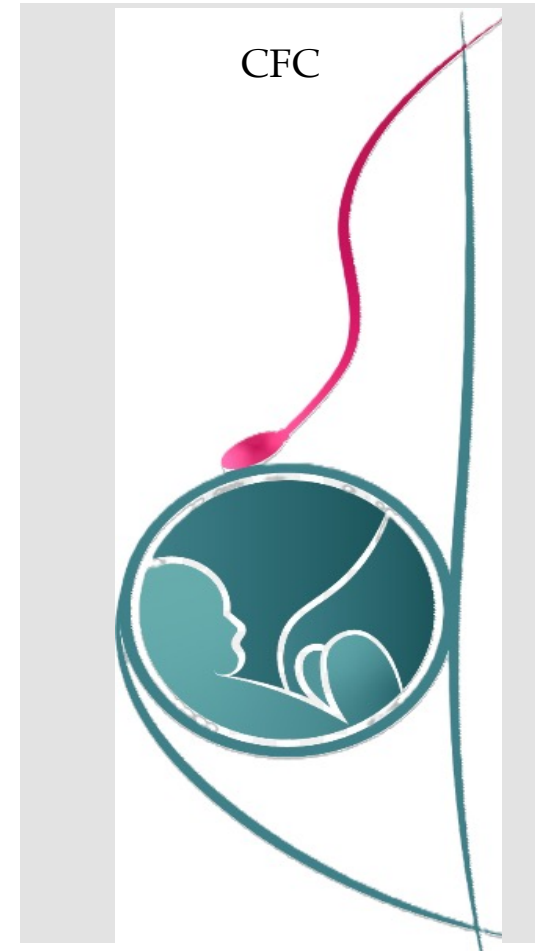
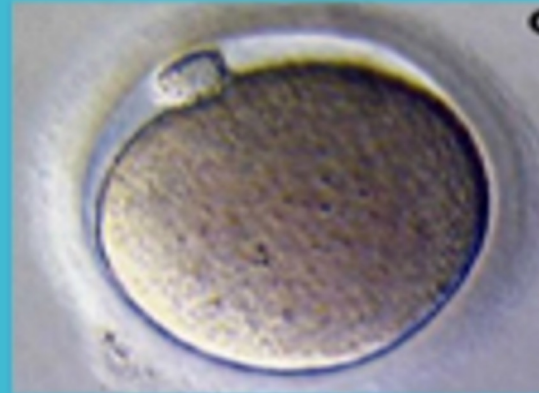


Formation à l'ICSI



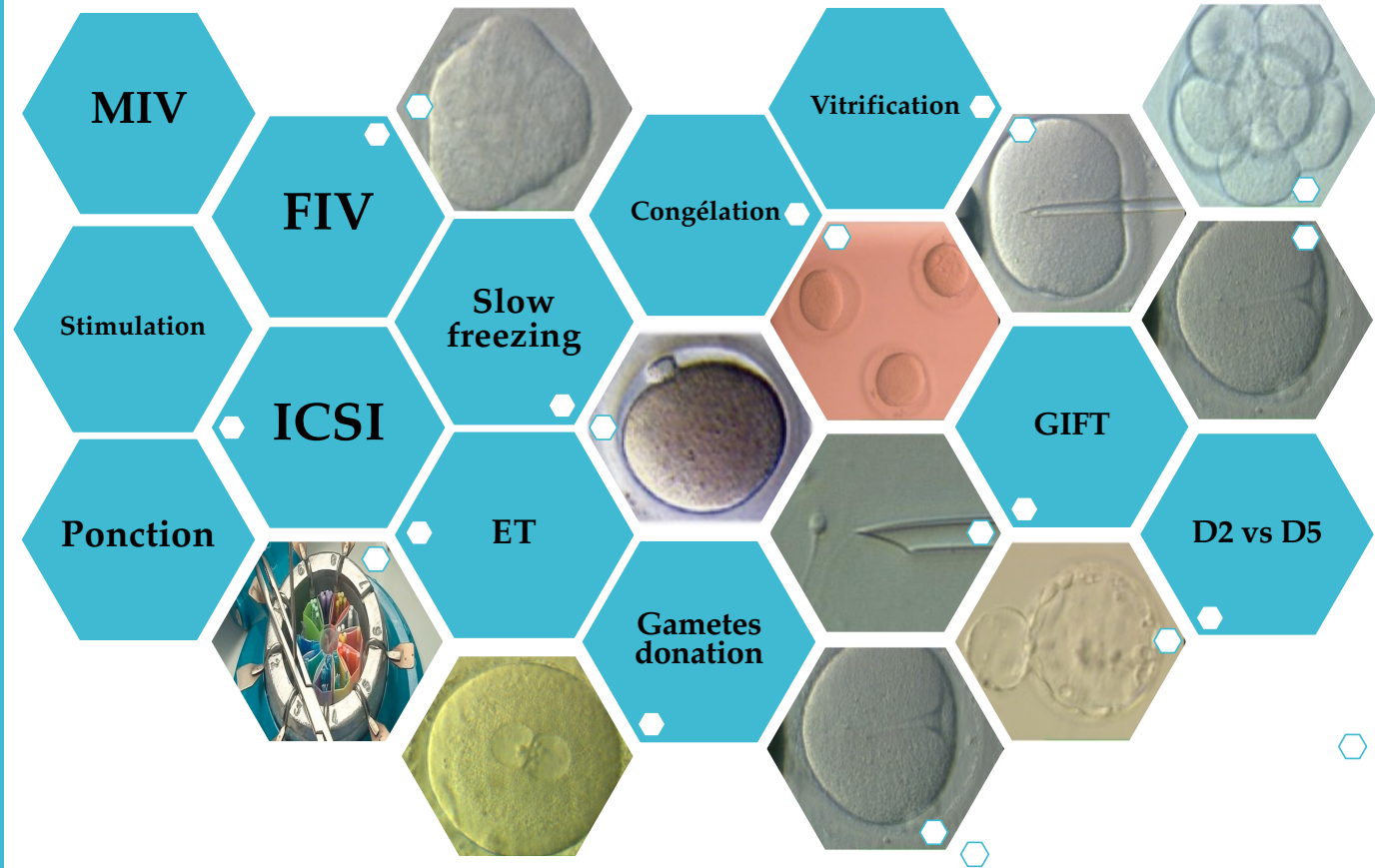
Pierre Boyer
JTB 2026



Centre de Fertilité de Corse

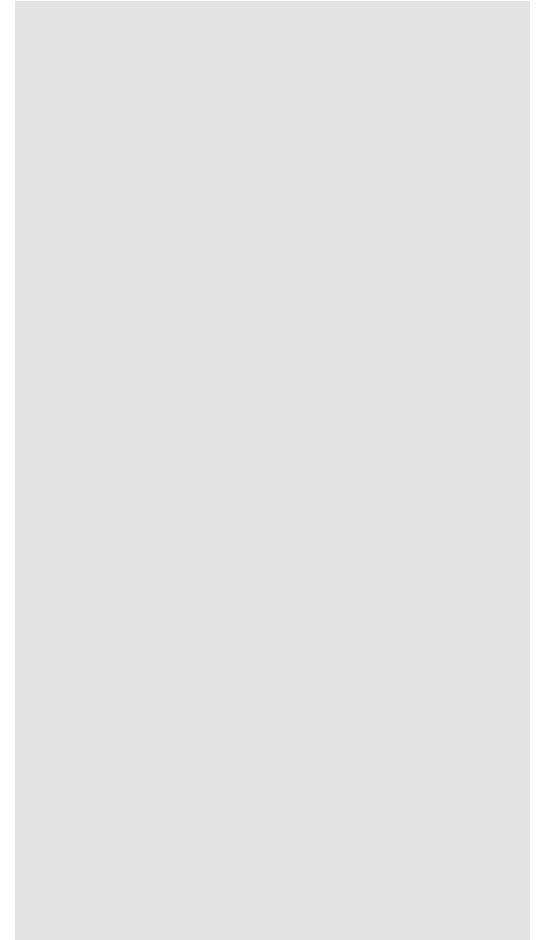
L'AMP

Les étapes et les techniques:



Idéalement Formation en 2 temps : Externe & Interne

Formation externe



Hébergement de la formation

- Locaux hors activité
- Matériel dédié
 - En dehors de l'activité
 - Enseignement pratique
 - Sur plusieurs dispositifs

Thématiques de la formation

- Palier au manque de matériel d'apprentissage en interne
- Permet la pratique des micromanipulations
 - Décoronisation
 - Vitrification/ réchauffement ovocytaire
 - ICSI
- Indépendant de l'activité quotidienne
 - Disponibilité du formateur
 - Disponibilité de l'apprenant

Utilité du modèle
animal:
Ovocytes de souris

- Ovocytes matures
- Matériel en grand nombre
 - À date fixée
 - Transportable
- Identifié par les «autorités» comme non remplaçable
- Du sacrifice à l'utilisation
 - Dénudation *Indispensable pour l'apprentissage de cette étape*
 - Classement maturité
 - Congelable par vitrification
 - Utilisable pour l'ICSI
- Coût raisonnable

Ovocytes de Souris
Animalerie de la Faculté
de Médecine Marseille
Qualification APAFiS

- Une **animalerie** répondant aux exigences APAFiS (AUTORISATION DE PROJET UTILISANT DES ANIMAUX À DES FINS SCIENTIFIQUES) permet la mise à disposition d'échantillons biologiques
- **AUTORISATION pour 5 ANS (2019) renouvelée**
- **PROTISVALOR, la filiale de valorisation de la recherche d'Aix Marseille Université**

Qualiopi Certification de la Formation

- **En quoi consiste la marque Qualiopi ?**
 - Attester de la qualité du processus
 - Plus grande lisibilité de l'offre de formation
- **Obtention de la marque Qualiopi ?**
 - Au 1^{er} janvier 2022
 - Obligatoire pour tous les prestataires d'action
 - de Formation ;
 - de Bilans de compétences ;
 - permettant de faire Valider les Acquis de l'Expérience ;
 - de formation par Apprentissage.
- **Indispensable pour la prise en charge financière**

Formation en interne

➤ Observations par le tuteur :

- Evaluation des connaissances théoriques
- Evaluation sur les capacités gestuelles et l'aisance en milieu technique avec le matériel en place et avec des gamètes de souris
- Evaluation des capacités à s'intégrer au travail d'une équipe clinique et au contact des patient(e)s.

➤ Formation à l'identito-vigilance

Formation interne

- Complémentaire à la formation externe
 - Matériel local
 - Profiter des échantillons au quotidien
- Le tutorat peut être poursuivi au fur et à mesure par compagnonnage
- Comment transmettre ?
 - Partager son expérience
 - Pas d'action sans analyse de la situation
 - Transmission des critères sur lesquels reposent les choix de décisions
 - Transmission des sensations tactiles des gestes
 - Obtenir les reflexes des gestes par la répétition

Profil du technicien(ne) candidat(e)

- Compatible avec la réglementation mais pas seulement:
 - L'ICSI n'est pas un B comme les autres
 - Micro chirurgie cellulaire
 - On sait quand on commence ...
 - Patience / calme
 - Obstination
 - Dépend de l'expérience préalable
- Les résultats restent opérateurs dépendants
 - Sur le long terme : Pratiquer en binôme
 - Evolution dans le temps (dérives)

Démarrage : Première étape

- Lecture des procédures
- Apprentissage du fonctionnement du matériel
 - Loupes binoculaires
 - Microscopes inversés
 - Équipement
 - Accessoires
 - Incubateurs / Time lapse

Apprentissage de l'ICSI

- Sur matériel de réforme utilisé en fin d'activité gamètes et consommables (écrit dans les procédures et l'information des couples)
- Recommandations de l'Eshre 3 ans
- Formation: sur 2 à 3 ans d'implication quotidienne
- Actes accompagnés selon complexité
 - ICSI sur spz de l'éjaculat
 - ICSI en cas d'akinetospermie
 - ICSI chirurgicale, excrétoire ou sécrétoire

Conditions de l'acte d'ICSI

Règle absolue: ne rien jeter avant la fin des techniques du jour

- Maintenir les paramètres physico-chimiques stables
 - Température
 - pH des Milieux utilisés
 - Tampon fermé Hépes / Mopp / Tris
- Sous Huile légère ou lourde
- Matériel plastiques / verre
- En fin de manipulation
 - En incubateur O₂5% / CO₂6% N₂
 - +/- Time Lapse

Préparation des boîtes d'ICSI & des pipettes

- Boîtes
 - Plastique 1006 Falcon
 - Soit utilisation de la boîte ⚠ avec ergots
 - Soit utilisation du couvercle ⚠ à la quantité d'huile
 - Verre
 - Pour voir le Fuseau méiotique
 - IMSI
- Equilibrer les pressions dans les pipettes +++
 - Essai aspiration contrôle
 - Vérification étanchéité

Préparation des spermatozoïdes:

Apprendre à s'adapter au recueil du jour

- Swim-up
- Gradient ⚠️ risque de gélification
- Lavage simple
- Migration horizontale
- Préparations particulières
 - IMSI
 - Pisci
 - Zymot...

Le spermatozoïde

Choix

Capture

Immobilisation

Chargement

Contrôle

Maitrise de capture et approche

- PVP
 - 10%
 - 7%
- Ou les chercher?
 - Bord de goutte
- Sperme éjaculé
 - Privilégier le Swim-up
 - Ne pas hésiter à centrifuger fort en cas de Cryptozoospermie
- Sperme chirurgical
 - Épididyme
 - Migration en PVP
 - Migration directe dans le milieu
 - Testis
 - Dilacération en Potter dans le milieu
- Sperme Congelé
 - AutoC de confort: migration PVP directe
 - AutoC pour pathologie: migration directe dans le milieu



Premières ICSI

Dénudation :

- Apprentissage sur ovocytes de souris
- Enzymatique par Hyaluronidase
 - Faible concentration, 20/25 UI/ml
 - Rinçages (6 bains)
- Mécanique avec Pipettes de verre calibrée

L'ovocyte

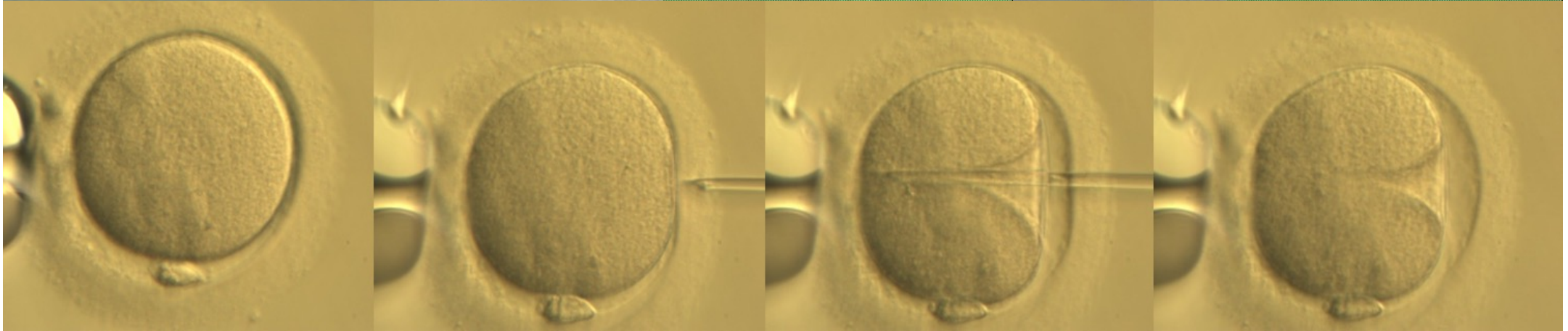
Limiter le nombre d'ovocytes placés sous le microscope

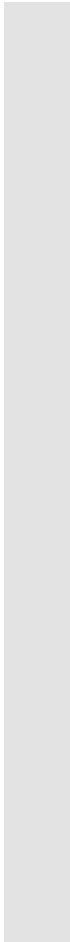
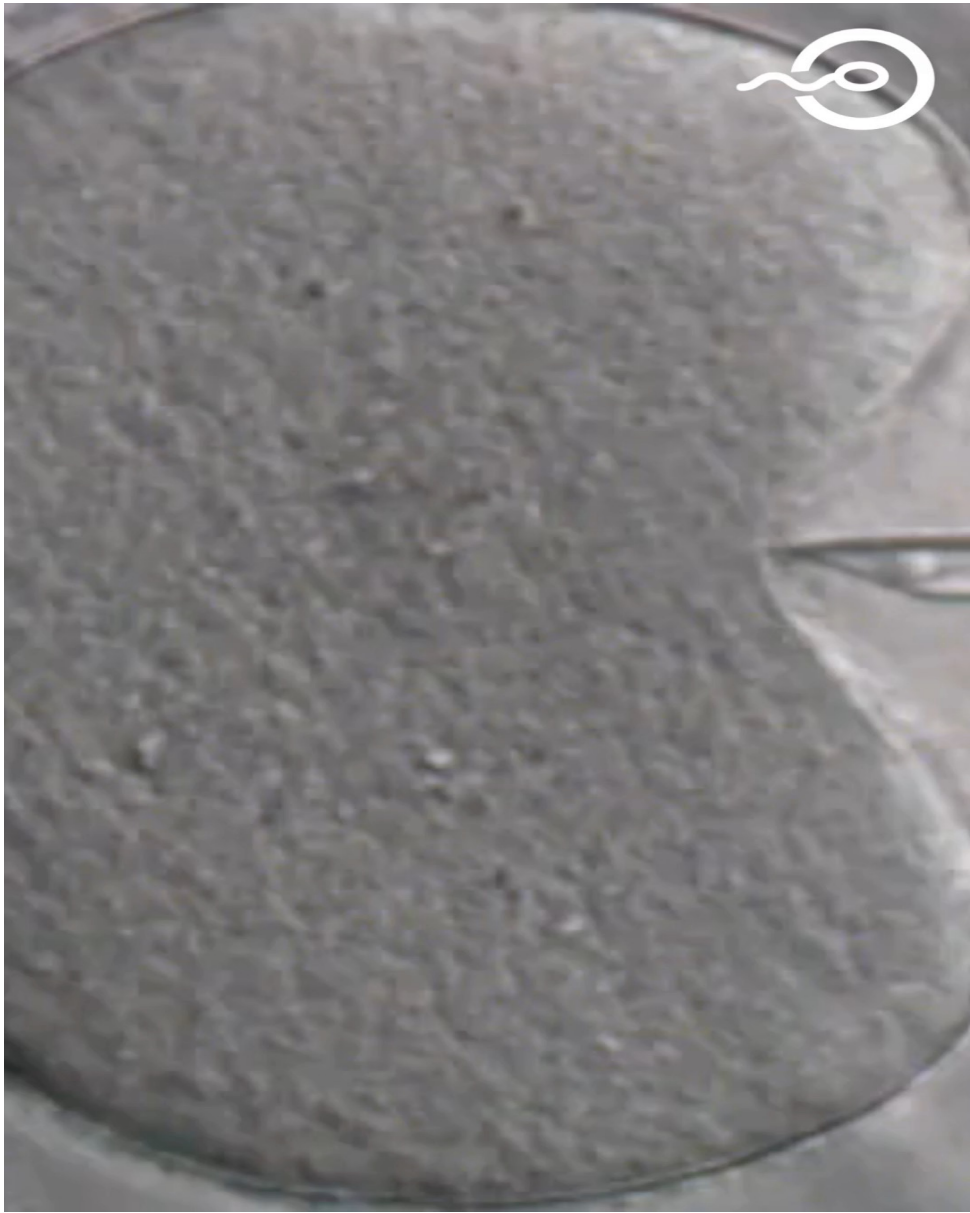
- Positionnement de l'ovocyte
 - Position du GP / fuseau
 - Localiser la zone granuleuse
 - Approche ovocyte
 - Plan équatorial
 - Funel visible
- Franchissement ZP
 - Aspiration
 - Rupture membrane
 - Rétraction membrane sur la pipette
 - Avancer pipette vers 9h
 - Relâcher le spermatozoïde le plus prêt possible de la membrane

Gestuelle et repères dans l'espace

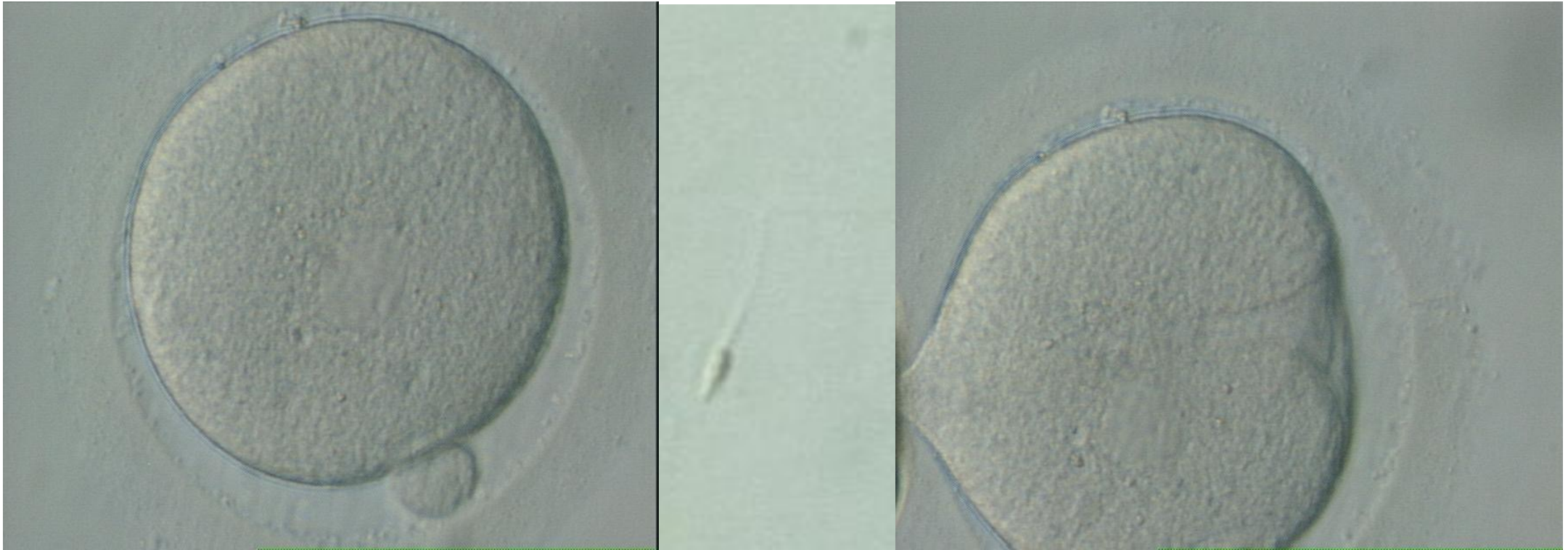
Aspirer et Refouler

- Garder un œil sur un bord de goutte
 - Maitrise du plan (XY)
 - Piéger les spz en périphérie
 - Puis les immobiliser
- Garder un œil sur le spz & l'ovocyte quitte à « loucher »
 - Plan holding / membrane / injection (Z)
 - Conduire à l'ovocyte
 - Toujours au dessus du bord de goutte ($r=60\mu\text{m}$)
 - Vérifier le « Funel »





Immaturité cytoplasmique: Serc



Courbe d'apprentissage

- Nombre d'essais (minimum 30 selon consensus)
- Key Performance Indicator 's consensus Vienne
Habilitation Expertise
 - Dommages en cours de technique:

	< 10%	< 5%
• Fécondation 2PN	> 65%	> 80%
• Taux de lyse à 24 h	< 10%	< 5%
 - Mise en place progressive sur les ovocytes de tentative avec cohorte suffisante
 - Rapidité / enchainement (microchirurgie cellulaire)

424 9.2. ICSI procedure

9.2.1 Preparation of oocytes for ICSI.

- When removing cumulus cells from oocytes, hyaluronidase concentration and exposure should be kept to a minimum.
- In order to prevent oocyte damage, pipettes with appropriate lumen size should be used and vigorous pipetting avoided.
- After denudation, oocytes should be thoroughly washed to remove traces of hyaluronidase.
- Current evidence does not suggest that denudation should be performed at a specific time between oocyte recovery and ICSI.
- The maturation stage of the oocytes should be recorded.

9.2.2 Preparation of oocytes for ICSI.

- An identity check before the oocyte retrieval is mandatory. Each laboratory should have in place a protocol to ensure the identification of gametes at the time of insemination procedure.

This step should also be verified by a witness (double witnessing).

- Records should be kept of the injection time (start and end of the procedure) and the performing operator.
- The number of oocytes transferred to the injection dish should relate to operator's skills and sperm quality.
- During ICSI, the following points are important:
 - Only mature oocytes should be injected.
 - Oocyte morphology should be recorded.

GBP en ICSI ESHRE

- Oocyte dysmorphisms such as large perivitelline space, localised granularity and smooth endoplasmic reticulum aggregates are associated with diminished clinical success.
- Giant oocytes should not be injected.
- Morphologically normal, motile sperm should be selected.
- Tail membrane breakage should be posterior to the midpiece, and performed immediately before the injection of each individual oocyte.
- Polar body should be away from the injection site.
- Oolemma rupture should be assured prior to sperm injection.
- Appropriate temperature and pH should be maintained during injection.

GBP en ICSI ESHRE

- Viscous substances such as PVP can be used to facilitate sperm manipulation.
- Vitality test can be used to select viable sperm for injection.
- The duration of sperm identification and immobilisation followed by injection should be minimised.
- In case of only immotile sperm cells, a noninvasive vitality test can be used to select viable sperm for injection.
- After injection, oocytes should be washed prior to culture.
- 9.2.3 Artificial oocyte activation is currently not recommended for routine clinical use.
- It is however recommended for complete activation failure (0% 2 pronuclei (PN)), very low fertilization (<30%), or globozoospermia

Maturité : Les gestes font partie de la routine

On ne désapprend pas les gestes acquis mais:

- Evaluer régulièrement les résultats sur les actes individualisés
- Ne jamais abandonner la formation théorique et technique

Conclusions

L'apprentissage de l'ICSI est long et progressif

- Technique délicate et opérateur dépendante
Technique idéalement effectuée en binôme pour une cohorte
- Technique consommatrice de temps et de matériel
Rarement exclusive dans un laboratoire

L'apprentissage de l'ICSI ouvre la voie aux capacités de développement de nouvelles méthodes