI, dans le but de s'adapter à toutes les situations présentées par les couples. Les actes d'assistance médicale à la procréation seront effectués dans l'établissement lui-même, notamment le geste clinique d'insémination, le recueil d'ovocytes ou le transfert d'embryons.

L'évaluation de la santé de l'homme sera trimestrielle tout au long du programme d'AMP en veillant au respect des conditions initiales d'inclusion, notamment sur la stabilité de son infection.

La femme devra bénéficier d'une surveillance virologique avec la pratique d'une sérologie VIH et d'une recherche de l'ARN du VIH :

- dans les quinze jours précédant chaque tentative d'AMP ;
- deux à trois semaines, puis trois et six mois après cette tentative, qu'il y ait grossesse ou non ;
- à l'accouchement. Aucun suivi de l'enfant n'est nécessaire si la femme est séronégative à l'accouchement.

D. - Procédures biologiques et virologiques :

Une évaluation de la charge virale sera effectuée dans le plasma séminal avant traitement du sperme : si le nombre de copies par ml est supérieure à 10 000, le couple ne pourra être pris en charge tant que cette situation persiste.

Dans le cas inverse, un traitement du sperme est effectué en privilégiant l'emploi de deux techniques successives, gradient de densité puis migration ascendante avec lavage intermédiaire ; la détection d'ADN proviral ou d'ARN est réalisée dans la fraction finale. On doit exiger qu'elle soit négative pour une utilisation en assistance médicale à la procréation :

- si la charge virale initiale dans le plasma séminal était inférieure à 1000 copies par ml, toutes les techniques d'assistance médicale à la procréation peuvent être utilisées ;
- si la charge virale initiale était supérieure à ce seuil, il est recommandé de recourir à une ICSI.

1.3.3. Cas des couples où la femme est séropositive au VIH

L'assistance médicale à la procréation est envisagée soit pour réduire le risque de contamination du conjoint par la pratique d'inséminations, soit pour prendre en charge une infertilité du couple.

La sélection et le suivi des couples et des patientes s'effectuera sur les mêmes critères médicaux et virologiques décrits sous chapitre 1.3.2 concernant notamment la stabilité de

l'infection par le VIH au moment de l'inclusion et pendant la prise en charge en AMP. La décision de prise en charge devra en outre prendre en compte le risque de contamination de l'enfant à naître et les conséquences éventuelles liées aux thérapeutiques pendant la grossesse. L'évaluation et le suivi psychologiques du couple joue un rôle particulier tout au long de la prise en charge en assistance médicale à la procréation et pendant la grossesse. Le sperme étant issu d'un patient non infecté, il n'est pas nécessaire d'en effectuer la préparation en vue d'insémination, de FIV ou d'ICSI dans un secteur particulier du laboratoire ; par contre, le liquide de ponction folliculaire sera traité au laboratoire comme un prélèvement à risque viral.

Les prises en charge de la grossesse et de l'enfant à la naissance devront être effectuées en liaison avec les équipes obstétricales et pédiatriques spécialisées.

1.3.4. Cas des couples dont l'un ou les deux membres sont porteurs du virus de l'hépatite C

Les critères médicaux de prise en charge sont laissés à l'appréciation de l'équipe pluridisciplinaire.

Lorsqu'il s'agit d'un couple dont l'homme est séropositif au VHC, le sperme sera traité et préparé au laboratoire en circuit de risque viral selon les modalités décrites plus haut.

L'évaluation de la charge virale sur le plasma séminal conditionne la procédure ultérieure :

- si la recherche est négative aucune nouvelle analyse virologique ne sera pratiquée ;
- si la recherche est positive, une nouvelle analyse sera effectuée sur la fraction intermédiaire ou finale de spermatozoïdes congelés (si la fraction intermédiaire est positive, l'étude de la fraction finale est systématique). Dans le cas où la fraction finale obtenue après préparation s'avère positive, le couple ne pourra être pris en charge en assistance médicale à la procréation.

Lorsqu'il s'agit d'un couple dont la femme est séropositive au VHC, le liquide folliculaire sera traité avec les précautions de sécurité sanitaire décrites plus haut. Les modalités du suivi de l'enfant à la naissance seront à déterminer par les équipes pédiatriques.

1.3.5. Cas de couples porteurs du virus de l'hépatite B

Si l'homme ou la femme du couple demandeur d'assistance médicale à la procréation est porteur du virus de l'hépatite B, le praticien informe le couple, préalablement à la mise en oeuvre de l'assistance médicale à la procréation, des recommandations vaccinales émises par le Conseil supérieur d'hygiène publique de France, en matière d'hépatite B.

1.3.6. Evaluation des soins

Les centres d'assistance médicale à la procréation assurant la prise en charge de patients à risque viral doivent conserver des informations médicales permettant d'assurer une évaluation de ces activités encore nouvelles. Un registre des tentatives d'assistance

médicale à la procréation en contexte de risque viral devrait être tenu par les praticiens agréés.

En dehors des données concernant l'assistance médicale à la procréation elle-même, dont le recueil et la conservation sont prescrites par le code de la santé publique et par le présent guide, les équipes devront conserver dans le respect de la confidentialité des informations :

- sur les éléments médicaux concernant le couple tout au long de la prise en charge : âge, stade et suivi de l'infection virale, contrôles biologiques, traitements, paramètres de fertilité, suivi psychologique... ;
- sur les résultats des différentes analyses virologiques pratiquées sur le patient à risque viral, sur son conjoint et éventuellement sur l'enfant ;
- sur les effets indésirables constatés ;
- sur les abandons en cours de prise en charge.

Il est important de conserver également des informations concernant les couples n'ayant pu être pris en charge par l'équipe pluridisciplinaire, notamment sur les motifs de refus. Les équipes devront fournir un bilan spécifique d'activité annuel au ministre chargé de la santé. »

2. Description des pratiques d'AMP intraconjugale

2.1. Insémination artificielle avec sperme de conjoint

Les IAC constituent une AMP à part entière, dont les indications doivent être soigneusement pesées, et concernent essentiellement les infécondités d'origine cervicale, inexplicée ou masculine. Dans tous les cas, l'indication ne sera posée qu'après réalisation d'un test de séparation des spermatozoïdes. Ce test doit montrer que le nombre total de spermatozoïdes mobiles disponibles est supérieur à 500 000, après préparation de la totalité de l'éjaculat. Il est recommandé que le test de séparation soit pratiqué dans le laboratoire préparant les spermatozoïdes en vue d'insémination.

Dans certains cas particuliers, l'insémination sera réalisée avec des paillettes de sperme autoconservé.

La mise en oeuvre de cette technique nécessite, comme pour toute AMP, un entretien préalable du couple demandeur avec le clinicien amené à la réaliser. Au cours de cet entretien, le clinicien s'assure du respect des conditions légales (art. L. 152-2 du CSP), donne l'information légale au couple (art. L. 152-10 du CSP) et recueille le consentement signé. Celui-ci devra être confirmé à chaque insémination.

L'insémination est le plus souvent réalisée par voie intra-utérine après préparation du sperme dans un laboratoire autorisé.

2.1.1. Coordination clinicien/biologiste

La coordination entre le clinicien et le biologiste est indispensable. Le biologiste doit donner son accord avant la mise en oeuvre de l'IAC. Il ne peut prendre en charge la préparation du sperme que s'il a une information complète sur :

- l'indication de l'IAC ;
- les données détaillées d'un spermogramme datant de moins de trois mois et d'un test de séparation des spermatozoïdes mobiles (acte réservé aux laboratoires autorisés pour l'AMP) ;
- le respect des conditions légales (cf. 1.2.1) ;
- la signature du consentement à l'IAC qu'il doit conserver ;
- les résultats des tests de sécurité sanitaire (sérologies VIH, hépatites B et C, et syphilis).

Il doit impérativement s'assurer auprès du clinicien des résultats de chaque cycle en cours ainsi que de l'issue d'une grossesse éventuelle, et recueille le bilan d'activité des cliniciens avec lesquels il collabore.

2.1.2. Aspects cliniques

L'insémination est généralement précédée d'une stimulation de la croissance folliculaire, en vue d'obtenir un petit nombre de follicules matures (1 à 3 au maximum). Un monitoring de l'ovulation échographique et hormonal (oestradiol, LH) est donc nécessaire permettant de surseoir à l'insémination si plus de trois follicules mûrs sont mis en évidence. Sauf exception, une insémination par cycle est suffisante. Le nombre de cycles d'inséminations ne devrait pas dépasser six.

2.1.3. Aspects biologiques

Le recueil de sperme en vue d'AMP doit avoir lieu dans un laboratoire d'AMP autorisé.

Le sperme doit être recueilli par masturbation dans des conditions d'asepsie rigoureuse, après lavage et désinfection des mains et du gland. Dans certains cas (anticorps antispermatozoïdes, nécrozoospermie), le recueil direct dans un milieu de culture est nécessaire. Les procédures d'hygiène du recueil doivent être affichées dans la pièce destinée au recueil.

Pour des raisons de sécurité sanitaire, il est de bonne pratique de traiter le sperme sous une hotte à flux laminaire avec du matériel à usage unique, des milieux stériles et contrôlés (de préférence à 37 °C) et répondant aux exigences réglementaires en vigueur (voir chapitre 2.2.2). Il est indispensable d'identifier chaque flacon de recueil, et chaque tube à centrifuger avec le nom du patient ou les deux noms des membres du couple s'ils sont différents.

L'analyse des paramètres spermatiques le jour du recueil est indispensable avec, au minimum, l'évaluation de la numération et de la mobilité des spermatozoïdes, et une numération des leucocytes. Si nécessaire, un deuxième recueil pourra être demandé. La

préparation peut se faire selon différentes techniques sélectionnées en fonction des paramètres spermatiques : lavage - migration ascendante, gradients de densité. Il est nécessaire de faire l'analyse des paramètres après préparation afin d'évaluer le nombre de spermatozoïdes mobiles inséminés.

Si le sperme doit être transporté, cela doit se faire dans un système permettant le maintien du prélèvement entre 20° et 35° en évitant les variations thermiques. L'IAC est généralement réalisée avec au moins 500 000 spermatozoïdes mobiles concentrés dans un volume de 0,2 à 0,3 ml de milieu.

2.2. La fécondation in vitro intraconjugale (FIV-C)

2.2.1. Aspects cliniques

a) Indications :

La fivete (fécondation in vitro et transfert embryonnaire), avec ou sans micromanipulation, demeure une technique lourde et coûteuse dont les résultats restent limités. Ses indications peuvent être absolues (absence ou obstruction tubaire bilatérale, azoospermie...) ou relatives (altération tubaire, endométriose, insuffisance spermatique, idiopathique etc.). Dans les indications relatives, la FIV doit être proposée avec discernement, ni trop précocement avant d'avoir mis en oeuvre d'autres possibilités thérapeutiques, ni trop tardivement lorsque l'âge de la femme grèvera considérablement les chances de succès. Exceptionnellement, la FIV peut être proposée dans le but de réaliser un diagnostic biologique à partir de cellules prélevées sur l'embryon in vitro (art. L. 162-17 CSP).

Enfin, un cycle de ponction ne doit pas être débuté tant que le couple dispose d'embryons congelés provenant d'une ponction antérieure.

b) Stimulation :

La stimulation ovarienne vise à obtenir un nombre raisonnable d'ovocytes matures, le nombre habituel varie de 4 à 10. L'obtention d'une moyenne différente doit faire réévaluer les protocoles utilisés. Elle sera modulée en fonction du statut ovarien de la femme. Il faudra également tenir compte des souhaits du couple (refus de congélation embryonnaire par exemple qui doit conduire à une stimulation si possible paucifolliculaire). La surveillance de cette stimulation repose sur un suivi échographique et hormonal.

La surveillance échographique se fait de préférence par voie vaginale à l'aide de sondes à haute définition. La mesure des diamètres folliculaires est répétée en fonction de la réponse de chaque patiente : trois ou quatre échographies sont en général suffisantes. L'étude de l'épaisseur et des caractéristiques de l'endomètre peut y être associée.

La surveillance hormonale s'effectue par le dosage de l'oestradiol. Trois ou quatre dosages sont généralement réalisés avant la décision du déclenchement. Le dosage de la

progestérone en fin de stimulation peut être utilisé pour affiner les critères de la maturation folliculaire. Le dosage de la LH n'est utile qu'en cas de stimulation n'associant pas un analogue de LHRH. Les autres dosages n'ont pas d'intérêt en pratique clinique habituelle.

Les modalités de la stimulation et de sa surveillance, de son arrêt éventuel, la décision de déclenchement de l'ovulation restent sous la responsabilité d'un clinicien agréé. En cas de réponse ovarienne excessive, le déclenchement de l'ovulation doit être annulé et la femme doit continuer à être suivie.

c) Ponction folliculaire :

La ponction folliculaire est réalisée, sous la responsabilité d'un praticien agréé, trente-trois à trente-six heures après le déclenchement de l'ovulation, généralement sous échographie, par voie vaginale. Une anesthésie loco-régionale ou générale est pratiquée, en tenant compte du souhait de la patiente. Un anesthésiste doit être immédiatement disponible, même en cas d'anesthésie loco-régionale, permettant, si nécessaire, la réalisation d'une anesthésie générale. Du fait de cette éventualité, une consultation pré-anesthésique est recommandée. Les milieux de rinçage utilisés pour la ponction folliculaire sont choisis parmi les produits répondant aux normes en vigueur. Le maintien à 37 °C du prélèvement doit être assuré dès la ponction jusqu'à son traitement au laboratoire.

2.2.2. Aspects biologiques

Le traitement de gamètes et d'embryons humains dans le laboratoire nécessite le respect de règles de sécurité explicités au chapitre 1.1.2. Pour des raisons sanitaires et afin d'éviter tout risque d'erreur, les produits venant de couples différents ne doivent pas être traités par la même personne simultanément. L'identification des gamètes et des embryons est d'une importance capitale et implique la vérification de l'identité des deux membres du couple. Par la suite, chaque flacon de recueil, tube ou boîte de culture utilisé doit porter le nom d'usage du couple (ou les deux noms s'ils sont différents).

a) Milieux de culture et matériel :

Les conditions de culture optimales imposent la maîtrise de plusieurs paramètres, notamment : l'asepsie, la température et le pH.

Les manipulations doivent être réalisées sous enceinte stérile à flux adapté, avec du matériel stérilisé sans substance connue comme toxique (comme l'oxyde d'éthylène) et des milieux de culture adaptés. Le personnel doit porter tenues à usage unique ou stérilisées quotidiennement, ainsi qu'un masque et des gants (cf. 1.1.2).

La température est maintenue à 37 °C pendant toute la durée des manipulations et des transports éventuels des ovocytes et embryons : préchauffage du matériel plastique et des milieux de culture, utilisation d'un plateau chauffant dans la hotte, d'une platine chauffante sur le stéréomicroscope, d'une platine chauffante ou d'une enceinte thermostatée pour le

microscope inversé, d'un bain-marie sec et d'un incubateur.

Le pH doit être maintenu autour de 7,2 grâce à une atmosphère gazeuse enrichie en CO² pendant toute la durée de la culture.

Plusieurs milieux de culture actuellement disponibles dans le commerce ont montré une efficacité comparable. Néanmoins, ne peuvent être utilisés que ceux répondant aux exigences réglementaires en vigueur. En cas de supplémentation, ne peuvent être utilisés que des produits biologiques provenant du couple ou des substances commercialisées satisfaisant aux réglementations. L'utilisation de produits biologiques provenant d'autres patients est interdite.

Les milieux préparés au laboratoire doivent inclure des composés conformes aux normes, hautement purifiés et, lorsque cela est possible, spécifiques pour culture cellulaire. Un cahier de préparation doit être tenu comportant la composition du milieu, l'origine des composants et leur numéro de lot. De plus, un numéro de lot doit être attribué à chaque préparation de milieu. Toute nouvelle modalité de culture ou de conservation des embryons ne peut être pratiquée que dans le cadre d'une étude sur l'embryon autorisée par le ministre chargé de la santé après avis de la CNMBRDP (art. L. 152-8 et R. 152-8-3 du CSP). Dans tous les cas, les numéros de lot des milieux utilisés doivent figurer sur un document permettant d'assurer la traçabilité des milieux. En cas de culture sous huile, celle-ci doit être spécifique pour la culture cellulaire.

Le matériel plastique utilisé pour toutes les manipulations doit être non cytotoxique et, lorsque cela est possible, spécialement conçu pour culture cellulaire.

b) Technique de FIV :

Le recueil du sperme doit se faire au laboratoire d'AMP autorisé notamment pour s'assurer de l'origine des gamètes. Lorsque des problèmes de recueil sont connus, le sperme pourra être congelé en dehors de toute tentative de FIV de manière à être disponible en cas d'échec de recueil le jour de la tentative (cf. Autoconservation, 2.6).

La préparation du sperme peut se faire selon différentes techniques sélectionnées en fonction de sa qualité : lavage simple, lavage et migration ascendante, gradient de densité ou toute autre méthode éprouvée.

L'insémination des ovocytes non atrétiques est réalisée dans les heures qui suivent le recueil ovocytaire avec un nombre de spermatozoïdes mobiles compris, sauf exception, entre 50 000 et 200 000/ml. En cas d'asthénospermie, les délais entre le recueil de sperme, sa préparation et l'insémination doivent être les plus courts possible.

Lorsque le couple refuse la congélation embryonnaire, le nombre d'ovocytes inséminés doit être limité à trois, le couple en ayant été averti au moment du consentement.

Les ovocytes sont examinés seize à vingt heures après l'insémination de manière à évaluer la fécondation. La culture embryonnaire est ensuite poursuivie et le transfert envisagé pour ceux présentant au plus deux pronuclei. La culture est poursuivie le plus souvent jusqu'à J 2 ou J 3.

Elle peut être parfois prolongée jusqu'à J 5-J 7, soit par coculture, soit en utilisant des milieux synthétiques séquentiels, pour permettre le développement de l'embryon jusqu'au stade de blastocyste et ainsi un transfert plus tardif.

La coculture consiste à cultiver des embryons sur un tapis cellulaire. Seules les cellules autologues (cumulus, granulosa, endomètre de la patiente) n'induisent pas de risque infectieux exogène. L'usage des cellules d'une autre patiente est strictement interdit. Certains types de cellules (cellules Véro de rein de singe) ont pu être utilisées, mais n'ont fait actuellement l'objet d'aucune procédure de validation au regard de la sécurité sanitaire, en l'état de la législation actuelle.

Les techniques d'assistance médicale à la procréation innovantes non consacrées par l'usage, aboutissant à la formation d'embryons, doivent être réalisées dans le cadre d'un projet de recherche clinique et après avis de la CNMBRDP.

Il convient de rappeler que lorsque ces techniques non éprouvées concernent l'embryon lui-même, elles entrent dans la procédure obligatoire d'autorisation d'études sur l'embryon humain (art. L. 152-8 et R. 152-8-1 à R. 152-8-12 du code de la santé publique).

2.2.3. Transfert embryonnaire

Au moment du transfert embryonnaire, le clinicien et le biologiste doivent s'assurer personnellement de l'identité de la patiente. Les modalités du transfert s'appuient sur les données cliniques de la patiente et les résultats d'un test de transfert préalable dont les résultats sont consignés dans le dossier d'AMP. Enfin, dans des cas exceptionnels, il doit être possible de recourir à l'anesthésie générale.

a) Choix des embryons à transférer :

Ce choix se fait en fonction des critères suivants :

- normalité de la fécondation (présence de deux pronuclei au maximum à J 1) ;
- cinétique embryonnaire, le meilleur développement étant quatre cellules à J 2 et huit cellules à J 3 ;
- morphologie embryonnaire évaluée sur l'homogénéité des blastomères et la proportion du volume des exsudats qui ne doit pas excéder 50 %.

Le choix des embryons à transférer est sous la responsabilité du biologiste et doit être explicité au couple. Selon leur aspect morphologique, le biologiste peut décider de ne pas transférer ni congeler les embryons obtenus.

b) Nombre d'embryons à transférer :

Le nombre d'embryons à transférer doit être discuté conjointement entre le couple, le clinicien et le biologiste. Ce nombre dépend de l'aspect des embryons, de l'âge de la patiente et de ses antécédents. Il doit être autant que possible limité à deux. Au-delà, les raisons doivent être justifiées dans le dossier de la patiente.

c) Les couples doivent être informés des chances de succès ainsi que du risque de grossesse multiple et de tout incident sérieux survenu au cours des phases clinique et biologique de leur tentative et pouvant compromettre leurs chances de succès. Ces éléments doivent être mentionnés sur le dossier de la patiente et sur le registre des tentatives.

2.3. FIV avec micro-injection (ICSI)

2.3.1. Aspects cliniques

L'ICSI doit être réservée à des cas où la fécondation in vitro par les techniques conventionnelles est impossible ou a de faibles chances de réussite. Il s'agit surtout des infécondités masculines sévères. Elle peut être envisagée en première intention dans les cas suivants :

- azoospermies impliquant un prélèvement épидидymaire ou testiculaire des spermatozoïdes ;
- oligo et/ou asthéo et/ou térato-zoospermie majeure ;
- akinétospermie ;
- certaines auto-immunisations antispermatozoïdes.

En dehors de ces cas, l'indication doit se discuter en fonction du taux de fécondation obtenu lors des tentatives précédentes réalisées par FIV conventionnelle. Le choix de la technique et ses raisons seront alors clairement explicités dans le dossier médical.

Un dossier-guide spécifique de l'ICSI, précisant les risques, notamment de transmission de la stérilité masculine, sera remis au couple. L'ICSI doit faire l'objet d'un consentement éclairé, signé, spécifique.

Enfin, les centres doivent collecter les données sur l'état de santé des enfants à la naissance. L'étude du devenir à long terme des enfants doit être encouragée.

2.3.2. Aspects biologiques

Par rapport à la FIV classique, trois étapes sont spécifiques de l'ICSI, la préparation des spermatozoïdes, celle des ovocytes et la fécondation assistée elle-même.

a) Préparation des spermatozoïdes :

La préparation des spermatozoïdes éjaculés ou recueillis par prélèvement épидидymaire dépend de leur concentration. Il peut être demandé plusieurs éjaculats. Au-dessus de 0,5 million de spermatozoïdes mobiles par millilitre, les techniques classiques peuvent être utilisées (cf. chapitre sur les techniques de FIV 2.2.2). Au-dessous de cette limite, un simple lavage-centrifugation de la totalité de l'éjaculat est réalisé.

En cas de ponction testiculaire, la biopsie est disséquée de manière à recueillir les spermatozoïdes.

Lorsque les spermatozoïdes sont prélevés chirurgicalement, ceux qui ne sont pas utilisés doivent pouvoir être congelés de manière à éviter une nouvelle ponction en cas d'échec de la tentative, après accord préalable du patient.

Dans l'état des connaissances actuelles, l'injection de cellules germinales immatures (spermatides) ou de spermatozoïdes dont la vitalité n'est pas établie ne peut être envisagée que dans un protocole de recherche clinique et après avis de la CNMBRDP.

b) Préparation des ovocytes :

Les ovocytes prélevés en vue d'ICSI doivent être décoronisés de manière à visualiser l'introduction de la micropipette et l'injection du spermatozoïde. La décoronisation se fait par la hyaluronidase. Elle doit être rapide et suivie de plusieurs rinçages pour éviter une action délétère de l'enzyme. Elle permet de connaître l'état et la maturité des ovocytes qui doivent être notés sur le dossier biologique.

c) Injection du spermatozoïde :

Le matériel nécessaire se compose d'un microscope inversé équipé de micro-injecteurs. Il doit être placé dans des conditions garantissant l'asepsie des manipulations (de préférence hotte à flux laminaire, salle stérile). Il est préférable d'utiliser les pipettes de maintien et d'injection commercialisées. Toutefois, lorsqu'elles sont fabriquées au laboratoire, elles doivent être nettoyées et stérilisées avant usage.

L'injection se déroule dans une boîte de Pétri, sous huile (spéciale pour culture cellulaire). Le sperme est le plus souvent placé dans une goutte de polyvinylpyrrolidone (PVP), de manière à ralentir le mouvement spermatique et faciliter l'injection, mais l'utilisation du PVP n'est pas indispensable. Le spermatozoïde est immobilisé par effet de cisaillement du flagelle. L'injection elle-même se fait au centre de l'ovocyte, ce dernier ayant été orienté de sorte que le globe polaire soit à 6H ou 12H, donc à distance du fuseau méiotique. Elle doit être rapide, non traumatisante pour l'ovocyte. Les ovocytes sont ensuite remis en culture. Il est actuellement admis que 10 % environ des ovocytes sont endommagés. Au-delà de 15 %, il est nécessaire de revoir la technique.

Le reste de la technique se déroule de la même manière que pour la FIV. Cependant, la coculture ne doit pas être associée à l'ICSI.

Le traitement d'une partie des ovocytes avec et sans micromanipulation doit rester exceptionnel et documenté dans le dossier. S'il a été décidé d'entreprendre une association « FIV classique - ICSI » et que des embryons sont issus des deux techniques, seront transférés en priorité ceux provenant de FIV classique. Ils ne doivent pas être transférés simultanément (sauf justification dans le dossier), en raison notamment de la nécessité d'avoir un suivi correctement documenté des enfants qui en sont issus.

2.4. Congélation des embryons

Une bonne pratique de la FIV implique la possibilité de congeler des embryons en vue de les transférer ultérieurement. Cette possibilité est soumise au consentement écrit du couple.

2.4.1. Indications

L'indication principale concerne les cas où le nombre d'embryons obtenus est supérieur au nombre d'embryons transférés. La congélation peut aussi être proposée s'il est nécessaire de retarder le transfert pour raisons médicales (maladie, hyperstimulation, traitement de chimiothérapie ou de radiothérapie, etc.), ou pour remplir les conditions de sécurité sanitaire (notamment dans le cadre du don d'ovocyte). Elle est enfin réalisable dans le cas d'impossibilité d'effectuer le transfert (accident, contretemps, etc). L'indication doit toujours figurer dans le dossier.

2.4.2. Aspects cliniques

Le transfert d'embryons décongelés peut être réalisé lors de cycles spontanés, stimulés ou substitués. Lors des cycles spontanés, le repérage de l'ovulation se base sur la mise en évidence de la décharge de LH. L'ovulation peut également être déclenchée lorsque le follicule a atteint 20 mm de diamètre.

La pratique d'une stimulation ovarienne implique un monitoring échographique et hormonal. La réponse ovarienne doit rester paucifolliculaire.

Les cycles substitués font appel dans un premier temps aux oestrogènes naturels. La progestérone ne sera administrée qu'après avoir vérifié l'absence d'ovulation spontanée.

Le délai entre le moment estimé de l'ovulation et le transfert doit être le même que celui écoulé entre la ponction et la congélation.

2.4.3. Aspects biologiques

La congélation peut intervenir du stade des pronuclei (J 1) au stade blastocyste (J 6). Les embryons présentant plus de 30 % de fragmentation ou un retard de développement ne doivent pas être congelés.

Le cryoprotecteur actuellement le plus efficace pour les embryons de deux à trois jours est le propanediol associé au sucrose. Il est conseillé de ne mettre qu'un seul embryon par paille. On ne doit jamais en mettre plus de deux afin de maîtriser au mieux le nombre d'embryons transférés. Les paillettes doivent porter très lisiblement les indications permettant l'identification des embryons. Elles sont ensuite déposées dans un congélateur programmable avant d'être immergées dans l'azote liquide. L'induction de la cristallisation doit être parfaitement contrôlée.

La décongélation se fait par simple réchauffement à température ambiante. Le cryoprotecteur est éliminé par incubation des embryons dans des solutions de concentration décroissante en propanediol, jusqu'à élimination du cryoprotecteur. Les embryons sont transférés in utero dans les quelques heures qui suivent le réchauffement.

En moyenne, après réchauffement, plus des deux tiers des embryons décongelés devraient présenter au moins 50 % de blastomères intacts. Si tel n'est pas le cas, la procédure de congélation-décongélation doit être reconsidérée.

La technique de congélation-décongélation des blastocystes est différente : elle nécessite un autre cryoprotecteur, le glycérol.

Chaque cycle de congélation et de décongélation doit être mentionné sur le registre de conservation des embryons (voir chapitre 1.1.3).

2.5. Recueil de spermatozoïdes par ponction

Ces ponctions ne peuvent être envisagées que sous la responsabilité d'un praticien agréé, compétent en andrologie (art. R. 152-9-3 du CSP). Le biologiste doit se trouver à proximité immédiate du bloc chirurgical, car c'est son appréciation du nombre et de la qualité des spermatozoïdes, qui va guider le chirurgien dans la poursuite ou l'arrêt du prélèvement.

Les spermatozoïdes devront être transportés rapidement au laboratoire et traités sans délai.

Le prélèvement peut se faire à partir de l'épididyme, du déférent ou du testicule. Le prélèvement épидидymaire peut être proposé en cas d'azoospermie obstructive, devant l'impossibilité ou l'échec de la chirurgie réparatrice. L'anéjaculation d'origine organique, en particulier chez les paraplégiques, représente une autre indication de cette technique après échec des thérapeutiques classiques (vibro-massage, électrostimulation, stimulation pharmacologique). En cas d'anéjaculation d'origine psychogène, le prélèvement épидидymaire n'est réalisé qu'après avis du psychiatre.

Le prélèvement testiculaire est proposé en cas d'azoospermie obstructive lorsque le prélèvement épидидymaire est impossible (échec, obstacle en amont de l'épididyme), ou en cas d'azoospermie non obstructive.

Deux techniques de prélèvement épидидymaire sont actuellement utilisées, sous anesthésie

locale, loco-régionale ou générale : prélèvement après abord chirurgical de l'épididyme ou ponction transcutanée à l'aiguille fine.

En ce qui concerne le prélèvement testiculaire, si la ponction testiculaire à l'aiguille a pu être proposée, la réalisation d'une biopsie chirurgicale semble préférable. Elle permet en effet un meilleur contrôle de l'hémostase et le recueil d'un nombre plus élevé de spermatozoïdes. Ce dernier élément est de particulière importance en raison des progrès réalisés dans la congélation des spermatozoïdes testiculaires.

Un délai de six mois est nécessaire entre deux prélèvements.

2.6. Autoconservation de gamètes

Ce chapitre concerne essentiellement l'autoconservation de sperme. En effet, la congélation d'ovocytes et les prélèvements de fragments d'ovaire en vue de conservation pour une éventuelle AMP ultérieure restent du domaine de la recherche et doivent donc entrer dans le cadre d'un protocole de recherche et faire l'objet d'une demande à un CCPPRB.

2.6.1. Aspects cliniques

L'autoconservation de sperme doit être systématiquement proposée aux patients avant toute thérapeutique ou intervention potentiellement stérilisante (chimiothérapie, radiothérapie, chirurgie...).

Elle peut aussi être préconisée avant ou au cours d'une tentative d'AMP.

Le patient doit être informé de la qualité du sperme conservé et du nombre de paillettes.

Le bilan du patient comprendra en particulier la recherche des maladies infectieuses transmissibles : VIH 1 et 2, syphilis, hépatites B et C.

La durée de la conservation est prévue pour un an renouvelable sur demande écrite.

Seul le déposant peut demander la restitution ou la destruction de ses paillettes. Dans ces cas, un document est alors signé par le patient et contresigné par le médecin biologiste.

L'utilisation ultérieure du sperme en vue d'un acte d'assistance médicale à la procréation ne pourra se faire que dans la mesure où seront remplies les conditions prévues par l'article L. 152-2 du code de la santé publique.

En cas de nécessité du déplacement des gamètes confiés à un laboratoire, celui-ci a l'obligation absolue d'en informer préalablement la personne qui lui avait confié la conservation de ses gamètes ainsi que du nouveau lieu de conservation (art. R. 184-1-14 du CSP).

2.6.2. Aspects biologiques

De nombreuses méthodes de congélation du sperme existent et ont prouvé leur efficacité.

La congélation repose sur l'utilisation de cryoprotecteurs dont le plus fréquemment utilisé est le glycérol. Il est en général intégré dans des milieux plus complexes, auxquels il convient d'ajouter des antibiotiques. La dilution dépend de la concentration spermatique avec des rapports allant de 1/1 à 1/3.

Le sperme est conditionné en doses d'insémination ou paillettes. Le remplissage des paillettes s'effectue de préférence à l'aide d'une machine automatique qui soude les extrémités.

Lors de la conservation de sperme de patients à risque viral, des paillettes haute sécurité doivent être utilisées.

La descente en température est soit manuelle (dans les vapeurs d'azote liquide), soit, de préférence, automatisée à l'aide d'un congélateur programmable permettant une meilleure reproductibilité. Les paillettes sont ensuite conservées dans l'azote liquide à - 196 °C.

La décongélation s'effectue de préférence à 37 °C. Un test de tolérance à la congélation doit être effectué systématiquement pour chaque prélèvement afin d'en vérifier la qualité.

3. Dispositions spécifiques au don (IAD, FIV-D)

3.1. Cadre législatif

L'AMP avec don de gamètes s'entend de l'IAD et de la FIV avec tiers donneur - don de spermatozoïdes ou d'ovocyte - (art. L. 673-1 du CSP), le double don étant interdit (art. L. 152-3 al. 1 du CSP). L'AMP avec don de sperme doit être réalisée avec du sperme congelé (art. L. 673-3 du CSP). En revanche, le don d'ovocyte implique une fécondation in vitro dès leur recueil. Les embryons obtenus seront ensuite congelés afin de respecter les conditions sanitaires en vigueur (cf. 1.2.4).

Le recueil, le traitement, la conservation et la cession des gamètes en vue de don ne peuvent être pratiqués que dans un établissement ou organisme de santé public ou privé à but non lucratif autorisé à cette fin (art. L. 673-5 du CSP et 511-14 du code pénal).

Le don de gamètes ne peut être pratiqué que dans le respect des principes de gratuité (art. 16-5 et 16-6 du code civil, L. 665-13 du CSP et 511-9 du code pénal) et d'anonymat (art. 16-8 du code civil, L. 665-14 du CSP et 511-9 du code pénal), ce qui interdit tout accord préalable entre le couple receveur et un donneur désigné. En outre, il est interdit de subordonner le bénéfice de l'AMP à la désignation d'un donneur par le couple receveur, même en faveur d'un couple tiers anonyme (art. L. 673-7 du CSP et 511-13 du code pénal). Cette dernière disposition n'interdit pas d'informer les couples receveurs potentiels sur les

difficultés rencontrées pour disposer de donneurs de gamètes et de les encourager à aider l'équipe dans cette recherche.

3.2. Dispositions relatives au donneur

Le donneur (ou la donneuse) doit faire partie d'un couple ayant procréé (art. L. 673-2 du CSP). Ses gamètes ne peuvent plus être utilisés lorsque l'équipe médicale a connaissance de la naissance de cinq enfants issus de ce donneur dans le cadre de l'AMP (art. L. 673-4 du CSP). L'utilisation de sperme frais ou de mélange de spermatozoïdes d'origines différentes est interdite (art. L. 673-3 et 511-12 du code pénal). Il en est de même, par assimilation, pour le don d'ovocytes : le transfert simultané d'embryons issus de donneuses différentes est interdit, pour permettre l'application de l'article L. 673-6 du CSP.

3.2.1. Entretiens et formalités préalables au don

Le donneur (ou la donneuse) s'entretient avec les membres de l'équipe médicale (art. R. 673-5-5 du CSP) dans une pièce aménagée à cet effet (art. R. 673-5-4 du CSP) lui garantissant confidentialité et anonymat. Il est informé des conditions légales du don (art. R. 673-5-5 2o du CSP), notamment du principe d'anonymat et de ses corollaires (absence de responsabilité encourue, impossibilité d'établir un lien de filiation à l'égard de l'enfant à naître (art. 311-19 du code civil) et du principe de gratuité qui lui interdit de percevoir une rémunération (art. L. 665-13 du CSP). Toutefois, le remboursement des frais engagés par le don peut lui être accordé.

Le donneur est informé de la nature des examens à effectuer avant le don (art. R. 673-5-5 3o du CSP).

Il est informé également de la nécessité pour lui ainsi que pour son conjoint ou concubin de consentir par écrit au don de gamètes. Il devra également consentir à la conservation, sous forme rendue anonyme, d'informations à caractère personnel relatives à sa santé dans le dossier prévu à l'article R. 673-5-8 du CSP. Le contenu de ce dossier, les conditions de sa conservation et de sa consultation lui sont également précisés.

Une information doit être donnée concernant les contraintes liées au recueil de gamètes (déplacements et contraintes pratiques).

Pour ce qui concerne le don d'ovocyte, la femme reçoit en outre une information détaillée sur les conditions de la stimulation ovarienne et du prélèvement ovocytaire, les risques et contraintes liées à cette technique. Afin d'éviter d'éventuelles pressions, si les ovocytes proviennent d'une patiente bénéficiant d'une FIV pour elle-même et non d'une ponction effectuée exclusivement en vue du don, la patiente doit avoir préalablement été informée précisément des conséquences, notamment de la perte de chances pour elle-même consécutive à ce don. Ce don ne peut être décidé au cours du cycle de ponction. Le consentement doit avoir été signé avant le cycle de FIV (en plus du consentement habituel pour FIV), être renouvelé avant chaque cycle d'AMP et être confirmé à chaque recueil.

Le praticien agréé vérifie que le donneur remplit les conditions légales (art. R. 673-5-5 CSP). Il recueille par écrit les consentements. Le consentement peut être révoqué avant tout prélèvement (art. L. 665-11 du CSP).

3.2.2. Critères d'acceptabilité des donneurs

Cette sélection s'opère en fonction des antécédents médicaux personnels et familiaux, des résultats des tests de dépistage sanitaires obligatoires, de l'analyse du sperme ou du bilan gynécologique. L'âge doit être pris en compte pour limiter les risques génétiques.

a) Antécédents et enquête génétique :

Il est indispensable de procéder à un examen clinique des donneurs et des donneuses.

Une étude complète et documentée de l'arbre généalogique du donneur doit être réalisée pour éviter la transmission à l'enfant d'une anomalie génétique sévère. Toute suspicion d'anomalie doit inciter à rechercher des renseignements précis auprès du médecin traitant avec l'accord du patient. L'établissement du caryotype est préconisé. Si le donneur appartient à un groupe de population prédisposé à certaines pathologies, il est indispensable de rechercher l'hétérozygotie (hémoglobinopathies dans le bassin méditerranéen, en Afrique, etc.). Les donneurs à risque de transmission d'une anomalie génétique mineure peuvent être acceptés. Pour conclure le dossier avant d'exclure le donneur s'il existe un doute, il est recommandé de prendre l'avis d'un généticien.

b) Analyse du sperme :

Le recueil doit être fait impérativement sur place dans les mêmes conditions que celles décrites au chapitre 2.1. Les paramètres du sperme sont analysés dans l'heure qui suit. L'utilisation du sperme congelé repose sur le test de tolérance à la congélation. Ainsi ne seront retenues que les paillettes dont le test aura montré qu'elles contiennent au moins 20 % de spermatozoïdes de mobilité progressive et, au total, huit millions de spermatozoïdes mobiles/ml.

3.2.3. Conservation des informations du donneur

Le dossier du donneur, archivé dans des conditions garantissant la confidentialité, conformément à l'article R. 673-5-8 du CSP, doit contenir, sous forme rendue anonyme, les antécédents personnels et familiaux, les résultats des tests de dépistage sanitaires obligatoires, le consentement écrit du couple donneur ainsi que le nombre d'enfants issus du don. S'il s'agit d'un don de sperme, le dossier comprend la date des dons, le nombre de paillettes conservées, la date des cessions, le nombre de paillettes cédées. S'il s'agit d'un don d'ovocytes, il comprend la date de la ponction et le nombre d'ovocytes donnés.

3.3. Dispositions relatives au couple receveur

Outre le respect des conditions légales prévues à l'article L. 152-2 du CSP pour toute AMP (cf. 1.2.1), le couple receveur doit satisfaire, dans le cas de l'AMP avec don de gamètes, à des dispositions particulières concernant la procédure préalable et le consentement.

3.3.1. Procédure préalable

L'équipe pluridisciplinaire, à laquelle doit s'adjoindre un médecin qualifié en psychiatrie ou un psychologue (art. R. 673-5-6 du CSP), délivre une information spécifique décrivant la technique d'AMP avec don de gamètes envisagée ainsi que les principales dispositions légales relatives au don (gratuité, anonymat, filiation). Les conditions législatives et réglementaires relatives aux donneurs leur sont exposées (information, consentement, précautions d'ordre médical, critères de sélection et d'appariement). Les entretiens se déroulent dans une pièce aménagée à cet effet permettant le respect de la confidentialité (art. R. 673-5-4 du CSP). Les conditions d'accueil des couples receveurs doivent rendre impossible la rencontre avec les donneurs. Dans le cadre du don d'ovocytes, les couples doivent être informés de la nécessité de recourir à la fécondation in vitro avec le sperme du conjoint de la receveuse, et de la congélation des embryons qui en sont issus, ainsi que du délai d'attente de six mois au minimum avant leur transfert, rendu nécessaire pour refaire les tests sanitaires chez la donneuse.

Le couple doit avoir dans tous les cas un ou plusieurs entretiens avec le psychiatre ou le psychologue qui lui expose les enjeux du don de gamètes et évoque avec lui les questions soulevées éventuellement pour l'information de l'enfant sur les circonstances de sa conception. L'opportunité d'une demande d'adoption doit être également envisagée. L'équipe pluridisciplinaire évalue les motivations du couple dans l'intérêt de l'enfant à naître. Un doute sérieux sur la santé psychique des demandeurs ou la validité de leurs motivations pourra conduire, après entretien avec le psychiatre ou le psychologue et concertation au sein de l'équipe, à leur proposer un délai de réflexion supplémentaire ou à ne pas accepter leur demande.

Un consentement est recueilli et confirmé dans les mêmes conditions que pour l'AMP avec les gamètes du couple, comportant notamment, dans le cadre du don d'ovocytes, un consentement pour la congélation des embryons. De plus, le responsable de l'équipe doit exiger la production de l'acte de consentement effectué par déclaration conjointe devant un juge du tribunal de grande instance ou un notaire dans les conditions des articles 1157-2 et 1157-3 du nouveau code de procédure civile. Cet acte mentionne que les informations relatives à la filiation ont été données par le juge ou le notaire. Il doit être fait mention de la date et du lieu de la déclaration conjointe dans le dossier conservé par l'établissement. Le consentement interdit toute contestation relative à la filiation de l'enfant, à moins qu'il ne soit soutenu que cet enfant n'est pas issu de l'AMP ou que le consentement a été privé d'effet.

C'est pourquoi il convient d'être très attentif à la pérennité du consentement. En effet, outre l'éventuelle révocation par écrit, le consentement peut être privé d'effet à la suite de l'une des circonstances suivantes : décès de l'un des membres du couple, dépôt d'une requête en divorce ou en séparation de corps ou cessation de la communauté de vie. Dans ce cas, la filiation de l'enfant pourrait être remise en question.

3.3.2. Attribution et cession des gamètes

Un appariement entre le couple receveur et un donneur ou une donneuse est souhaitable, avec comme seul objectif de ne pas introduire de caractères discordant entre le couple et l'enfant à naître. Il s'effectue en tenant compte des caractéristiques physiques et, éventuellement, des groupes sanguins du couple receveur.

Les gamètes provenant de don ne peuvent être délivrés qu'au praticien mettant en oeuvre l'AMP (insémination artificielle ou FIV) ou au couple receveur (art. R. 673-5-7 du CSP).

Avant toute utilisation de gamètes de donneur et tout transfert d'embryons congelés issus de don d'ovocytes, le praticien devra prendre connaissance des éléments concernant les tests de sécurité sanitaire (art. R. 673-5-13 du CSP).

Les gamètes et embryons issus d'ovocytes cédés doivent être accompagnés du document décrit à l'article R. 673-5-12 du CSP.

3.3.3. Aspects cliniques et biologiques

a) Don de sperme :

L'infertilité masculine demeure l'indication essentielle de l'insémination artificielle avec sperme de donneur (art. L. 152-2 du code de la santé publique, al. 2). En pratique, dans ce cas, sont regroupées les stérilités masculines vraies comme l'azoospermie mais aussi les hypofertilités masculines plus ou moins sévères pour lesquelles une assistance médicale à la procréation intraconjugale ne peut aboutir ou n'a que de très faibles chances de réussite.

Elle peut aussi avoir pour objet d'éviter la transmission à l'enfant d'une maladie d'une particulière gravité (art. L. 152-2 du code de la santé publique, al. 2) ; cela concerne :

- l'indication d'IAD pour cause génétique : elle permet d'éviter de transmettre à l'enfant une maladie génétique engageant son pronostic vital ou entraînant un handicap sévère (maladie dominante chez le père par exemple) ;
- l'indication d'IAD pour séropositivité de l'homme (VIH) : elle reste la seule technique sans risque de contamination de l'enfant et de la partenaire.

La décision d'insémination artificielle avec sperme de donneur quelle qu'en soit l'indication ne peut être prise qu'après concertation de l'équipe pluridisciplinaire.

La technique d'insémination est décrite au chapitre 2.1.2.

La technique de congélation est décrite au chapitre sur l'autoconservation du sperme (cf. 2.6.2). Dans le cas du don, les paillettes sont préalablement codées de façon anonyme.

b) Don d'ovocytes :

Les indications de cette procédure concernent des femmes en âge de procréer principalement, chez lesquelles l'ovulation est impossible : ménopause précoce, dysgénésie gonadique, castration chirurgicale, séquelles de chimiothérapie, de radiothérapie, etc. L'absence ou l'insuffisance marquée de réponse ovarienne à la stimulation lors de plusieurs tentatives de FIV peut également constituer une indication du don d'ovocytes. Enfin, le don d'ovocytes peut être proposé en cas d'anomalie génétique d'une particulière gravité transmissible.

En ce qui concerne la donneuse, il est particulièrement important de suivre des règles de grande prudence dans la stimulation ovarienne, pour ne pas l'exposer à des risques excessifs d'autant que cette dernière ne tire aucun bénéfice pour elle-même de la fécondation in vitro. Il faut de plus la mettre en garde sur les risques de grossesse spontanée pour elle-même. Les ovocytes d'une même donneuse pourront être utilisés pour plusieurs couples receveurs.

En ce qui concerne la receveuse, il est conseillé de ne pas transférer plus de deux embryons, car, dans cette indication, les taux d'implantation sont élevés et le risque de grossesse multiple important.

Il est aussi nécessaire d'insister sur l'importance de mettre en place des procédures permettant de garantir l'anonymat entre donneuses et receveuses.

Lexique

AMP : assistance médicale à la procréation.

CCPPRB : comité consultatif de protection des personnes pour la recherche biomédicale.

CMV : cytomégalo virus.

CNIL : Commission nationale Informatique et liberté.

CNMBRDP : Commission nationale de médecine et de biologie de la reproduction et du diagnostic prénatal.

CSP : code de la santé publique.

FIV : fécondation in vitro.

FIV-D : fécondation in vitro avec gamètes de donneur (spermatozoïdes ou ovocytes).

FIVETE : fécondation in vitro et transfert embryonnaire.

FSH : Follicle Stimulating Hormone.

HTLV : Human T-cell Lymphoma Virus.

IAC : insémination artificielle avec sperme de conjoint.

IAD : insémination artificielle avec sperme de donneur.

ICSI : Intracytoplasmic Sperm Injection (micro-injection).

IGG : immunoglobuline G.

IGM : immunoglobuline M.

LH : Luteinizing Hormone.

LHRH : Luteinizing Hormone Releasing Hormone.

PVP : polyvinylpyrrolidone.

VIH : virus de l'immunodéficience acquise humaine.

Les données figurant dans HosmaT sont présentées uniquement pour faciliter l'accès des professionnels à l'information essentielle.

Aux fins d'interprétation et d'application, seule fait foi la publication sur papier du *Journal Officiel*.

site - <http://www.hosmat.fr> - [retour](#)

Décrets, arrêtés, circulaires

TEXTES GÉNÉRAUX

MINISTÈRE DE LA SANTÉ, DE LA JEUNESSE, DES SPORTS ET DE LA VIE ASSOCIATIVE

Arrêté du 11 avril 2008 relatif aux règles de bonnes pratiques cliniques et biologiques d'assistance médicale à la procréation

NOR : SJSP0809365A

La ministre de la santé, de la jeunesse, des sports et de la vie associative,
Vu le code de la santé publique, notamment ses articles L. 1418-1 (1°), R. 2142-24 et R. 2142-27 ;
Vu l'avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé en date du 7 décembre 2007,

Arrête :

Art. 1^{er}. – Les règles de bonnes pratiques cliniques et biologiques que doivent respecter les établissements de santé, les laboratoires d'analyses de biologie médicale et les organismes autorisés à pratiquer une ou plusieurs activités d'assistance médicale à la procréation définies à l'article R. 2142-1 du code de la santé publique sont énoncées en annexe du présent arrêté.

Art. 2. – L'arrêté du 12 janvier 1999 relatif aux règles de bonnes pratiques cliniques et biologiques en assistance médicale à la procréation est abrogé.

Art. 3. – Le directeur général de la santé et la directrice de l'hospitalisation et de l'organisation des soins sont chargés, chacun en ce qui le concerne, de l'exécution du présent arrêté, qui sera publié au *Journal officiel* de la République française.

Fait à Paris, le 11 avril 2008.

ROSELYNE BACHELOT-NARQUIN

A N N E X E

Préambule

L'assistance médicale à la procréation (AMP) s'entend des pratiques cliniques et biologiques permettant l'insémination artificielle et la conception *in vitro*, le transfert d'embryons, ainsi que de toute technique d'effet équivalent permettant la procréation en dehors du processus naturel.

L'AMP est destinée à répondre à la demande parentale d'un couple. Elle a pour objet de remédier à l'infertilité dont le caractère pathologique a été médicalement diagnostiqué ou d'éviter la transmission à l'enfant ou à un membre du couple d'une maladie d'une particulière gravité. L'homme et la femme formant le couple doivent être vivants, en âge de procréer, mariés ou en mesure d'apporter la preuve d'une vie commune d'au moins deux ans et consentant préalablement à l'insémination ou au transfert des embryons.

Le prélèvement d'éléments du corps humain et la collecte de ses produits ne peuvent être pratiqués sans le consentement préalable révocable à tout moment de la personne. Tout don d'éléments du corps humain est anonyme et gratuit.

Les bonnes pratiques en AMP représentent un ensemble de dispositions opposables de prise en charge médicale des patients pour l'ensemble des processus cliniques et biologiques de l'AMP, qu'elle soit réalisée en intra-conjugal ou avec tiers donneur. Elles complètent les dispositions législatives et réglementaires en la matière.

Elles définissent des règles destinées à assurer la qualité des activités, la sécurité des gamètes et des embryons ainsi que la gestion des risques. Elles s'imposent aux organismes, aux établissements de santé et aux laboratoires d'analyses de biologie médicale autorisés pour ces activités, qui donnent aux praticiens les moyens de les mettre en œuvre. Ces règles sont applicables sans préjudice des règlements ou recommandations en vigueur.

Le premier chapitre traite des dispositions générales du système de management de la qualité. Le deuxième chapitre traite des dispositions communes à l'ensemble des techniques d'AMP. Les chapitres suivants traitent des dispositions spécifiques aux différentes techniques d'AMP, à la prise en charge des patients en contexte viral, au don de gamètes et à l'accueil d'embryons.

I. – Dispositions générales du système de management de la qualité

Les actes cliniques ou biologiques d'AMP sont effectués sous la responsabilité d'un ou plusieurs praticiens nommément agréés pour une ou plusieurs des activités cliniques ou biologiques autorisées dans l'établissement de santé ou le laboratoire d'analyses de biologie médicale.

Les membres de l'équipe clinico-biologique désignent parmi les praticiens agréés un coordinateur. Les structures d'AMP mettent en œuvre un système de management de la qualité.

I.1. *Gestion de la qualité*

I.1.1. Responsable de la qualité et management de la qualité

Un responsable de l'assurance qualité est désigné pour la structure d'AMP.

S'il existe déjà un responsable de l'assurance qualité au sein de l'établissement ou du laboratoire, le coordinateur désigne un référent-qualité. Celui-ci, en liaison avec le responsable qualité de l'établissement, veille à la mise en œuvre des dispositions générales du système de management de la qualité. Il élabore et veille à la mise en œuvre, avec le personnel de la structure, des dispositions spécifiques aux activités d'AMP.

La réalisation régulière d'audit est programmée.

I.1.2. Documentation

La structure d'AMP dispose d'un manuel qualité décrivant l'ensemble du système de management de la qualité ainsi que l'architecture et la gestion de la documentation prévues par les dispositifs d'assurance qualité. La structure d'AMP dispose d'un ensemble de procédures et de modes opératoires. Toute modification est tracée. Les documents sont gardés dans des conditions de sécurité et sur une durée identiques à celle du dossier médical.

I.1.3. Dossier médical

En vue de la prise en charge d'un couple faisant intervenir à la fois des actes biologiques et cliniques, un dossier médical commun clinico-biologique est établi. Le contenu de ce dossier est précisé dans le chapitre II du présent texte. S'il est sous forme informatique, le dossier est conforme aux dispositions législatives et réglementaires. Si la prise en charge concerne un patient ou ne met en jeu que des actes biologiques, le dossier tient compte des dispositions énoncées dans le chapitre II du présent texte. Le dossier doit être conservé, conformément à la réglementation en vigueur, pendant vingt ans à compter du dernier passage de la personne dans l'établissement. Au-delà de cette durée, il convient de s'assurer que la confidentialité des informations nominatives est garantie.

I.1.4. Registres

La conservation des gamètes, des tissus germinaux et des embryons fait l'objet d'une inscription dans un registre. Les registres sont conservés dans des conditions de sécurité pendant une durée minimum de trente ans après utilisation clinique. Compte tenu de leur nature, il est conseillé de conserver les registres sans limitation de durée, en veillant strictement à garantir leur confidentialité. S'ils sont sous forme informatique, ils sont conformes aux dispositions législatives et réglementaires.

I.1.5. Traçabilité

La traçabilité est assurée tout au long des étapes d'AMP. Elle concerne les gamètes et les embryons, ainsi que les produits et matériels entrant en contact avec ceux-ci.

Tout flacon, tube, boîte de culture ou paillette contenant les gamètes ou les embryons porte l'identité du couple ou de la personne concernée. S'agissant des gamètes en vue de don, cette disposition est assurée par un code.

Tout prélèvement de gamètes et tout déplacement de gamètes et d'embryons sont accompagnés d'une fiche de traçabilité.

I.1.6. Vigilances

Une procédure de notification des réactions et incidents indésirables liés aux activités d'AMP est établie dans chaque établissement ou laboratoire d'analyses de biologie médicale, en lien avec les autres dispositifs de vigilance existants. Cette procédure est conforme aux dispositions réglementaires relatives à la vigilance en matière d'activités cliniques et biologiques d'AMP.

I.1.7. Système d'information

Le système d'information est conçu de façon à garantir la confidentialité et la conservation des données selon les dispositions légales. Les modalités d'accès, de consultation ou de modification et de sauvegarde des données sont documentées. Le système de management de la qualité prévoit une procédure qui définit la conduite à tenir en cas de défaillance du système d'information.

I.2. *Personnel*

I.2.1. Gestion

Le directeur de l'établissement ou du laboratoire met en œuvre, avec l'aide des praticiens agréés, ou le cas échéant des responsables clinique et biologique, une politique lui permettant d'évaluer, de spécifier et de satisfaire les besoins en personnel, adaptés en compétence et en nombre à l'ensemble des activités. Le planning des personnels garantit la continuité des activités et des soins. Le directeur de l'établissement ou du laboratoire met en œuvre les moyens nécessaires à cet effet. Le directeur de l'établissement ou du laboratoire établit, tient à jour et diffuse l'organigramme du personnel.

I.2.2. Fiches de poste. – Fiches de fonction

Des fiches de poste définissant les activités et les tâches de chaque poste de travail, ainsi que les horaires et les obligations de service sont rédigées par le directeur de l'établissement ou du laboratoire. Elles définissent notamment les exigences de qualification théoriques et pratiques requises.

Une fiche de fonction pour chaque personnel recruté est établie et tenue à jour. Elle comprend l'identification de l'agent, ses diplômes, ses fonctions précédentes et ses formations complémentaires. Elle précise les activités et les tâches du poste ainsi que ses responsabilités. Elle est datée et signée par le responsable de l'activité clinique ou biologique et la personne concernée.

I.2.3. Prérequis. – Habilitation

Pour chaque activité, avant toute prise de fonction, le personnel bénéficie d'une période d'apprentissage théorique et pratique adaptée dont les modalités sont prévues par une procédure. Le responsable clinique ou biologique délivre une habilitation à réaliser les actes qui est intégrée à la fiche de fonction. Ces dispositions concernent aussi les vacataires, les remplaçants, ainsi que tout personnel reprenant son poste après une absence prolongée. Le personnel bénéficie d'une formation de mise à jour lorsqu'une modification de procédure ou une évolution des connaissances scientifiques et des techniques l'exige.

I.2.4. Evaluation périodique des professionnels

La compétence du personnel est évaluée périodiquement selon les modalités définies par le système de management de la qualité.

I.2.5. Formation

Un plan annuel de formation du personnel, en cohérence avec les objectifs de l'établissement ou du laboratoire, est établi et comporte au minimum :

- les formations théoriques et/ou pratiques adaptées à chaque poste ;
- les formations continues portant sur les domaines techniques, spécifiques ou non, et notamment sur les domaines de la qualité et de l'hygiène, du risque viral ou de toute technique nouvelle ;
- les formations à la sécurité, notamment incendie, et, le cas échéant, les formations à la manipulation de l'azote liquide.

I.2.6. Hygiène et sécurité du personnel

Outre les dispositions générales relatives à l'hygiène et à la sécurité du personnel, des mesures adaptées aux activités sont élaborées afin de prévenir le risque de contamination des gamètes et des embryons ou du personnel par des agents infectieux. Des instructions concernant les règles d'hygiène et d'asepsie adaptées aux activités et aux postes de travail sont rédigées et diffusées, précisant notamment la tenue vestimentaire du personnel.

I.3. *Locaux et conditions environnementales*

Les locaux et les conditions environnementales sont adaptés aux processus et au volume d'activité ; ils permettent le maintien de la qualité et la sécurité des gamètes et des embryons et répondent à des exigences élémentaires pour la santé et la sécurité des personnes qui y travaillent. L'organisation des locaux tient compte des flux des personnes, des produits et des déchets, afin d'éviter tout risque de contamination croisée.

Les conditions d'accès sont définies et placées sous la responsabilité du responsable clinique ou biologique. Les pièces affectées à la culture ou à la conservation des gamètes, des embryons et des tissus germinaux ainsi que celles contenant les dossiers médicaux et les registres doivent être équipées d'une protection contre le vol.

I.3.1. Zones d'activité

Dans un même site, l'agencement des locaux cliniques et biologiques et les circuits de circulation des personnels et des patients tiennent compte des contraintes spécifiques à l'AMP de traitement des gamètes et des embryons. Ils prennent en considération les risques toxiques potentiels liés à l'environnement.

Les différentes zones d'activité sont clairement identifiables et font l'objet d'une signalisation adaptée.

La pièce de recueil ovocytaire est réservée à cette activité ou, à défaut, est organisée de façon à garantir le maintien de la qualité et de la sécurité des gamètes.

I.3.2. Salles de stockage en azote

Les salles de stockage en azote contenant les récipients cryogéniques respectent les dispositions du code du travail sur les locaux à pollution spécifique.

L'accès aux salles de stockage est sécurisé et limité au personnel concerné. La porte d'entrée donnant accès à ces salles est signalée par un pictogramme indiquant les risques liés à l'azote et dispose d'un oculus. Ouvrant vers l'extérieur, elle est équipée d'une barre antipanique.

Les salles sont organisées de façon à faciliter les manipulations dans et autour des récipients cryogéniques, la circulation du personnel et les interventions en cas d'accident.

La conduite à tenir en cas d'incident ou d'accident est affichée à l'entrée de chaque salle de stockage.

Une extraction d'air continue, située en partie basse de chaque salle de stockage, compensée par une entrée d'air frais est obligatoire. En cas de forte évaporation d'azote entraînant une baisse significative de la teneur en O₂ de la salle, une extraction d'air forcée est mise en route automatiquement. Celle-ci peut également être déclenchée manuellement. La salle est équipée de capteurs d'oxygène étalonnés régulièrement, permettant la mesure continue de la teneur en O₂. Celle-ci est affichée à l'entrée de la salle. Toute baisse significative de la teneur en O₂ déclenche une alarme locale reportée à une permanence.

A défaut d'une possibilité de mise en application immédiate des dispositions précédentes, un plan de mise à niveau validé par le responsable de l'établissement ou du laboratoire est établi.

I.3.3. Zones annexes

Les vestiaires sont aménagés de façon à permettre une séparation des vêtements de ville et des vêtements de travail.

Les zones relatives au stockage de produits et de matériels, à l'entretien des locaux, ainsi qu'aux repas et repos du personnel sont séparées des zones d'activité médico-technique.

I.3.4. Hygiène et entretien

Les modalités d'entretien et d'hygiène des locaux sont définies avec le comité de lutte contre les infections nosocomiales (CLIN).

Les pièces de traitement des gamètes et des embryons, les salles de recueil du sperme, de ponction des ovocytes et de transfert des embryons sont équipées de lavabos mains-libres, avec distributeur mains-libres de savon liquide et distributeur d'essuie-mains à usage unique.

Un contrôle de la biocontamination des zones de prélèvement ou de traitement des gamètes et des embryons et un comptage particulière de l'air des hottes à flux laminaire sont pratiqués selon des rythmes à déterminer en fonction notamment de l'environnement, du volume et du type des activités et de leurs résultats.

Que l'entretien soit assuré par un service de l'établissement ou par une entreprise extérieure, un contrat est établi sur la base d'un cahier des charges précis. Il intègre une procédure générale de nettoyage tenant compte des produits, de leur mode d'emploi, des surfaces, du temps et du nombre de personnes nécessaires à la réalisation de cet entretien. Les produits utilisés sont choisis parmi ceux ne présentant pas de toxicité connue sur les gamètes ou les embryons aux doses employées.

I.3.5. Elimination des déchets

Le circuit d'élimination des déchets est conforme à la réglementation en vigueur concernant les déchets d'activité de soins.

I.4. *Équipement et matériels*

I.4.1. Dispositions générales

Tout équipement et matériel fait l'objet d'un cahier des charges préalable établi par l'utilisateur, définissant les besoins et détaillant les spécifications fonctionnelles et techniques. La réception et la mise en service de l'équipement et du matériel sont réalisées suivant des modes opératoires définis.

Chaque matériel possède son dossier spécifique, qui comporte :

- la fiche d'identification ;
- les spécifications techniques fournies par le constructeur ;
- le manuel d'emploi compréhensible par les utilisateurs, en langue française ;
- le manuel de maintenance ;
- la fiche de maintenance.

Le dossier est à disposition du personnel qui l'utilise.

Tout matériel est entretenu, vérifié, étalonné et/ou calibré de façon périodique au minimum selon les recommandations du constructeur. Il existe notamment un système de contrôle et d'enregistrement quotidien de la température pour tout matériel ayant pour objectif de maintenir une température stable et définie. La composition de l'atmosphère à l'intérieur des incubateurs, notamment la teneur en gaz, fait l'objet d'une procédure de contrôle régulier.

Le contrat de maintenance précise les interventions nécessaires et les pièces à changer, ainsi que le calendrier des interventions. Après une intervention de maintenance ayant nécessité le changement d'une pièce du matériel, celui-ci doit être à nouveau testé et qualifié.

En cas d'anomalie de fonctionnement ou de panne d'un appareil et en l'absence de matériel de secours, un mode opératoire indique les mesures permettant d'assurer la continuité de l'activité. Les conséquences éventuelles de l'anomalie sur les résultats antérieurs sont également appréciées afin de mettre en place des mesures correctives adéquates.

Toutes les interventions de maintenance sont consignées :

- dans le dossier spécifique de chaque matériel ;
 - dans un document établi par le réparateur, daté et signé conjointement par lui et le responsable de la structure, indiquant que l'appareil est conforme aux spécifications du constructeur.
- L'établissement ou le laboratoire tient à jour la liste et la localisation du matériel.

I.4.2. Liste du matériel

Toute structure autorisée à pratiquer le recueil par ponction d'ovocytes doit être équipée dans ses locaux, au minimum, du matériel suivant :

- un échographe de haute définition avec sonde vaginale ;
- un matériel de ponction folliculaire à usage unique, la sonde d'échographie étant stérilisée et/ou protégée de manière à assurer la sécurité sanitaire ;
- un système permettant le maintien des prélèvements à $37\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$ jusqu'à leur traitement au laboratoire en tant que de besoin.

Toute structure autorisée à pratiquer le recueil par ponction de spermatozoïdes est équipée, au minimum d'un système permettant le maintien des prélèvements à une température comprise entre 20 °C et 35 °C jusqu'à leur traitement au laboratoire.

Toute structure autorisée à pratiquer les activités biologiques d'AMP est équipée au minimum du matériel suivant :

Pour le traitement du sperme en vue d'insémination :

- une hotte à flux laminaire vertical, en accord avec la réglementation en vigueur ;
- une centrifugeuse répondant aux normes en vigueur ;
- un microscope droit ;
- un incubateur.

Pour le recueil chirurgical de spermatozoïdes :

- un microscope, à disposition au bloc opératoire ou à proximité de celui-ci.

Pour la fécondation *in vitro* sans micro-injection, outre le matériel précédent :

- une hotte à flux laminaire ;
- un microscope inversé avec platine chauffante ou enceinte thermostatée permettant le maintien des prélèvements à $37\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$;
- un stéréomicroscope équipé d'une platine chauffante, thermostatée permettant le maintien des prélèvements à $37\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$ ou un dispositif produisant le même effet ;
- deux incubateurs à CO_2 (de façon à disposer d'un matériel de secours en tant que de besoin) ou tout autre dispositif adéquat à la culture des gamètes et embryons.

Pour la fécondation *in vitro* avec micro-injection (ICSI), outre le matériel précédent :

- un dispositif de micromanipulation sur un microscope inversé équipé d'une platine chauffante.

Pour la congélation et la conservation des gamètes et des embryons et des tissus germinaux, outre le matériel décrit ci-dessus pour la FIV :

- un appareil permettant le conditionnement automatique du sperme en paillettes en cas de volume important d'activité ;
- une soudeuse de paillette ;

- un appareil automatisé de descente en température avec bonbonne autopressurisée ;
- des cuves de stockage des paillettes dans l'azote liquide ;
- une cuve d'azote de dépannage.

Les équipements et les postes de travail sont adaptés en nombre aux locaux et au volume d'activité, notamment en ce qui concerne les incubateurs à CO₂, de façon à éviter des modifications de température et de pH lors d'ouvertures trop fréquentes.

I.4.3. Hygiène et entretien

Le personnel en charge du fonctionnement des équipements et des matériels en assure l'entretien. Un mode opératoire tenant compte des spécifications du constructeur décrit les mesures d'entretien périodique et les conditions de stérilisation si nécessaire.

L'ensemble du petit matériel en contact avec les gamètes et les embryons est stérile et à usage unique. Lorsqu'il est fourni non stérile, il est stérilisé selon une procédure conforme à la réglementation en vigueur.

Tous les produits d'entretien utilisés sont choisis parmi ceux ne présentant pas de toxicité connue sur les gamètes ou les embryons aux doses employées.

I.5. *Milieux de culture et solutions entrant en contact avec les gamètes, les tissus germinaux et les embryons*

Les milieux de culture et autres solutions entrant en contact avec les gamètes, les tissus germinaux et les embryons, y compris les milieux de rinçage utilisés pour la ponction folliculaire, répondent aux exigences réglementaires en vigueur. Les procédures de réception et d'utilisation, tenant compte des spécifications du fabricant, sont mises en place.

Chaque flacon comporte la date limite d'utilisation. La date de réception au laboratoire et celle de la première utilisation sont notées à l'aide d'un marqueur indélébile sur le flacon.

I.6. *Transport et étiquetage*

Le déplacement des gamètes et des embryons suit une procédure écrite et validée. Le matériel de transport est adapté aux gamètes et aux embryons, notamment aux contraintes de stabilité thermique, et aux conditions du déplacement. L'étiquetage comporte les mentions suivantes :

- « gamètes » ou « embryons » ;
- « fragile » ;
- « ne pas irradier » ;
- identification de l'établissement de départ et coordonnées d'une personne contact ;
- identification de l'établissement ou du médecin de destination et coordonnées d'une personne contact ;
- date et heure de départ ;
- risque biologique le cas échéant ;
- le cas échéant, « pour usage autologue ».

Une fiche de traçabilité accompagne les gamètes et les embryons au cours du déplacement. Elle mentionne :

- la nature et la dénomination du produit ;
- les conditions de conservation en température durant le transport ;
- l'identification des personnes intervenant au départ et à l'arrivée, ainsi que leurs coordonnées ;
- l'identification du transporteur ;
- les horaires de prise en charge et de délivrance du produit ;
- les différentes étapes du transport le cas échéant ;
- tout retard ou incident intervenus pendant le transport, ainsi que les personnes à contacter en cas d'incident.

Un exemplaire de cette fiche complétée et signée est conservé par le destinataire et une copie est adressée à l'expéditeur.

A l'arrivée, l'intégrité du matériel de transport est vérifiée.

Des instructions en cas d'incident sont remises à la personne assurant le transport.

II. – Dispositions communes à l'ensemble des activités d'AMP

II.1. *Entretiens des personnes concernées avec l'équipe médicale pluridisciplinaire*

II.1.1. Information du couple ou des personnes concernées

Une information loyale, claire et appropriée sur toutes les étapes de la prise en charge est donnée aux personnes concernées au cours de ces entretiens, leur permettant de participer à la prise de décision. L'équipe

pluridisciplinaire s'assure que les informations ont été bien comprises, que les personnes ont pu poser les questions qu'elles souhaitent et qu'elles ont obtenu des réponses à ces questions. Il est fait appel si nécessaire à un interprète.

Chaque technique est présentée avec ses chances de réussite et d'échec, la pénibilité et les contraintes, notamment d'ordre matériel, financier ou psychologique, qu'elle peut entraîner. Sont exposés les effets secondaires et les risques potentiels à court et à long terme, liés notamment à la stimulation ovarienne, au geste chirurgical et aux techniques biologiques utilisées.

L'information est donnée au couple sur les probabilités de réussite en termes de naissance, le risque de survenue de grossesses multiples avec leurs complications et l'état des connaissances concernant la santé des enfants nés après AMP. La possibilité d'interrompre la prise en charge est d'emblée envisagée.

L'information porte également sur l'obligation légale de l'Agence de la biomédecine d'évaluer les conséquences éventuelles de l'AMP sur la santé des personnes qui y ont recours et des enfants qui en sont issus. Le praticien encourage le couple à participer aux études épidémiologiques qui pourront lui être proposées.

Le couple est informé sur les probabilités de concevoir naturellement, le cas échéant après chirurgie des trompes ou des voies excrétrices masculines. Des informations sur l'adoption sont également délivrées.

La remise d'un dossier guide complète ces informations.

II.1.2. Confirmation de la demande de recours à l'AMP par un couple

La demande est confirmée par écrit, par les deux membres du couple, à l'issue d'un délai minimum d'un mois à compter du dernier entretien.

II.2. Indications

Un bilan diagnostique du couple est réalisé préalablement à toute AMP.

Il comprend au minimum, après anamnèse, les examens suivants :

- examen clinique ;
- exploration du cycle et du statut ovarien ;
- exploration utérine ou utéro-tubaire selon les cas ;
- spermogramme, spermocytogramme, spermoculture ;
- tests de sécurité sanitaire.

Le bilan est complété en fonction des contextes clinique et biologique. Il comprend également la recherche d'éventuels facteurs de risques obstétricaux. L'équipe pluridisciplinaire fait appel, en tant que de besoin, à d'autres spécialistes, notamment à un médecin qualifié en psychiatrie ou à un psychologue.

Les critères médicaux de prise en charge sont appréciés par l'équipe clinico-biologique pluridisciplinaire. Pour chaque couple et chaque tentative, la balance bénéfico-risque du recours à l'AMP est évaluée par l'équipe pluridisciplinaire. Elle prend en compte notamment l'âge des membres du couple, la durée d'infertilité, les résultats du bilan diagnostique, les risques et l'efficacité des techniques.

A l'issue de ce bilan, les patients sont informés des résultats des examens, du diagnostic de l'infertilité et de la stratégie thérapeutique proposée. La possibilité de réaliser l'AMP et le délai de sa mise en œuvre sont discutés au sein de l'équipe pluridisciplinaire et avec le couple, en fonction de l'âge de la femme et de l'homme, quelle que soit la cause de l'infertilité.

L'équipe pluridisciplinaire peut à tout moment différer ou refuser la prise en charge dans les limites fixées par la loi et le code de déontologie, dans la mesure où tout médecin doit tenir compte des avantages et inconvénients des différentes investigations et thérapeutiques possibles, et dans la mesure où les textes régissant l'AMP prévoient un délai de réflexion supplémentaire lorsque l'équipe le considère nécessaire dans l'intérêt de l'enfant à naître.

II.3. Identification des couples

A chaque étape de la prise en charge en vue d'une AMP (prélèvement de gamètes, remise de paillettes, d'autoconservation de gamètes ou d'embryons, insémination ou transfert embryonnaire), l'identification de l'homme et de la femme constituant le couple ou de la personne concernée est vérifiée par tout document officiel comportant une photographie. Les modalités de la vérification sont notées et signées par la personne qui l'a réalisée.

Une procédure particulière s'applique à l'identification des donneurs et des donneuses.

II.4. Tests de sécurité sanitaire

II.4.1. AMP intra-conjugale et autoconservation de gamètes ou de tissus germinaux

La recherche des marqueurs biologiques d'infection par les virus de l'immunodéficience humaine

(VIH1/VIH2), de l'hépatite B (VHB) (antigène HBs, anticorps anti-HBc et anti-HBs), de l'hépatite C (VHC) et de l'agent de la syphilis est effectuée chez les deux membres du couple dans les six mois précédant la tentative d'AMP s'il s'agit d'une première détermination et ultérieurement chaque fois que le délai entre la tentative et la dernière détermination est supérieur à douze mois. En cas de positivité de l'un des marqueurs virologiques, l'avis d'un expert du domaine concerné est requis.

Pour la syphilis, en cas de séropositivité avec risque de transmission, l'AMP est précédée d'un traitement spécifique.

En l'absence d'immunité contre la rubéole, la vaccination est proposée avant toute tentative d'AMP.

En l'absence d'immunité vis-à-vis de la toxoplasmose, des contrôles réguliers sont réitérés.

En cas de sérologie VHC positive, les prélèvements de gamètes peuvent ne pas être traités dans un circuit spécifique d'AMP en contexte viral dans les deux situations suivantes :

- lorsque la virémie VHC est indétectable, en dehors de tout traitement antiviral ;
- lorsque six mois après l'arrêt du traitement antiviral elle reste indétectable.

Des examens supplémentaires sont éventuellement réalisés :

- recherche d'anticorps anti-HTLV1 pour les personnes vivant dans des régions à forte incidence ou originaires de ces régions ou dont les partenaires sexuels ou les parents sont originaires de ces régions ;
- recherches spécifiques en fonction d'une exposition particulière des personnes.

En cas d'autoconservation de sperme en urgence, tout est mis en œuvre pour connaître le statut sérologique avant le traitement et le conditionnement du sperme au laboratoire.

II.4.2. AMP avec don de gamètes

En vue d'un don de gamètes, la recherche des marqueurs biologiques d'infection ou, lorsque cela est techniquement possible, d'infectivité, est réalisée chez le donneur ou la donneuse, pour les virus VIH1, VIH2, HTLV1, HTLV2, VHB, VHC, CMV et pour la syphilis. Des recherches spécifiques sont réalisées en fonction d'une exposition particulière des donneurs.

En cas de don de sperme, cette recherche est renouvelée, à l'exception des marqueurs HTLV1 et HTLV2, six mois après le don ou le dernier recueil, si les dons ont été réalisés à plusieurs dates. Les paillettes de sperme ne sont cédées qu'à l'issue du deuxième contrôle demeuré négatif pour les virus VIH1, VIH2, VHB, VHC.

En cas de don d'ovocytes, ce deuxième contrôle est réalisé dès les premiers jours de la stimulation ovarienne. Le transfert d'embryons n'est réalisé que si les résultats de ce contrôle sont connus.

En cas de sérologie CMV positive :

- en présence d'IgM, le don est récusé ;
- en l'absence d'IgM, les gamètes peuvent être attribués à des couples receveurs dont l'un au moins des membres est positif pour le CMV.

Outre les analyses ci-dessus, il est nécessaire de pratiquer une spermoculture ainsi qu'une recherche de *chlamydiae* par la technique la plus sensible.

Enfin, des examens supplémentaires sont éventuellement réalisés lorsque le donneur vit dans des régions à forte incidence ou est originaire de ces régions ou dont les partenaires sexuels ou les parents sont originaires de ces régions ou lorsque des voyages exposent le donneur à des risques particuliers.

Ne peuvent être retenus les donneurs de gamètes dont l'interrogatoire révèle un risque potentiel de transmission de maladie de type encéphalopathie subaiguë spongiforme, notamment ceux ayant reçu des produits extractifs humains provenant du système nerveux central, ceux ayant subi une exploration neurochirurgicale invasive ou ceux présentant des antécédents familiaux. Dans le cas où l'un ou plusieurs des éléments précités sont retrouvés, les spermatozoïdes ou les ovocytes ne peuvent être cédés ou, le cas échéant, l'embryon ne peut être transféré. Les réponses à l'interrogatoire sont mentionnées dans le dossier du donneur.

En ce qui concerne les couples receveurs, les tests de sécurité sanitaire sont ceux pratiqués dans le cadre de l'AMP intraconjugale figurant au chapitre II.4.1.

II.4.3. Accueil d'embryons

Les tests applicables sont ceux de l'AMP intraconjugale figurant au chapitre II.4.1. Un contrôle est réalisé au moins six mois après la date de la congélation embryonnaire.

II.5. Dossier médical commun du couple

Ce chapitre ne s'applique ni aux donneurs de gamètes, ni aux personnes pour lesquelles une autoconservation de gamètes est réalisée en vue d'une utilisation différée.

Le praticien agréé pour les activités de recueil et traitement du sperme en vue d'une insémination artificielle dispose d'un dossier médical. Pour l'équipe clinico-biologique pluridisciplinaire réalisant les activités de fécondation *in vitro*, le dossier médical est commun. Le dossier comprend au minimum :

Les pièces exigées avant le recours à l'AMP :

- les éléments cliniques et biologiques communs à toute AMP ;

- les comptes rendus des AMP antérieures et leurs résultats ;
- les éléments cliniques et biologiques spécifiques de chaque AMP ;
- le double des comptes rendus des tentatives remis aux patients ;
- tout élément relatif à la survenue d'un événement indésirable (dans le cadre de l'AMP vigilance).

Les pièces exigées avant le recours à l'AMP sont :

- la photocopie d'un document officiel portant une photographie de chaque membre du couple ;
- un justificatif du mariage ou tout document apportant les éléments en faveur d'une durée de vie commune d'au moins deux ans ;
- le consentement écrit du couple, signé préalablement à la mise en œuvre de l'AMP et renouvelé avant chaque tentative d'AMP, y compris avant chaque transfert d'embryons congelés ;
- un engagement écrit du couple d'informer l'équipe pluridisciplinaire, à chacune des étapes de la prise en charge, de toute modification concernant sa situation familiale et son lieu de résidence.

Les éléments cliniques et biologiques communs à toute AMP sont :

- les résultats de la concertation clinico-biologique, avec notamment l'indication de l'AMP, accompagnée des éléments qui ont permis de l'établir, le cas échéant, la conclusion des prises en charge antérieures ;
- les résultats des tests relatifs à la sécurité sanitaire ;
- les traitements administrés et la réponse ovarienne à la stimulation ;
- en cas de grossesse, une information sur l'évolution de celle-ci et sur l'état de santé du ou des nouveau-nés.

Les éléments cliniques et biologiques spécifiques aux inséminations sont :

- les documents de suivi de l'induction de l'ovulation et la détermination du moment estimé de l'ovulation, le rang de la tentative ;
- l'origine du sperme, frais ou congelé ;
- la date et l'heure du recueil de sperme, de sa préparation et de l'insémination ;
- les paramètres du sperme utilisé pour l'insémination et le nombre de spermatozoïdes à mobilité progressive inséminés.

Les éléments cliniques et biologiques spécifiques à la FIV avec ou sans micromanipulation sont :

- le compte rendu de la ponction ;
- le nombre et la qualité des ovocytes recueillis et inséminés ou micro-injectés ;
- les techniques mises en œuvre ;
- les paramètres spermatiques du jour de la tentative et le nombre de spermatozoïdes utilisés pour l'insémination *in vitro* ;
- le compte rendu du recueil chirurgical des spermatozoïdes et les éléments de leur cryoconservation le cas échéant ;
- le nombre d'ovocytes fécondés le lendemain de l'insémination ou de la micro-injection, incluant les éventuelles fécondations anormales ;
- le nombre et la morphologie des embryons obtenus et leur stade de développement jusqu'au moment du transfert et de la congélation ;
- la date du transfert et le nombre d'embryons transférés ;
- la date de congélation et le nombre d'embryons congelés.

Le compte rendu de la tentative d'AMP comprend au minimum :

- le rang de la tentative ;
- le type de stimulation ovarienne ;
- le nombre d'ovocytes utilisés, inséminés ou micro-injectés en cas de fécondation *in vitro* ;
- les éventuelles techniques particulières ;
- le nombre total d'embryons obtenus, transférés et congelés en cas de fécondation *in vitro* ;
- tout autre élément jugé utile pour la poursuite de la prise en charge.

III. – Dispositions spécifiques aux différentes activités d'AMP

Les activités d'AMP imposent le recueil du consentement des deux membres du couple.

III.1. *Insémination artificielle avec sperme de conjoint (IAC)*

Les IAC constituent une AMP à part entière. Elles sont précédées d'une vérification de la perméabilité tubaire, d'un spermogramme-spermocytogramme éliminant notamment une tératospermie sévère, d'une spermoculture récente et d'un test de migration-survie des spermatozoïdes. Le nombre total de spermatozoïdes mobiles progressifs disponibles est au moins égal à un million avec une survie spermatique positive à vingt-quatre heures.

III.1.1. Coordination clinicien/biologiste

Bien que seule l'activité biologique soit soumise à autorisation, la collaboration entre le clinicien et le biologiste est impérative, établie dès la réalisation du bilan du couple ; le biologiste participe notamment à la décision de prise en charge en IAC du couple et il n'assure la préparation du sperme que s'il obtient une information complète sur :

- l'indication de l'IAC ;
- les données détaillées d'un test de migration-survie des spermatozoïdes (TMS) et d'une spermoculture datant de moins de six mois (afin d'éviter tout risque de contamination de la femme) ;
- le respect des conditions légales ;
- la signature du consentement à l'IAC qu'il doit conserver ;
- les résultats des tests de sécurité sanitaire (sérologies VIH, hépatites B et C, et syphilis).

Il peut demander des explorations complémentaires s'il le juge nécessaire.

Le clinicien transmet systématiquement au biologiste les résultats de chaque IAC ainsi que l'issue de la grossesse éventuelle.

III.1.2. Actes cliniques

L'insémination est précédée d'une stimulation de la croissance folliculaire, en vue d'obtenir la maturation de un à trois follicules au maximum et de façon générale un nombre limité de follicules en croissance. Un monitoring de l'ovulation est indispensable permettant de surseoir à l'insémination si plus de 3 follicules matures sont mis en évidence, sauf exceptions documentées. La stimulation de l'ovulation et le déclenchement tiennent compte de l'âge de la patiente, de l'indication, du rang de la tentative et des réponses antérieures aux stimulations.

L'insémination est réalisée en intra-utérin.

III.1.3. Actes biologiques

Le recueil et la préparation de sperme sont réalisés dans un laboratoire d'AMP autorisé. Le sperme est recueilli dans des conditions d'asepsie satisfaisantes. Les procédures d'hygiène du recueil font l'objet d'une information spécifique aux patients et sont affichées dans la pièce destinée au recueil, en plusieurs langues en tant que de besoin.

Chaque flacon de recueil et chaque tube à centrifuger portent le nom des deux membres du couple ou un numéro d'identification.

L'analyse des paramètres spermatiques initiaux et après préparation est indispensable avec, au minimum, l'évaluation de la numération et de la mobilité des spermatozoïdes. Elle fait l'objet d'un compte rendu. En cas d'utilisation de spermatozoïdes congelés, les paramètres spermatiques initiaux sont communiqués par le centre ayant congelé le sperme. L'IAC est réalisée avec au moins 1 million de spermatozoïdes mobiles progressifs généralement concentrés dans un volume de 0,2 à 0,3 ml de milieu. A défaut, l'indication de poursuivre les IAC est rediscutée.

Lorsque la préparation spermatique est transportée, le délai entre la préparation et l'insémination est le plus court possible et suit une procédure écrite qui permet notamment le maintien du prélèvement entre 20 °C et 35 °C dans un contenant étanche.

III.2. La fécondation in vitro intraconjugale (FIVC)

III.2.1. Actes cliniques

Les indications de la FIV intraconjugale, avec ou sans micromanipulation, sont posées par l'équipe médicale clinico-biologique pluridisciplinaire. Elles peuvent être absolues (absence ou obstruction tubaire bilatérale, insuffisance spermatique majeure...) ou relatives (altération tubaire, endométriose, insuffisance spermatique modérée, idiopathique...). Dans les indications relatives, la FIV est proposée après avoir discuté avec le couple des autres possibilités thérapeutiques et les avoir éventuellement mises en œuvre.

Un nouveau cycle de ponction ne peut être débuté tant que le couple dispose d'embryons congelés provenant d'une ponction antérieure, sauf si un problème de qualité affecte ces embryons. Dans ce dernier cas, le couple exprime par écrit son souhait de renoncer ou non à son projet parental concernant les embryons.

La stimulation ovarienne vise à obtenir un nombre raisonnable d'ovocytes matures tout en limitant le risque d'hyperstimulation ovarienne sévère chez la patiente. La surveillance de la stimulation repose sur un suivi échographique, et éventuellement hormonal. La surveillance échographique se fait de préférence par voie vaginale. La mesure des diamètres folliculaires est répétée en fonction de la réponse de chaque patiente : trois ou quatre échographies sont en général suffisantes. L'étude de l'épaisseur et des caractéristiques de l'endomètre peut y être associée. Lorsque la stimulation de l'ovulation est assurée par un clinicien non agréé, les modalités de la stimulation, de sa surveillance, de son arrêt éventuel, ainsi que la décision de déclenchement de l'ovulation, sont discutées avec un des cliniciens agréés.

En cas de refus de la congélation embryonnaire par le couple, le choix d'une stimulation paucifolliculaire est à privilégier.

La ponction folliculaire est réalisée trente-quatre à trente-huit heures après le déclenchement de l'ovulation, généralement sous échographie et par voie vaginale. Le type d'anesthésie pratiquée tient compte du choix préalable de la patiente ; en cas d'anesthésie locorégionale ou générale, une consultation préanesthésique est réalisée. Si nécessaire en cours de ponction, l'intervention d'un anesthésiste est possible pour la réalisation d'une anesthésie générale.

Les liquides folliculaires sont transportés jusqu'au laboratoire dans des conditions de température et de milieu qui préservent les caractéristiques et la fonction biologique des ovocytes. Lorsque le lieu de ponction n'est pas attenant au laboratoire, une fiche de traçabilité accompagne les prélèvements.

III.2.2. Actes biologiques

Le recueil du sperme se fait au laboratoire d'AMP. Lorsque des problèmes de recueil sont connus, le sperme peut être congelé préalablement à la tentative de FIV de manière à être disponible en cas d'échec de recueil le jour de la tentative.

Lorsque le sperme utilisé provient de paillettes d'autoconservation, le conjoint, à qui sont remises les paillettes après vérification de son identité, consent par écrit à leur utilisation. A titre exceptionnel, si le conjoint est absent le jour du recueil ovocytaire, la tentative ne peut être réalisée que si le biologiste a reçu la confirmation écrite du maintien de son consentement à la FIV intraconjugale.

Les conditions de culture optimales imposent la maîtrise de plusieurs paramètres, notamment l'asepsie, la température et le pH. Les manipulations sont réalisées sous enceinte stérile à flux adapté, avec du matériel stérile ne présentant pas de toxicité connue pour les gamètes et les embryons et des milieux de culture adaptés. La température est maintenue par tout moyen adéquat à $37\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$, pendant la culture, les manipulations et le transport éventuel des ovocytes et des embryons. Le pH est maintenu autour de 7,2-7,4 grâce à une atmosphère gazeuse enrichie en CO_2 , pendant toute la durée de la culture.

Lorsqu'une culture prolongée des embryons est réalisée, un milieu de culture spécifique répondant aux normes en vigueur ou, dans le cas d'une coculture, des cellules autologues sont utilisés.

Lorsque le couple refuse la congélation embryonnaire, le nombre d'ovocytes traités est limité à deux ou trois, en fonction du nombre d'embryons que l'on souhaite transférer, le couple en ayant été averti au moment du consentement.

III.2.3. Transfert embryonnaire

Les modalités du transfert s'appuient sur les données cliniques de la patiente et l'évaluation préalable des possibilités de transfert. Il est possible de recourir à l'échographie et si besoin à l'anesthésie générale.

Le choix des embryons à transférer et du jour du transfert est expliqué au couple. Selon leur cinétique de clivage et leur aspect morphologique, le biologiste peut décider de ne pas transférer et/ou de ne pas congeler les embryons obtenus.

Le nombre d'embryons à transférer est discuté conjointement entre le couple, le clinicien et le biologiste. Ce nombre dépend de la cinétique de clivage et de la morphologie des embryons, des résultats des tentatives antérieures éventuelles, de l'âge de la patiente et de ses antécédents. Il est autant que possible limité à deux embryons transférés, voire un seul dans certaines indications. Au-delà de deux embryons, les raisons sont justifiées dans le dossier médical du couple.

Préalablement au transfert, les couples sont informés des probabilités de réussite et du risque de survenue de grossesse multiple, ainsi que de tout événement indésirable survenu au cours des phases clinique et biologique de leur tentative.

III.2.4. FIV avec micro-injection (ICSI)

L'ICSI est mise en œuvre dans les cas où la fécondation *in vitro* par les techniques conventionnelles est impossible ou a de faibles chances de réussite :

- en première intention, dans les cas d'infécondités masculines sévères ;
- en cas d'échec de fécondation ou de paucifécondation lors de tentatives antérieures.

Si d'autres indications sont envisagées, le choix de la technique et ses raisons sont alors clairement expliqués au couple et consignés dans le dossier médical du couple.

La préparation des spermatozoïdes est réalisée en fonction des caractéristiques spermatiques.

La micro-injection est réalisée après décoronisation et évaluation de la qualité et de la maturité ovocytaire, qui sont consignées dans le dossier médical du couple.

En cas de traitement d'une partie des ovocytes avec et une autre partie sans micromanipulation, la décision est justifiée et documentée dans le dossier. Si des embryons sont issus des deux techniques, ils ne sont en principe pas transférés simultanément, sauf justification dans le dossier.

III.2.5. Congélation des embryons

Une bonne pratique de la FIV implique la possibilité de congeler les embryons non transférés en vue de les transférer ultérieurement. Cependant, la congélation ne peut être entreprise qu'avec l'accord du couple donné

préalablement à la tentative. L'indication principale concerne les cas où le nombre d'embryons obtenus est supérieur au nombre d'embryons transférés. La congélation peut aussi être proposée s'il est nécessaire de différer le transfert pour raison majeure ou avant traitement potentiellement stérilisant dans le cadre de la préservation de la fertilité.

La congélation peut intervenir du stade des pronuclei au stade blastocyste.

Les embryons présentant un taux élevé de fragmentation ou un important retard de développement ne sont pas congelés. Les embryons sont conditionnés à raison de un ou deux par paillette, afin de maîtriser au mieux le nombre d'embryons transférés après décongélation. Les paillettes utilisées présentent une garantie d'étanchéité attestée par le fournisseur. Elles portent très lisiblement les indications permettant l'identification des embryons et du couple concerné.

Le transfert d'embryons décongelés peut être réalisé lors de cycles « naturels », stimulés ou substitués avec monitoring du cycle. En cas de stimulation, la réponse ovarienne doit rester paucifolliculaire. Le délai entre le moment estimé de l'ovulation et le transfert tient compte du délai ponction-congélation et du stade embryonnaire.

Tous les couples pour lesquels des embryons sont conservés sont interrogés annuellement sur leur projet parental potentiel et sur le devenir des embryons. En cas de non-réponse à un premier courrier, il est nécessaire de chercher à contacter le couple, notamment au moyen d'une lettre recommandée avec accusé de réception.

III.3. *Recueil chirurgical de spermatozoïdes*

En cas de recueil chirurgical de spermatozoïdes, un contrôle biologique doit pouvoir être réalisé sur place ou à proximité immédiate du bloc chirurgical, de manière à guider le chirurgien dans la poursuite ou l'arrêt du prélèvement.

Après préparation sous hotte à flux laminaire, les spermatozoïdes sont cryoconservés pour une utilisation différée. Si les prélèvements sont réalisés de façon synchrone au recueil ovocytaire, les spermatozoïdes surnuméraires sont congelés quand leur qualité le permet.

Un délai de six mois minimum est recommandé entre deux prélèvements.

III.4. *Conservation des gamètes et des tissus germinaux à usage autologue*

III.4.1. Information et consentement

Toute personne devant subir un traitement présentant un risque d'altération de sa fertilité a accès aux informations concernant les possibilités de conservation de gamètes ou de tissu germinaux. Lorsque la conservation est réalisée dans le contexte d'une pathologie mettant en jeu le pronostic vital, le patient reçoit une information spécifique et ciblée.

Le patient, le titulaire de l'autorité parentale s'il s'agit d'un mineur ou le tuteur si la personne est placée sous tutelle donne par écrit son consentement.

La restitution ultérieure des paillettes n'est faite qu'au patient lui-même.

Au-delà de la première année de conservation, il est nécessaire de s'assurer chaque année de la volonté du patient de poursuivre ou non la conservation. Seul le patient peut exprimer par écrit sa volonté de poursuivre ou de mettre fin à la conservation de ses paillettes. En cas de décès, il est mis fin à la conservation des gamètes ou des tissus germinaux.

III.4.2. Conservation des gamètes

Le conditionnement du sperme est réalisé dans des paillettes présentant une garantie d'étanchéité attestée par le fournisseur. Le patient et son médecin sont informés des paramètres du sperme, de la qualité et du nombre de paillettes conservées.

La congélation des ovocytes est proposée, à titre exceptionnel, notamment en cas d'impossibilité de mise en fécondation immédiate. La congélation d'ovocytes peut aussi être proposée en vue de préserver la fertilité.

III.4.3. Conservation des tissus germinaux

Lorsque le prélèvement et la cryoconservation de tissu germinaux sont proposés, le caractère incertain de la résistance à la cryoconservation et de l'efficacité de l'utilisation ultérieure de ces tissus fait l'objet d'une information spécifique des personnes concernées, y compris des enfants dès qu'ils sont en âge de comprendre. En l'état actuel des connaissances, les modalités de l'utilisation ultérieure restent du domaine de la recherche et doivent satisfaire à la réglementation en vigueur.

III.5. *Techniques particulières*

Les modifications des techniques de préparation, de fécondation, de culture ou de conservation des gamètes ou des embryons, validées par la littérature ou par l'usage, sont soumises à une évaluation réalisée par l'Agence de la biomédecine. *A contrario*, les techniques non validées par la littérature ou par l'usage et qui relèvent de l'innovation sont soumises aux règles relatives aux recherches biomédicales.

IV. – Dispositions spécifiques à la prise en charge des couples en contexte viral

Lorsqu'au sein d'un couple sollicitant une AMP au moins l'un des deux partenaires présente une infection virale à VIH, VHC et/ou VHB et que ses gamètes présentent un risque viral potentiel comme défini ci-dessous, la prise en charge se fait dans un circuit spécifique à risque viral.

Les établissements ou laboratoires qui souhaitent développer l'activité d'AMP en contexte viral adressent à l'Agence de la biomédecine une déclaration d'intention accompagnée d'un dossier complet décrivant les moyens mobilisés. Ces moyens doivent permettre une prise en charge clinique et biologique dans les meilleures conditions de sécurité et de qualité.

IV.1. Organisation des installations et des locaux

Un laboratoire spécifique est affecté à cette activité, avec des postes de travail et du personnel dédiés de façon à organiser un circuit séparé pour le recueil et le traitement des gamètes et des embryons qui comportent un risque viral.

Un laboratoire spécifique est mis en place dans toute nouvelle structure souhaitant développer cette activité. Dans l'attente de la mise en place d'un laboratoire spécifique, un plan de mise à niveau est programmé. Dans les structures ne disposant pas d'un laboratoire spécifique, la dissociation dans le temps de l'activité d'AMP en contexte viral permet, de façon transitoire, le maintien de cette activité.

L'équipement spécifique comporte notamment une centrifugeuse à nacelles étanches et une hotte à flux laminaire adaptée au risque viral, avec écran protecteur assurant une protection efficace du manipulateur. Des procédures spécifiques visant à réduire les risques de contamination du conjoint, de l'enfant à naître et du personnel sont rédigées et validées par le CLIN.

IV.2. Composition et formation de l'équipe médicale pluridisciplinaire

Une équipe pluridisciplinaire d'AMP, à laquelle s'adjoignent un microbiologiste (virologue), un médecin spécialiste de l'infection VIH et/ou un spécialiste en hépatologie est spécifiquement constituée. Le personnel est formé par des professionnels expérimentés à la manipulation de prélèvements comportant un risque viral.

IV.3. Modalités de prise en charge en contexte VIH

Outre l'information délivrée à tout couple avant une tentative d'AMP, une information spécifique est donnée notamment sur l'intérêt et les limites des techniques d'AMP pour réduire le risque de contamination au moment de la procréation. Le couple dont un des membres est infecté par le VIH est informé de l'importance d'éviter toute conduite à risque de contamination, pendant et après l'AMP, notamment en ayant des rapports sexuels protégés.

Le patient, homme ou femme, infecté par le VIH peut être traité ou non pour son infection à VIH, selon les recommandations actualisées dans ce domaine. Il doit attester un suivi trimestriel de son infection pendant toute la prise en charge en AMP. Le patient ne doit pas être atteint de pathologies graves et évolutives et son taux de lymphocytes T CD. 4 doit être supérieur à 200/mm³, sauf exception médicalement documentée, au cours de deux bilans espacés d'au moins trois mois et dans les six mois qui précèdent l'AMP. Chez un sujet traité par antirétroviraux, le taux plasmatique sanguin d'ARN VIH doit être contrôlé et stable dans les six mois qui précèdent l'AMP.

Si la femme est infectée par le VIH, un suivi obstétrical adapté à l'infection virale est organisé avant la mise en œuvre de l'AMP. Le traitement des gamètes est effectué dans le circuit à risque viral.

Lorsque l'homme est infecté par le VIH, le traitement de son sperme (prélèvement simple ou cumulé) en vue de l'AMP est effectué en utilisant au minimum un gradient de densité afin d'isoler le plasma séminal et une fraction finale de spermatozoïdes. Une évaluation de la charge virale VIH est effectuée dans le plasma séminal. Si le nombre de copies d'ARN VIH est supérieur à 100 000 par millilitre de plasma séminal, le couple ne pourra pas être pris en charge tant que cette situation persiste. Lorsque l'ARN VIH détectable dans le plasma séminal est inférieur à 100 000 copies par millilitre de plasma séminal, une recherche de l'ARN VIH est réalisée dans la fraction finale de spermatozoïdes isolés et doit être négative pour que les spermatozoïdes soient utilisés pour une AMP. Lorsque l'ARN VIH n'est pas détecté dans le plasma séminal, la recherche de l'ARN VIH n'est pas systématiquement réalisée dans la fraction finale de spermatozoïdes isolés.

En l'état actuel des connaissances, l'utilisation des spermatozoïdes prélevés chirurgicalement chez un homme infecté par le VIH reste du domaine de la recherche et doit satisfaire à la réglementation en vigueur.

En cas d'infection par le VIH1, le patient, homme ou femme, doit être porteur d'une souche détectable.

En cas d'infection par le VIH2, la recherche d'ARN viral est faite dans un laboratoire ayant l'expertise de la technique de mesure de la charge virale VIH2.

Pour la personne non infectée du couple, un dépistage VIH est effectué au plus tôt dans les quinze jours qui précèdent la tentative d'AMP et au plus tard le jour de la ponction ou de l'insémination. Un dépistage VIH est également effectué à un mois, trois mois et six mois chez la conjointe d'un homme infecté par le VIH après la ponction ou l'insémination et, le cas échéant, en période périnatale.

IV.4. Modalités de prise en charge en contexte VHC

Lorsqu'un membre du couple est virémique pour le VHC, la prise en charge en AMP est proposée après une évaluation objective de l'état hépatique, datant de moins d'un an et avec l'avis favorable d'un spécialiste en hépatologie. En présence d'une virémie VHC positive, les gamètes et les embryons sont traités en circuit de risque viral.

Les gamètes et les embryons peuvent ne pas être traités dans le circuit spécifique à risque viral dans les deux situations suivantes :

- lorsque la virémie VHC est indétectable, en dehors de tout traitement antiviral ;
- lorsque six mois après l'arrêt du traitement antiviral elle reste indétectable.

Lorsque l'homme est infecté par le VHC et qu'un traitement antiviral est jugé nécessaire au vu de l'état hépatique, l'AMP ne doit pas retarder la mise en route du traitement dans la mesure où une autoconservation spermatique préalable est réalisée.

IV.5. Modalités de prise en charge en contexte VHB

En ce qui concerne le VHB, la prise en charge en AMP n'est proposée qu'après avis d'un spécialiste en hépatologie et évaluation objective de l'état hépatique datant de moins d'un an, dans les deux situations suivantes :

- l'antigène HBs est positif quel que soit le résultat de la recherche d'ADN VHB ;
- l'anticorps anti-HBc est positif de manière isolée (en l'absence d'anticorps anti-HBs) avec une recherche d'ADN VHB positive.

Dans ces situations, le traitement des gamètes et des embryons est réalisé dans un circuit à risque viral. Préalablement à la mise en œuvre de l'AMP, le couple est informé des recommandations vaccinales en vigueur en matière d'hépatite B, et en particulier de la nécessité de la sérovaccination de l'enfant à la naissance en cas d'infection maternelle par le VHB.

Les critères médicaux et les modalités de prise en charge définis ci-dessus s'appliquent aux situations où les deux membres du couple sont infectés par des virus de nature identique ou différente ou lorsqu'il existe une infection multivirale.

V. – Dispositions spécifiques au don de gamètes

V.1. Entretiens et formalités préalables au don

Le donneur ou la donneuse est informé(e), au cours d'un entretien individuel, des conditions législatives et réglementaires du don, ainsi que de la nature des examens à effectuer avant le don. Au terme de cet entretien, le donneur ou la donneuse précise son souhait d'être informé(e) ou non des résultats des tests.

La donneuse d'ovocytes doit être particulièrement informée des conditions, des contraintes, des effets secondaires et des risques potentiels liés à la stimulation ovarienne et au prélèvement ovocytaire, lors des entretiens avec l'équipe médicale pluridisciplinaire. L'équipe s'assure de son plein et entier consentement éclairé.

En cas de don d'ovocytes provenant d'une patiente bénéficiant par ailleurs d'une FIV pour elle-même, cette dernière est informée des conséquences sur la perte de chances pour elle-même consécutive au don.

V.2. Critères médicaux d'acceptabilité des donneurs de gamètes

Le recrutement des donneurs tient compte de l'âge, de l'état de santé, des antécédents personnels et familiaux, des résultats des tests sanitaires, des caractéristiques spermatiques ou du bilan gynécologique, avec au minimum chez la femme un examen gynécologique avec frottis cervico-vaginaux datant de moins d'un an et évaluation de la fonction ovarienne.

Un entretien psychologique est recommandé.

Une étude complète et documentée de l'arbre généalogique du donneur de gamètes est réalisée pour identifier les facteurs de risque de transmission à l'enfant d'une anomalie génétique. Toute suspicion d'anomalie incite à compléter le bilan avec l'accord du donneur, dans le respect des dispositions réglementaires relatives aux examens des caractéristiques génétiques à des fins médicales. L'établissement du caryotype est préconisé.

Si le donneur appartient à un groupe de population à risque connu de pathologie récessive, il est nécessaire de rechercher, chaque fois que possible, l'hétérozygotie.

Lorsque les données de l'anamnèse et de l'examen clinique font apparaître un facteur de risque relatif, il est fait en sorte de ne pas attribuer les gamètes du donneur à un couple dont le receveur présenterait le même facteur de risque. L'avis d'un généticien peut être requis.

L'évaluation des paramètres spermatiques et les résultats du test de décongélation conditionnent l'utilisation ultérieure des paillettes.

Les paillettes utilisées pour la conservation du sperme de donneur sont codées de façon anonyme selon la réglementation en vigueur.

Toutes les informations relatives au donneur ou à la donneuse sont consignées dans un dossier spécifique anonymisé qui comprend les résultats des tests de sécurité sanitaire et, en outre :

S'il s'agit d'un don de sperme :

- la date des recueils de sperme ;
- les paramètres spermatiques ;
- les résultats du test de décongélation ;
- le nombre de paillettes conservées ;
- la date de cessions ;
- le nombre de paillettes cédées.

S'il s'agit d'un don d'ovocytes :

- le protocole de stimulation et son suivi ;
- la date de la ponction ;
- le nombre d'ovocytes prélevés et donnés.

Une procédure permettant de connaître le nombre de grossesses, le nombre d'enfants nés et l'état de santé des enfants issus d'un même donneur est élaborée. Cette information est inscrite dans le dossier spécifique du donneur.

V.3. Entretiens et formalités préalables relatifs au couple receveur

Au cours des entretiens prévus par la réglementation en vigueur sont abordés les enjeux du don de gamètes et les questions relatives à l'information de l'enfant sur les circonstances de sa conception. Un entretien avec le psychiatre ou le psychologue adjoint à l'équipe clinico-biologique est recommandé. Le couple est informé des dispositions législatives et réglementaires ainsi que des modalités de recrutement des donneurs.

V.4. Attribution et cession des gamètes

Un appariement entre le couple receveur et le donneur ou la donneuse dont les gamètes sont utilisés est souhaitable. Il tient compte des caractéristiques physiques et des groupes sanguins du couple receveur.

Avant toute utilisation de gamètes issus de don, le praticien prend connaissance des éléments portés sur la fiche de traçabilité.

Tout est mis en œuvre pour garantir l'anonymat, notamment en évitant les possibilités de contact entre la donneuse d'ovocytes et le couple receveur.

VI. – Dispositions spécifiques à l'accueil d'embryons

Un centre autorisé pour la conservation des embryons en vue d'un projet parental peut ne pas être autorisé à la mise en œuvre de l'accueil d'embryons. Dans ce cas, il établit une convention avec un centre autorisé à la mise en œuvre de l'accueil d'embryons en vue du déplacement des embryons destinés à l'accueil. Une concertation très étroite est mise en place entre les centres concernés pour l'organisation de l'ensemble du processus.

VI.1. Prise en charge du couple donneur

Le couple renonçant à son projet parental pour lui-même, ou le membre survivant, fait part de son intention, dans le centre où les embryons sont conservés, de consentir à l'accueil des embryons par un couple tiers. La déclaration d'intention peut intervenir lors :

- de la consultation écrite annuelle sur le maintien de son projet parental ;
- de la consultation écrite en cas de décès d'un membre du couple ;
- d'une déclaration spontanée, à tout moment.

Le couple ou le membre survivant a au moins un entretien avec un membre de l'équipe clinico-biologique pluridisciplinaire du centre où sont conservés les embryons afin de l'informer des conditions et des contraintes liées à la procédure d'accueil de l'embryon. Un entretien est recommandé avec un médecin qualifié en psychiatrie ou un psychologue de l'équipe.

L'équipe s'assure dans un premier temps qu'il n'existe pas de contre-indication réglementaire ou médicale à l'accueil des embryons. En l'absence des résultats des tests de sécurité sanitaire qui doivent être réalisés au moins six mois après la congélation, les analyses nécessaires sont prescrites.

Au décours de l'entretien, le document réglementaire de consentement est remis au couple. Ce document, signé pour confirmation après un délai de trois mois de réflexion, est remis par le couple à l'équipe du centre autorisé pour la mise en œuvre de l'accueil d'embryons.

L'équipe du centre autorisé pour la mise en œuvre de l'accueil d'embryons s'assure de l'acceptabilité du dossier d'accueil et procède, le cas échéant, aux compléments d'investigation. Si le dossier est recevable, le document de consentement est adressé en double exemplaire par un praticien agréé du centre au président du tribunal de grande instance dans le ressort duquel il est situé. L'exemplaire du document visé par le président du tribunal de grande instance ou son délégué est conservé dans le centre.

Le centre autorisé pour la mise en œuvre de l'accueil d'embryons avise alors le centre où sont conservés les embryons.

Le centre autorisé pour la mise en œuvre de l'accueil d'embryons conserve dans un dossier confidentiel les informations relatives au couple sous forme rendue anonyme.

VI.2. *Prise en charge du couple receveur*

Un ou plusieurs entretiens sont prévus entre le couple candidat à l'accueil et l'équipe pluridisciplinaire clinico-biologique. Un entretien est recommandé avec un médecin qualifié en psychiatrie ou un psychologue. Le clinicien agréé pour la mise en œuvre de l'accueil d'embryons atteste dans un document que le couple remplit bien l'ensemble des conditions requises. Une copie de ce document est transmise au président du tribunal de grande instance concerné.

Le président du tribunal de grande instance statue sur la demande du couple soit par courrier, soit après avoir rencontré celui-ci. Sa décision est notifiée directement au couple par lettre recommandée avec demande d'avis de réception.

VI.3. *Attribution et cession des embryons*

Le centre autorisé pour la mise en œuvre de l'accueil d'embryons tient compte des risques pour l'enfant à naître issu du transfert d'embryons notamment lorsqu'il existe, chez le couple donneur :

- un risque élevé de transmission d'une maladie génétique, accessible ou non au diagnostic prénatal ;
- un antécédent de naissance d'un enfant présentant une malformation majeure, étiquetée ou non, ou de grossesse interrompue pour le même motif ;
- ou lorsque les conditions d'obtention de l'embryon ont fait appel à une technique non validée.

Il tient compte également dans la mesure du possible des caractéristiques physiques du couple receveur. Une information spécifique est donnée au couple receveur afin d'éclairer sa prise de décision.

L'accueil d'embryons provenant de couples dont l'âge de la femme est supérieur à 37 ans ou l'âge de l'homme supérieur à 45 ans justifie une information spécifique, notamment au regard de la proposition de dépistage lié à l'âge de la femme.

VI.4. *Décongélation et transfert embryonnaire*

Le biologiste agréé pour la conservation des embryons en vue de leur accueil remet l'embryon au biologiste qui assure la décongélation de l'embryon, si le centre est différent. Dans ce cas, les embryons sont remis avec un document anonyme précisant les résultats des tests sanitaires relatifs aux donneurs, la provenance des embryons et toutes les informations utiles à l'accueil par le couple.