

*COLLÈGE NATIONAL
DES GYNÉCOLOGUES ET OBSTÉTRICIEUS FRANÇAIS
Président : Docteur B. Maria*

**Extrait des
Mises à jour
en Gynécologie
et Obstétrique**

—

**TOME XXIV
publié le 30.11.2000**



*VINGT-QUATRIÈMES JOURNÉES NATIONALES
Paris, 2000*

Les enfants de la FIV et de l'ICSI

S. EPELBOIN¹, F. MERLET², S. BULWA¹, N. DE MEDEIROS¹
(Paris)

INTRODUCTION

En 1978, Louise Brown, née par césarienne le mercredi 26 juillet à 23h45 à l'hôpital d'Oldham, dans les faubourgs de Manchester, était le seul bébé conçu par fécondation in vitro (FIV) parmi les cent vingt-deux millions d'enfants nés cette année-là (12). Vingt-deux ans après, plusieurs centaines de milliers d'enfants sont nés dans le monde après procréation assistée; le rapport mondial publié en 1995 (10) évalue à plus de 40 000 les naissances annuelles après FIV dans l'ensemble des pays pratiquant cette technique. Selon le rapport européen (en voie de publication) présenté en juin 2000 au colloque annuel de l'ESHRE (*European Society of Human Reproduction and Embryology*), le taux d'enfants nés après FIV en 1997, rapporté à l'ensemble des naissances, est respectivement de 2,63 % au Danemark, 2,39 % en Finlande, 1,30 % en Norvège, 1,20 % en Grande-Bretagne.

1. Unité de médecine de la reproduction,
Service de gynécologie-obstétrique, site Saint-Vincent-de-Paul
2. Service de biologie de la reproduction, site Cochin
Hôpital Cochin – Saint-Vincent-de-Paul,
82, avenue Denfert-Rochereau, et 123 boulevard de Port-Royal – 75014 Paris.

En France, depuis la naissance d'Amandine à l'hôpital Antoine Béchère le 24 février 1982, environ 60 000 enfants sont issus de FIV. On estime le flux annuel de ces naissances dans notre pays à environ 5 000 par an jusqu'en 1996, toutes techniques confondues. Les bilans annuels les plus récents établis par la Direction Générale de la Santé à partir des données fournies par 85 centres en 1996 et 92 en 1997 font état d'un nombre total de nouveau-nés égal à 7 853 en 1996, et 9 042 en 1997, ce qui représente, en 1997, 1,21 % des naissances annuelles en France.

À l'heure actuelle, de nombreuses données sont disponibles sur le déroulement des grossesses et des naissances après Assistance Médicale à la Procréation (AMP). Elles proviennent de deux sources d'intérêt complémentaire : les enquêtes nationales de pays organisés pour la tenue de registres annuels (Français « FIVNAT » (15), Australien (29), Américain (25), Britannique (27), Israélien (16) et autres), qui ont pour avantage le grand nombre de sujets étudiés, et pour défaut le fort taux de perdus de vue ; les suivis organisés dans certains centres, qui ont pour défaut la petitesse des cohortes étudiées, mais pour qualité la personnalisation du recueil de l'information et sa quasi exhaustivité.

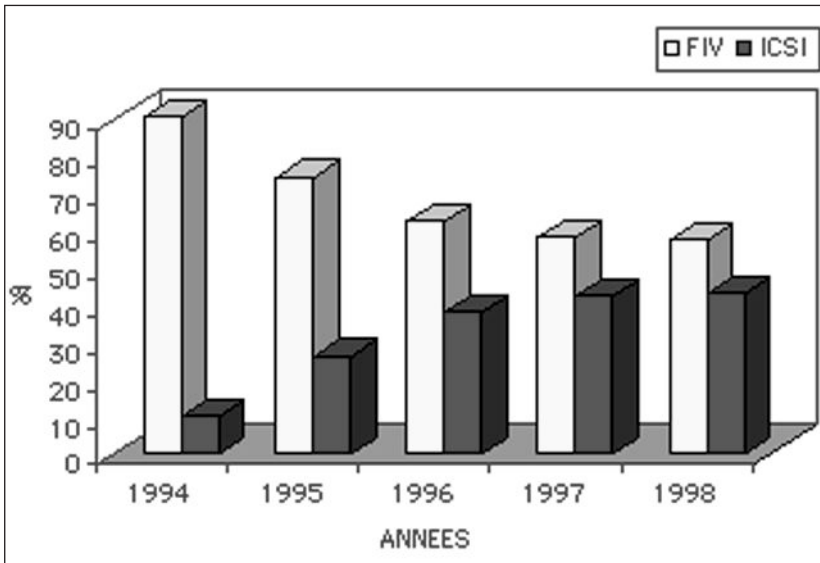
À l'origine des naissances, outre la FIV, de multiples techniques, telles que le GIFT (*Gamete Intra Fallopian Transfer*), le ZIFT (*Zygote Intra Fallopian Transfer*), le TET (*Tubal Embryo Transfer*), nécessitant deux actes chirurgicaux successifs pour la ponction puis le transfert percoelioscopique des gamètes, zygotes ou embryons, ont été éphémères de par leur lourdeur ; d'autres, telles que la SUZI (*SubZonal Sperm Injection*) (32), première technique de micro injection de spermatozoïdes, ont été vite abandonnées en raison de leur caractère précurseur de méthodes rapidement plus performantes. Par contre, il faut remarquer la progression, depuis 1994, des FIV par micro injection de spermatozoïdes ou ICSI (*Intra Cytoplasmic Injection*), qui ont représenté, en 1998, 43 % des tentatives (figure n° 1).

Nous nous intéresserons donc ici aux enfants nés après FIV, ICSI, ou transferts d'embryons congelés issus de l'une de ces deux techniques.

Pour chacune des techniques nous envisagerons successivement :

- Les données sur l'état de santé des enfants à la naissance
- Le devenir à moyen et long terme de ces enfants.

Figure 1
Évolution des FIV et des ICSI en France de 1994 à 1998
(d'après FIVNAT 1999)



I. DONNÉES SUR LES ENFANTS À LA NAISSANCE

A. Enfants conçus par Fécondation In Vitro

L'analyse des grossesses issues des tentatives de FIV (Tableau I) met en exergue deux caractéristiques fondamentales :

- Seulement 3/4 des grossesses initiées aboutissent à une naissance d'au moins un enfant vivant ;
- 1/4 des naissances sont multiples.

1. Données en France

En France, outre les données ministérielles, l'outil d'analyse des paramètres témoins des traitements, indications d'AMP, grossesses et naissances, est le registre FIVNAT, édité annuellement depuis 1987. Ce registre, peu fiable à ses débuts en raison de son manque d'exhaustivité, est devenu un indicateur précieux

Tableau I

Caractéristiques des grossesses obtenues en France après FIV classique et ICSI entre 1994 et 1998 (d'après FIVNAT 1999)

	FIV	ICSI	p
Nombre de grossesses	8794	3642	
Avortements spontanés(%)	21	19,8	NS
Grossesses extra-utérines (%)	4,2	2,1	0,001
Interruptions médicales de grossesses (%)	0,7	0,6	NS
Accouchements : N 6538	2824		
% / Grossesses débutantes	74,4	77,5	0,001
Uniques (%)	72,6	74,8	0,05
Multiples :	27,4	25,2	NS
Jumeaux (%)	25,6	23,9	NS
Triples (%)	1,7	1,2	NS
Quadruples et + (%)	n = 1	n = 1	-
Interruptions sélectives de grossesse	2,5	2,5	NS

des pratiques d'AMP en raison de la participation active de la quasi-totalité des centres agréés (84 en 1998, ce qui représente 91 % des 41 000 ponctions réalisées en France).

Les données actuelles témoignent d'un certain nombre de pathologies gravidiques et néo-natales, telles que l'élévation des taux de prématurité, d'hypotrophie, de mortalité ; elles sont retrouvées indépendamment des grossesses multiples, génératrices par elles-mêmes de perturbation de ces indicateurs.

L'augmentation significative de chacune des complications en fonction du nombre d'enfants est rapportée dans le tableau II.

Ainsi, le registre FIVNAT 1999 analyse-t-il 7 931 naissances obtenues après FIV classiques pratiquées entre 1994 et 1997. Ce rapport indique une prématurité plus fréquente, 25,6 % pour l'ensemble des grossesses, 8,9 % pour les grossesses uniques (contre 5 à 6 % dans la population générale), 43,5 % pour les jumeaux, et 90,7 % pour les triplés. La grande prématurité (< 33 semaines) augmente également de 2 % à 8,5 %, et 31,1 % selon qu'il s'agit de naissances de 1, 2, ou 3 enfants. Les taux de prématurité pour les multiples sont comparables à ceux décrits dans les grossesses multiples spontanées (36).

Les taux d'hypotrophie comparés à ceux rapportés dans l'enquête INSERM « Naître en France » (36), sont élevés pour l'ensemble des naissances (24,6 %), légèrement augmentés pour

LES ENFANTS DE LA FIV ET DE L'ICSI

Tableau II

Caractéristiques des nouveau-nés après FIV selon le nombre d'enfants
(Années 1994-1997, d'après FIVNAT 1999)

Caractéristiques	Ensemble des enfants	1	2	3	p
Nombre d'enfants	7931	4234	2945	296	
Sex ratio	1,1	1,11	1,09	0,89	NS
Prématurité totale < 37 SA (%)	25,6	8,9	43,5	90,7	0,001
Grande prématurité < 33 SA (%)	5,7	2	8,5	31,1	0,001
Terme moyen (SA*)	37,5 ± 6,3	38,6 ± 6,4	36,2 ± 5,8	34,0 ± 6,3	0,001
Hypotrophie < 10 ^e P. (%)	24,6	11,4	42,9	59,9	0,001
Poids de naissance < 2500 g (%)	29,8	9,1	53,6	90,6	0,001
Poids de naissance < 1500 g (%)	4,4	1,3	6,7	25,9	0,001
Poids moyen (g)	2818 ± 710	3175 ± 577	2398 ± 562	1816 ± 526	0,001
Évolution					
Mort in utero (‰)	9,5	4,6	14,5	34,0	
Mort néo-natale < j 7 (‰)	6,7	3,4	11,1	10,2	0,001
Mort néo-natale j 7 – j 28 (‰)	1,4	0,1	2,4	0	
Mortalité périnatale totale (‰)	17,6	8,1	28,0	44,2	
Complications (%)	1,3	0,9	1,8	1,7	
Bonne santé (%)	96,7	98,0	95,0	93,9	
* SA : Semaines d'aménorrhée révolues recalculées					

1 enfant (11,4 %) et franchement élevés chez les jumeaux (42,9 %), et les triplés (59,9 %). L'analyse des poids de naissance des enfants, des taux de mortalité périnatale et néo-natale renvoie à des conclusions similaires.

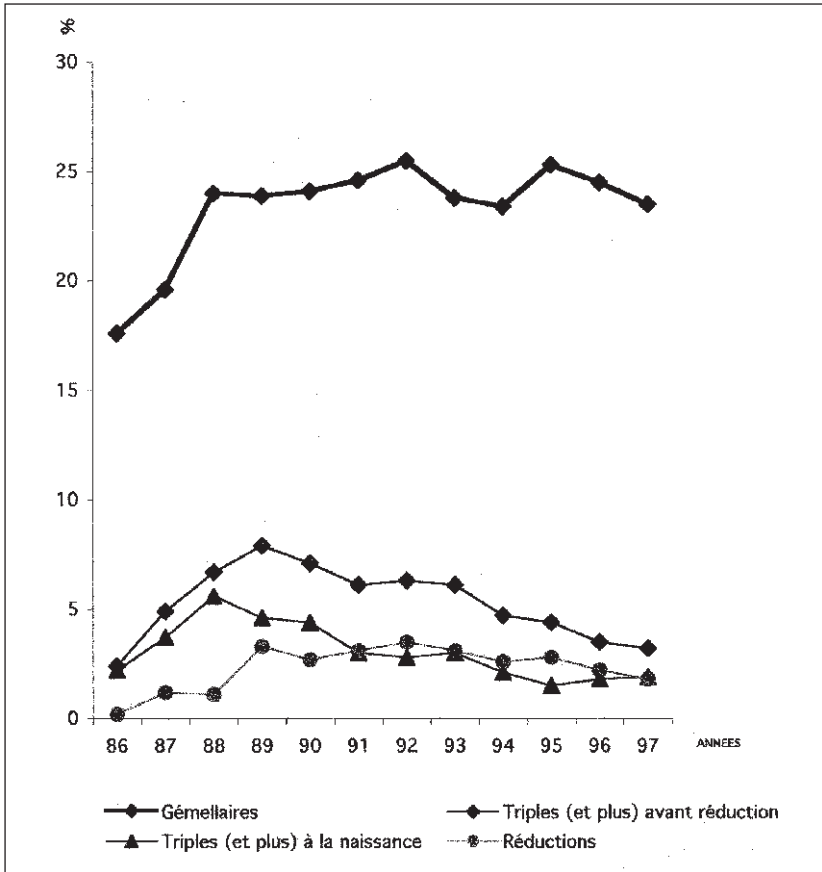
Au total, les complications néo-natales sont presque doublées en cas de grossesse gémellaire (1,7 % versus 0,9 %), l'écart se creusant surtout en cas de naissance triple (5,3 %).

Les dossiers FIVNAT annuels permettent d'observer les différentes tendances et évolution des pratiques : celles-ci témoignent d'une volonté de diminuer le nombre de grossesses multiples, notamment de voir disparaître les triples et plus, par une politique de transfert embryonnaire plus restrictive.

Ainsi, le taux des grossesses triples ou d'ordre supérieur (avant réduction embryonnaire), est-il passé de 8 % en 1989 à 4,7 % en 1994, le pourcentage des réductions ayant baissé dans le même temps de 3,4 % à 2,6 %. Le taux d'accouchements d'enfants triplés ou plus a diminué de plus de 5 % en 1989 à 1,6 % entre 1994 et 1996, il est de 1,7 % en 1997 (figure n° 2).

Figure 2

Évolution des grossesses multiples après FIV de 1986 à 1997



La diminution des grossesses multiples a eu pour conséquence une diminution progressive des taux globaux de prématurité et d'hypotrophie (figure n° 3).

2. Données d'autres pays

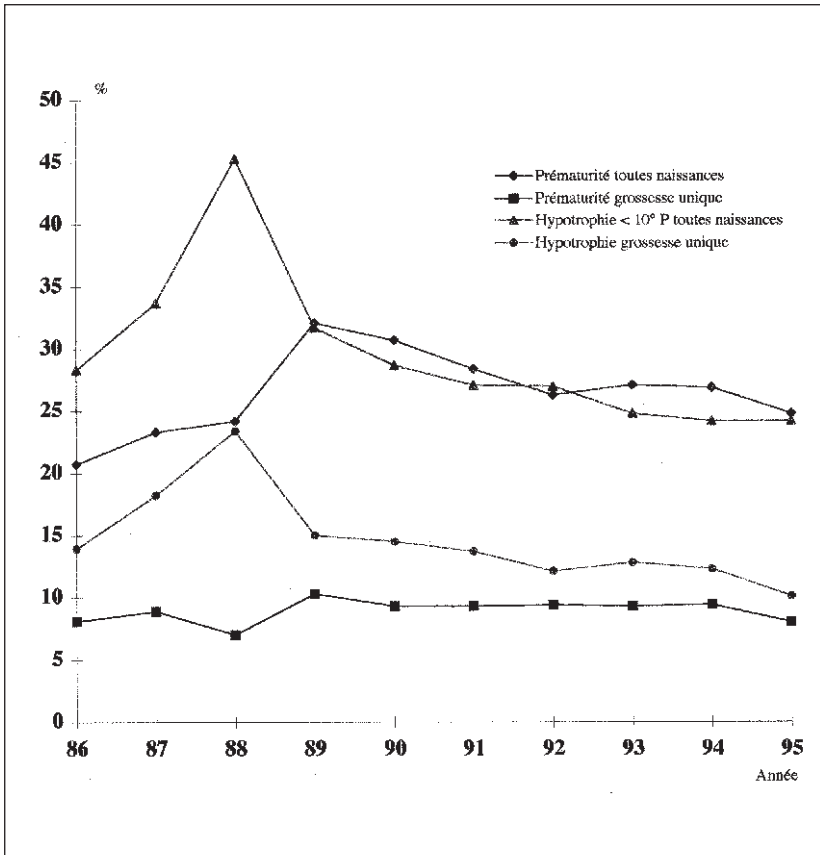
Les complications des grossesses sont retrouvées de façon très voisine dans les études publiées au fil du temps (16, 25, 27, 29, 35).

Nous avons choisi de détailler les plus récentes des études de cohorte disponibles.

LES ENFANTS DE LA FIV ET DE L'ICSI

Figure 3

Évolution de la prématurité et de l'hypotrophie – FIV 1986-1995
(FIVNAT 1996)



L'étude rétrospective suédoise publiée en novembre 1999 dans le *Lancet* (3), concerne 5856 enfants nés après FIV pratiquées en Suède entre 1982 et 1995; les données sont comparées à celles des enfants nés sur la même période selon le registre suédois des naissances ($n = 1\,505\,724$), celui des malformations congénitales, et le registre suédois des cancers. Elles sont analysées selon l'âge maternel, la parité, l'infertilité antérieure, l'année de naissance, et le nombre d'enfants nés. Les mères traitées par FIV sont en moyenne plus âgées de 5 ans que les mères

spontanément enceintes, ont une parité moindre, des antécédents gynécologiques plus chargés, sont de moins grandes fumeuses, leur niveau d'éducation est identique. Les résultats témoignent de la grande fréquence des grossesses multiples (27 % des grossesses contre 1 % dans la population témoin), de la plus grande fréquence de la prématurité (30,3 % versus 6,3 %) et de l'hypotrophie (27,4 % versus 4,6 %). Ici encore, si l'augmentation de la prématurité est essentiellement liée aux grossesses multiples, on la retrouve significative chez les enfants uniques (11 % contre 5 % chez les témoins). La mortalité périnatale est de 1,9 % dans le groupe FIV et de 1,1 % dans la population de référence. Sur les 1069 paires de jumeaux nés, l'un est décédé dans 4,3 % des cas, les deux dans 0,7 % des cas ; les deux sont vivants 95 fois sur 100, et parmi 2154 jumeaux nés, 97 % ont survécu. Sur 127 naissances triples, trois enfants ont survécu 116 fois (91 %), seulement deux dans 6 % des cas, un seul ou aucun dans 3 cas. 366 des 381 triplés (96 %) ont vécu. L'importance des grossesses multiples conduit donc logiquement à une augmentation de la prématurité, laquelle a pour conséquence un accroissement de la mortalité périnatale (au total 98,1 % des enfants ont survécu versus 98,9 % dans la population générale). Cependant, quand la prématurité est augmentée par un facteur 5, la mortalité, elle, ne l'est que par un facteur 1,7. Les auteurs montrent cependant une grande prudence dans l'interprétation, qui serait celle d'un meilleur pronostic de la prématurité après FIV.

La conclusion de cette importante série témoigne du fait que la fréquence des grossesses multiples et les caractéristiques maternelles sont les facteurs principaux à l'origine des complications concernant les enfants, et non la technique de FIV par elle-même.

L'étude « cas-contrôle » de Dhont & coll. publiée en 1999 (11) envisage l'issue des grossesses obtenues après FIV entre 1992 et 1997 en Belgique de langue allemande. 3057 enfants uniques et 1241 jumeaux issus de FIV sont appariés selon leur sexe et la parité de la mère avec 326770 enfants uniques ou jumeaux conçus spontanément pendant la même période (dans la série d'enfants conçus après FIV, environ 10 % sont estimés l'être après FIV/ICSI sans être individualisés, l'item correspondant ne figurant pas dans le registre avant 1997). 281 grossesses triples et 8 quadruples sont exclues de l'analyse, pour défaut de population témoin. Les résultats de ce travail mettent en exergue l'augmentation des complications obstétricales et néo-natales (prématurité, morbidité et mortalité périnatales) chez les enfants

uniques comparés aux témoins, nés de mères plus jeunes d'environ 4 ans en moyenne. Par contre, si les auteurs constatent, comme dans toutes les études, une augmentation de 20 à 30 % de ces complications en rapport avec la gémellité, ils mettent l'accent sur la similitude entre les caractéristiques des jumeaux conçus spontanément ou après procréation assistée, sauf pour la fréquence des naissances par césarienne, augmentée dans le deuxième groupe. Cette constatation est la même dans l'étude de l'équipe new-yorkaise de Bernasko & coll. qui ont comparé 105 naissances gémellaires après FIV et 279 après conception naturelle, de 1990 à 1995 (4).

Les conclusions de ces études concordent pour souligner :

- L'absence de responsabilité de la technique de FIV en elle-même ;
- Le rôle de la grande fréquence des grossesses multiples, témoins du souci de plus grande efficacité des techniques, dans la genèse des grossesses à risques et des pathologies néo-natales ;
- L'augmentation minime, mais significative, probablement liée à l'âge et aux antécédents maternels, de ces mêmes pathologies chez les enfants uniques, quand on les compare à des groupes témoins.

3. FIV et malformations

Les données disponibles dans les différentes études ne comportent pas toujours de population témoin et excluent souvent les malformations diagnostiquées en anténatal et ayant motivé une interruption médicale de grossesse (IMG). La plupart ne relèvent pas les malformations mineures ou ne différencient pas les mineures des majeures. Enfin, anomalies chromosomiques et malformations congénitales sont rarement distinguées dans les publications. Le tableau III résume les informations provenant de quelques grandes séries.

L'étude de Bergh (3) portant sur 5 856 enfants nés de 1982 à 1995 évoque 5,4 % de malformations à la naissance, pour 3,9 % dans la population de référence (différence non significative). Ces données n'incluent pas les IMG, non répertoriées en Suède, ce qui représente, selon les auteurs, un biais important, et des difficultés d'interprétation de ces chiffres. Par ailleurs, cette étude relève une tendance à l'augmentation des anomalies du tube neural, retrouvées chez 11 enfants dont 8 jumeaux ; les premières études australiennes avaient déjà évoqué une élévation des spina bifida, non constatée dans les autres études plus récentes (29).

Tableau III
Malformations congénitales et anomalies chromosomiques après FIV
dans la littérature

ÉTUDES	POPULATION FIV							
	POPULATION		INFORMATIONS			MALFORMATIONS %		
	Effectifs	Années 19..	Anténatal	Naissance	Postnatal	IMG	À la naissance Min, Maj,	Totales
Dhont & coll, (1999)	5 539	92-97	IMG exclus	Oui	Non	ND	Non différenciées	3,1
	3 055	92-97	IMG exclus	Oui	Non	ND	Non différenciées	2,7
Rufat & coll, (1994)	1 669	87-89	Oui	Oui	Oui (1 an)	0,5	2,4	2,9
Bilan ministériel français (DGS)	8 145	96-97	Oui	Oui	Non	0,8	1,7	2,5
Bergh & coll, (1999)	5 856	82-95	Non	Oui	Non	ND	Non différenciées	5,4

Dhont (11) note une différence significative entre la population des 5 539 enfants FIV nés entre 1992 et 1997 et la population témoin (3,1 % et 1,7 %); lorsque l'appariement des grossesses se fait en fonction de l'âge maternel, cette différence devient non significative.

Le taux de malformations constaté à la naissance, rapporté dans FIVNAT 98 est de 1,9 % (1,4 % pour les grossesses uniques), et leur détail ne présente pas de caractéristiques particulières par rapport à celles de la population générale.

Au total, en dépit des variations méthodologiques, l'ensemble des travaux est en faveur d'une absence d'augmentation significative du taux de malformations congénitales des enfants nés après FIV.

B. Enfants nés après ICSI

Parmi les techniques successivement nées de la fécondation in vitro, nous avons vu que certaines n'ont eu qu'une brève existence. La micro injection intra-cytoplasmique des spermatozoïdes

LES ENFANTS DE LA FIV ET DE L'ICSI

*Tableau III (suite)
Malformations congénitales et anomalies chromosomiques après FIV
dans la littérature*

ÉTUDES	POPULATION DE RÉFÉRENCE			FIV vs Population de référence p
	Effectifs ou Registres	IMG	MALFORMATIONS % A la naissance Min, Maj, Totales	
Dhont & coll. (1999)	326 570 Registre régional	ND	Non différenciées 1,7	0,01
	Appariement avec âge	ND	Non différenciées 2,2	NS
Rufat & coll. (1994)				
Bilan ministériel français (DGS)	ND			
Bergh & coll. (1999)	1 502 724 Registre suédois	ND	3,9	NS

(ICSI), destinée à pallier les stérilités masculines extrêmes, puis étendue à certains échecs des FIV classiques, a non seulement perduré, mais pris une place prépondérante dans l'arsenal thérapeutique depuis 1993. La crainte de l'échec en FIV classique dans certaines indications avec participation masculine fait peu à peu dériver le choix de la technique au profit de l'ICSI, malgré le moins grand recul sur les enfants. De même, le souhait de l'efficacité maximale fait-il de plus en plus opter pour l'ICSI dans des circonstances particulières telles que les dons d'ovocytes, voire les FIV avec sperme de donneur.

1. Caractéristiques des grossesses et des enfants (hors malformations)

Le rapport FIVNAT 1999 compare les données concernant 3 642 grossesses obtenues en France après ICSI pratiquées entre 1994 et 1998, à celles des 8 794 grossesses après FIV conventionnelle sur la même période (tableau I). 77,5 % des grossesses ICSI ont abouti à un accouchement contre 74,4 % en FIV ($p < 0,01$). Les taux de grossesses multiples sont très voisins. Le tableau IV résume les caractéristiques des 3 299 nouveau-nés

Tableau IV
Caractéristiques comparées des nouveau-nés après FIV et ICSI
réalisées entre 1994 et 1997 (d'après FIVNAT 1999)

CARACTÉRISTIQUES	Ensemble des enfants		NOMBRE D'ENFANTS						FIV vs ICSI	P
	FIV	ICSI	1		2		3			
			FIV	ICSI	FIV	ICSI	FIV	ICSI		
Nombre d'enfants	7 931	3 299	4 234	1 743	2 945	1 125	296	94		
Sex ratio	1,1	0,97	1,11	0,92	1,09	1,04	0,89	0,77	0,01	
Prématurité totale < 37 sa (%)	25,6	23,2	8,9	7,5	43,5	41,7	90,7	90,1	NS	
Grande prématurité < 33sa, %	5,7	4,7	2	1,9	8,5	7	31,1	26,4	NS	
Terme moyen (SA*)	37,5 ± 6,3	37,7 ± 4,7	38,6 ± 6,4	38,8 ± 4,5	36,2 ± 5,8	36,3 ± 5,3	34,0 ± 6,3	33,4 ± 3,4	NS	
Hypotrophie < 10 ^e P. (%)	24,6	24,1	11,4	10,7	42,9	46,0	59,9	65,4	NS	
Poids de naissance < 2 500 g (%)	29,8	28,0	9,1	7,9	53,6	55,4	90,6	88,0	NS	
Poids de naissance < 1 500 g (%)	4,4	3,7	1,3	1,3	6,7	5,5	25,9	25,0	NS	
Évolution										
Mort in utero (‰)	9,5	8,6	4,6	4,7	14,5	12,6	34,0	21,3	NS	
Mort néo-natale < j 7 (‰)	6,7	2,8	3,4	0	11,1	2,7	10,2	53,2		
Mort néo-natale j 7 - j 28 (‰)	1,4	1,2	0,1	0,1	2,4	0,9	0	0		
Mortalité périnatale totale (‰)	17,6	14,6	8,1	4,8	28,0	16,2	44,2	74,5		
Complications (%)	1,3	1,3	0,9	0,9	1,8	1,7	1,7	5,3		
Bonne santé (%)	96,7	97,1	98,0	98,4	95,0	96,0	93,9	87,2		

* SA : Semaines d'aménorrhée révolues recalculées

après ICSI comparées à celles des 7931 nouveau-nés après FIV. Il n'y a pas de différence significative entre les taux de prématurité, d'hypotrophie, de mortalité périnatale, à nombre d'enfants égal comme sur l'ensemble des enfants. La seule exception à cette similitude est l'abaissement du sex ratio en ICSI ($p < 0,01$), sans que l'on puisse déterminer l'effet du hasard, de celui de l'ICSI elle-même, que ce soit en raison de l'indication ou de la technique. Par ailleurs, comme en FIV, il existe après ICSI, une relation très serrée entre la prématurité, le petit poids de naissance, la mortalité périnatale, et le nombre d'enfants.

Ces constatations sont retrouvées dans les études de la littérature analysant rétrospectivement les données obstétricales et néo-natales de grossesses obtenues en FIV ou ICSI.

Ainsi, l'équipe de l'Université Libre de Bruxelles a-t-elle comparé l'issue de 290 grossesses obtenues à part égale dans les deux techniques (18). Malgré un âge significativement plus jeune des mères du groupe ICSI comparé au groupe FIV (respectivement 31 ans et 33 ans, $p < 0,001$), leur durée d'infertilité était identique. Pour un nombre moyen d'embryons transférés de 2,7, le taux de grossesses multiples est similaire (35 % en ICSI et 31 % en FIV). Aucune différence n'est observée quant aux complications obstétricales ou néo-natales pour les enfants uniques. Par contre, les âges gestationnels et les poids de naissance des jumeaux sont significativement plus élevés après ICSI ($p < 0,05$) qu'après FIV : 36,5 et 35,5 SA ; 2488 g et 2241 g.)

Ceci rejoint également les conclusions de l'équipe de Bonduelle (5) qui ne retrouve aucune différence dans l'évaluation périnatale de 130 enfants nés après FIV, et 130 enfants nés après ICSI, dont les mères étaient appariées en fonction de leur âge. De même en est-il dans la publication de Wennerholm & coll. concernant 1187 enfants nés après ICSI entre 1993 et 1997 en Suède (43).

Quoi qu'il en soit, les données portant sur ces paramètres ne sont jamais en défaveur de l'ICSI.

Par ailleurs, les études les plus récentes tentent de différencier la survenue des complications obstétrico-pédiatriques selon des critères plus affinés, notamment l'indication de l'ICSI. Ainsi, Aytöz & coll. (2) ont-ils publié en 1998 une analyse rétrospective sur l'issue des grossesses, quand celles-ci avaient été obtenues après micro injection de l'ovule par des spermatozoïdes éjaculés (groupe 1, $n = 1427$), recueillis chirurgicalement dans l'épididyme (groupe 2, $n = 79$), ou dans le testicule (groupe 3, $n = 93$).

Les critères colligés sont la mort in utero, la prématurité, l'hypotrophie fœtale, la mortalité périnatale. La plupart de ces paramètres ne présentent pas de différence significative entre les groupes. Deux résultats sont cependant signalés comme significatifs : le taux élevé d'enfants hypotrophes dans le groupe 2 comparé au groupe 1 ($p < 0.001$), probablement dû au nombre important d'enfants multiples dans ce petit groupe ; la fréquence des morts in utero dans un sous-groupe du « sperme éjaculé », quand il s'agissait d'une oligo-asthénospermie sévère, comparé à l'ensemble de ce groupe ($p < 0.02$).

2. Débat sur les malformations congénitales et les anomalies génétiques

Les études de la littérature fournissent des données contradictoires sur les conséquences délétères spécifiques de l'ICSI. Les étiologies qui seraient à incriminer dans ces conséquences pourraient être, selon les auteurs (20, 21) :

- La possibilité d'altérations ovocytaires par le geste de micro injection (qualifié par certains de « viol de l'ovule »), qui induirait une lésion du fuseau métaphasique ;

- Le risque lié à la transgression de la sélection naturelle par le choix d'un spermatozoïde unique injecté, potentiellement porteur d'anomalies génétiques (spermatozoïde anormal arbitrairement choisi pour la technique au sein d'une population spermatique normale) ;

- Celui induit par la congélation, puis décongélation éventuelle du spermatozoïde, technique fréquemment utilisée dans les prélèvements chirurgicaux pour ICSI ;

- Enfin, et surtout, la possibilité de transmission à l'enfant de pathologies responsables de l'infertilité, telle la mucoviscidose, ou d'anomalies chromosomiques issues d'une translocation paternelle ; en effet la fréquence des anomalies chromosomiques susceptibles d'être transmises est de 0,6 % à 1 % dans la population générale, 5 % en cas d'oligospermie, 10 % dans l'ensemble des azoospermies, et 20 % dans les azoospermies d'origine sécrétoire. En tout dernier lieu, les anomalies géniques telles que certaines microdélétions du chromosome Y, récemment connues et incomplètement explorées, comportent un nouveau risque encore mal défini.

L'analyse de la littérature retrouve les préoccupations concernant l'augmentation des taux de malformations et d'anomalies chromosomiques. Les publications sont à présent nombreuses (5, 19, 23, 31), leurs conclusions, dans l'ensemble rassurantes, sont

toutefois difficiles à analyser du fait de biais méthodologiques : comme précédemment évoqué, il peut s'agir de :

- Cohortes dont l'exhaustivité n'est pas précisée;
- La seule prise en compte des malformations à la naissance, à l'exclusion, tant des diagnostics portés pendant la grossesse et ayant motivé une interruption médicale, que de ceux portés plus tardivement dans les premiers mois de vie de l'enfant;
- L'absence d'uniformité des registres de malformations pris pour référence;
- Diagnostics d'anomalies chromosomiques faits sans signes d'appel sur un dépistage systématique, non proposés en routine après FIV, ni bien sûr en cas de grossesse spontanée, qui passeraient inaperçus comme c'est le cas dans les populations de référence.

Le tableau V illustre les variations de la méthodologie et des résultats d'études qui sont rarement exhaustives même si elles portent sur des séries conséquentes, et avec population de référence pour la plupart.

L'équipe bruxelloise de Van Steirteghem, Bonduelle et Liebaers, pionnière dans la technique de l'ICSI, l'a également été dans l'évaluation des grossesses et de l'état de santé des enfants. Depuis 1992, elle a régulièrement publié des études sur un nombre de grossesses et d'enfants croissant (5, 6, 7, 23, 24, 41). En 1996, Bonduelle & coll. publiaient le suivi de 76 % de 420 enfants nés vivants entre 1991 et 1994. Cette étude indiquait un taux rassurant de malformations majeures à la naissance (3,3 %), et 20 % de malformations mineures; elle fit l'objet d'une polémique avec une équipe de généticiens australiens (21) qui réinterprétèrent et reclassifièrent la liste d'anomalies publiées, en comparant les résultats obtenus en termes de malformations majeures (7,4 %), et mineures (0,7 %) à ceux de la population australienne (respectivement 3,8 % et 0,5 %), selon le registre australien des malformations. La différence était significative en défaveur de la population ICSI. La différence provenait de définitions non superposables des malformations majeures dans les registres de référence.

L'étude de Palermo & coll. publiée dans le JAMA en 1997 (31) relevait 2,6 % de malformations dont 1,6 % majeures, dans une population de 578 enfants nés après ICSI. Ce taux, excluant les anomalies diagnostiquées en anténatal ayant motivé une IMG, et les diagnostics ultérieurs à la naissance, était significativement plus bas ($p < 0.02$) que dans la population FIV de référence.

Tableau V
Malformations congénitales et anomalies chromosomiques après ICSI
dans la littérature

ÉTUDES	POPULATION ICSI									
	POPULATION			INFORMATIONS			MALFORMATIONS %			
	Effectifs	Exhaustivité %	Années 19..	Anténat.	Naiss.	Postnat.	IMG	A la naissance Min.	Totales Maj.	
Bonduelle & coll. (1995)	130	130/519	92-93	Oui	Oui	Oui (1 an)	0	13,8	3,1	
Bonduelle & coll. (1996)	420	76	91-94	Non	Oui	Non	ND	20	3,3	
Kurinczuk & coll. (1997)	Même cohorte d'enfants réanalysée							0,7	7,4	
Palermo & coll. (1996)	578		93-95	Oui	Oui	Non	1,8	1	1,6	
Wennerholm & coll. (1999)	1 187		93-97	Oui	Oui	Non	0,3		4,4	
Van Golde & coll. (1999)	120				Oui	Non	?		1,7	
Sutcliffe & coll. (1999)	207	90		ND	Oui	Oui (18 Mois)	ND	10	4,3	
Epelboin. & coll. (1999)	149	100	94-96	Oui	Oui	Oui	3,3	3,5	4,9	11,4

Un suivi exhaustif de cohorte sur les 149 enfants (dont 141 nés vivants) conçus par ICSI à Cochin – Saint-Vincent-de Paul entre 1994 et 1996, a été évalué en 1997 (14). Il a permis de colliger l'ensemble des anomalies détectées en anténatal depuis la première échographie morphologique pratiquée à 12 semaines d'aménorrhée, à la naissance, et dans les 6 à 36 mois suivant la naissance selon l'âge des enfants. La population de référence pour l'analyse des malformations était constituée par les 40 087 enfants nés à Paris en 1995, parmi lesquels 1 817 (4,5 %) étaient consignés dans le registre des malformations déclarées pour 1 337 à la naissance, 30 à l'occasion d'une mort in utero, 437 à la suite d'une IMG, et 13 d'une fausse couche tardive. Pour cette

LES ENFANTS DE LA FIV ET DE L'ICSI

*Tableau V (suite)
Malformations congénitales et anomalies chromosomiques après ICSI
dans la littérature*

ÉTUDES	POPULATION DE RÉFÉRENCE				ICSI vs Population de référence p	
	Effectifs ou Registres	MALFORMATIONS %				
		IMG	À la naissance Min,	Maj,	Totales	
Bonduelle & coll. (1995)	130 enfants FIV	ND	16	4,6		NS
Bonduelle & coll. (1996)	ND					
Kurinczuk & coll. (1997)	Registre australien		0,5	3,8		p < 0,001
Palermo & coll. (1996)	653 enfants FIV		3,1	3,5		p < 0,002
Wennerholm & coll. (1999)	ND					
Van Golde & coll. (1999)	132 enfants FIV				3,0	NS
Sutcliffe & coll. (1999)	214 enfants appariés	ND	7	3,7		NS
Epelboin & coll. (1999)	Registre de Paris selon Eurocat : IMG + naissances	1,1		3,4	4,5	NS si malfo. postnatales exclues

population comme pour celle des enfants ICSI, la classification des malformations était basée sur un réseau consensuel de registres, Eurocat, considérant largement comme majeure toute anomalie susceptible d'entraîner un handicap chez l'enfant. Le respect de cette classification et l'exhaustivité des données conduisent à relever un taux élevé de malformations, 5 mineures (3,6 %), et 12 majeures (8 %), parmi lesquelles 4 (2,9 %) de bon pronostic. Ces taux ne sont cependant pas retrouvés significatifs par rapport à la population témoin.

Le tableau VI illustre la difficulté d'interprétation de ces résultats si discordants : en réanalysant les données de chacune des études en fonction d'un registre uniforme, et selon la métho-

Tableau VI
Taux de malformations après ICSI :
influence de la méthodologie d'analyse

	% Malformations publiées			% Malformations selon EUROCAT								
				Constatées à la naissance			IMG + constatées à la naissance			IMG + constatées à la naissance ET en postnat. > 2 mois		
	Min.	Maj.	Tot.	Min.	Maj.	Tot.	Min.	Maj.	Tot.	Min.	Maj.	Tot.
Bonduelle & coll.	20	3,3		0,7	7,4		ND	ND	ND	ND	ND	ND
Palermo & coll.	1	1,6	2,6	0,2	2,4	2,6	0,2	3,6	3,8	ND	ND	ND
Epelboin & coll.	3,5	4,9	11,4	0,7	2,8	3,5	0,7	6	6,7	3,5	4,9	11,4

dologie des autres, les taux de malformations majeures se rejoignent, parfois en passant du simple au double. Ainsi, si l'on intègre dans l'étude de Palermo les diagnostics anténataux, ce taux passe-t-il de 2,4 % à 3,6 %. De même, si l'on comptabilise les malformations majeures de la dernière étude à l'aune du modèle des deux précédentes, en excluant les diagnostics pré et postnatals, leur taux chute-t-il de 8 % à 3,8 % !

L'ensemble de ces constatations plaide en faveur de l'interprétation prudente des chiffres, de l'harmonisation des registres de référence, et de l'exhaustivité du recueil des données.

Une étude prospective égyptienne (1) portant sur 206 bébés nés après ICSI (119 uniques, 84 jumeaux et 3 triplés) étudie la survenue d'anomalies en fonction de l'origine des spermatozoïdes : elle relève la survenue de malformations majeures chez 13 enfants (6,3 %), et de caryotypes anormaux chez 10 d'entre eux (4,8 %) à la naissance. Ce dernier taux est significativement élevé comparé à celui de la population générale. Le détail de ces caryotypes était 47 XY + 21 (2 fois), 47 XXY (3 fois), 46 XX/45X0 (2 fois), 47 XYY (1 fois), et 2 fois une chimère, 46 XY/46 XX et 47XXY/46XY. La distribution de ces anomalies ne diffère pas selon que le sperme utilisé pour l'ICSI a été recueilli chirurgicalement ou éjaculé. Là encore, si les résultats de ce type d'études méritent d'être rapportés, leur interprétation est délicate en rai-

son de l'effet « petite série ». Au total, l'allongement des séries permettra de confirmer ou d'infirmer les premières constatations qui ne sont pas alarmantes, et surtout de rapporter les malformations ou anomalies chromosomiques répertoriées en fonction des indications d'ICSI, ou du site de recueil des spermatozoïdes.

C. Enfants nés après congélation embryonnaire

Le 11 avril 1984, à Melbourne, naquit Zoé, le premier enfant issu en Australie et dans le monde d'un embryon congelé au stade de 8 cellules, le transfert de 3 embryons conçus simultanément et transférés immédiatement n'ayant pas abouti à une implantation. Le 27 avril 1987, une Britannique donnait naissance, après transfert d'embryons congelés, à une fillette de 18 mois plus jeune que sa sœur aînée conçue le même jour.

La congélation embryonnaire offrait les perspectives exaltantes d'augmenter les chances de grossesse par la multiplication des transferts d'embryons issus de la même tentative, tout en diminuant les risques de grossesse multiple par une réduction du nombre d'embryons transférés.

Durée de conservation, statut juridique de l'embryon, responsabilités des parents et des équipes médicales, ont été autant de sujets débattus depuis le début de cette technique, qui a par ailleurs déchaîné les élucubrations médiatiques : ainsi celle de cette journaliste qui écrivait en 1987 : « on sait qu'un embryon humain congelé peut se conserver pendant près d'un siècle, soit à peu près 4 générations. De quoi relancer les rêves les plus fous, ceux des enfants d'"Hibernatus" » (17).

Sur le plan biomédical, la préoccupation est de pouvoir affirmer l'innocuité de la congélation/décongélation de l'embryon sur son développement ultérieur.

Les données existant à ce jour sur les enfants nés sont tout à fait rassurantes. Le dossier FIVNAT 1996 (15) étudie les caractéristiques de 838 enfants nés entre 1987 et 1994 après transferts d'embryons congelés (TEC) issus de FIV. 1 121 grossesses avaient abouti à 809 accouchements dont 84,2 % d'enfants uniques, 15,2 % de jumeaux et 0,6 % de triples. Comme on peut le constater sur le tableau VII, le taux d'accouchements par grossesse débutante (72,2 %) est identique à celui obtenu sur cette période après 16 423 transferts d'embryons frais (76,5 %) ; le pourcentage de grossesses multiples est par contre significative-

Tableau VII (d'après FIVNAT 1996)
 Caractéristiques comparées des nouveau-nés après transfert d'embryons
 frais (1986-1994) et transfert d'embryons congelés (1987-1994)

CARACTÉRISTIQUES	Ensemble des enfants		NOMBRE D'ENFANTS						TE frais vs TE congelés P
	TE** frais	TE congelés	1		2		3		
			TE frais	TE congelés	TE frais	TE congelés	TE frais	TE congelés	
Nombre d'enfants	16477	838	9 244	609	5914	214	1 319	15	
Sex ratio	1,05	1,04	1,07	1,10	1,02	0,89	1,05	1,14	NS
Prématurité totale < 37 SA (%)	27,3	16,8	9,1	8,2	42	38,3	86,8	60	NS
Grande prématurité < 33 SA, %	6,4	2	2,1	1,3	7,9	4,2	28,9	—	NS
Hypotrophie < 10 ^e P. (%)	29,0	14,8	14,4	6,3	46,9	32,3	71,6	83,3	NS
Poids de naissance < 2 500 g (%)	33,6	16,7	10,5	6,3	56,4	42	93,8	93,3	NS
Poids de naissance < 1 500 g (%)	5,2	1,5	1,6	0,5	6,1	3,4	26,6	13,3	NS
Mortalité :									
in utero (‰)	10,9	2,4	6,3	1,6	13,7	4,5	30,1	0	NS
néo-natale < J 7 (‰)	11,2	10,7	5,8	4,9	17,6	6,8	24,5	0	NS
néo-natale J 7 - J 28 (‰)	1,9	0	0,8	0	2,8	0	5,5	0	NS
Malformations (%)	2,8	2,3	2,8	2,4	2,9	2,3	2,2	0	NS
Bonne santé (%)	94,2	93,6	96,8	96,2	92,5	86,2	83	100	NS

* SA : Semaines d'aménorrhée révolues recalculées

** TE : Transfert d'embryons

ment diminué, et notamment celui des triplés. L'évolution des grossesses après TEC est peu différente de celle des grossesses obtenues lors du cycle de ponction. On note toutefois une baisse des menaces d'accouchement prématuré, des durées d'hospitalisation et une diminution modérée de la prématurité pour les grossesses simples ou gémellaires. Le poids à la naissance est supérieur à celui des enfants conçus lors du cycle de ponction, et le taux d'hypotrophie plus faible. Cette diminution de la pathologie dans les grossesses, comme l'état des nouveau-nés après TEC sont peut-être liés au plus jeune âge des patientes, comparé à la population FIV (ce sont les femmes les plus fertiles, donc souvent les plus jeunes, qui ont en majorité des embryons surnuméraires congelés).

Le taux de malformations est sensiblement le même que celui observé en FIV classique et en reproduction naturelle.

Des résultats identiques ont été observés par Wada & coll. (42) sur 283 enfants nés après transfert d'embryons congelés, comparés à 961 enfants obtenus après transfert d'embryons frais.

II. DEVENIR À MOYEN ET LONG TERME DES ENFANTS

A. Enfants nés après FIV

Peu d'études ont analysé le devenir des enfants à long terme sur des effectifs suffisants. Certes, quelques enquêtes ont été publiées dans la littérature portant sur le devenir d'enfants conçus par FIV dans des centres isolés. Ainsi, Mushin et al. (28) n'ont pas retrouvé d'anomalies particulières de développement chez 33 enfants suivis jusqu'à 12 à 37 mois. Il en est de même pour Yovitch et al. (45) sur 20 enfants, pour Morin et al. (26), sur 83 enfants conçus par FIV comparés à 93 conçus spontanément. Aucune différence n'a non plus été notée par Brandes et al. (8) sur deux groupes de 116 enfants examinés à 1 an, ni par Ron et al. sur deux groupes de 30 enfants (34). Dans une étude sur deux groupes de 33 enfants, Raoul-Duval et al. (33) ont simplement noté de légers troubles du sommeil à 9 mois, disparaissant ensuite, et attribués à l'angoisse des parents. En 1996, Saunders et al. (37) ont publié une étude sur 155 enfants âgés de 2 ans en 1991, conçus par FIV, comparés à 6 fois plus d'enfants conçus

spontanément et dont 43 % ont pu être suivis jusqu'à 4 ans, sans retrouver d'anomalies. Il en est de même dans une étude suédoise réalisée en 1996 sur 99 enfants conçus par FIV, et comparés à des données de la littérature (9).

Ces études posent cependant des problèmes méthodologiques. En effet, la plupart comportent un nombre de perdus de vue important, et aucune n'est d'effectif suffisant. Certaines ne comportent pas de groupe témoin, alors que les couples traités par une FIV sont à l'évidence différents des autres (âge élevé, antécédents d'infécondité, traitement de stimulation de l'ovulation). De nombreux biais sont ainsi créés, par la sélection des cas, le recueil de l'information, les perdus de vue, si bien que les résultats restent discutables.

Un travail réalisé en 1995 dans notre équipe a analysé le développement des enfants nés à l'hôpital Saint Vincent-de-Paul après AMP, depuis le premier transfert d'embryons ayant abouti à un accouchement en juillet 1985, jusqu'à la dernière naissance de décembre 1994 (13). Cette étude rétrospective ne comportait pas de groupe témoin. Entre juillet 1985 et décembre 1994, 230 femmes ont donné naissance à 300 enfants. 90 % des femmes ont été suivies dans notre maternité, 250 enfants, soit 84 % de la population, y sont nés. Au total, 100 % des données obstétricales et néo-natales des 300 enfants ont été colligées sans aucun perdu de vue, 9 ans après la première naissance.

L'analyse des dossiers portant sur les pathologies obstétricales, le mode de naissance des enfants, les caractéristiques des enfants nés, aboutit à des constatations similaires à celles citées plus haut.

Dès les premières grossesses, 10 ans auparavant, les parents ont été prévenus de notre souci d'assurer un suivi des enfants. Début 1995, nous avons souhaité harmoniser les informations reçues auparavant de façon non structurée par l'envoi d'un questionnaire aux 226 familles des 287 enfants vivants. Une lettre introductive informait les parents du triple motif de notre démarche : évaluation de nos pratiques, souhait de pouvoir répondre de façon fiable aux questions concernant les enfants que se posent les nouveaux couples candidats à une AMP ; possibilité du retour de l'information à certains parents s'interrogeant à distance quant aux liens d'une pathologie survenue au cours de la vie de l'enfant avec la technique de fécondation initiale. Une consultation pédiatrique auprès de l'un des pédiatres de la maternité était fortement suggérée, sans être obligatoire, afin de

confronter l'examen pédiatrique objectif aux réponses des parents.

Nous avons reçu 275 réponses, soit 96 % des questionnaires envoyés provenant de 214 familles. 10 ans après la première naissance, nous ne déplorions donc que 4 % d'enfants perdus de vue.

Les questions étaient regroupées en quatre thèmes :

- Le développement des enfants : le poids et la taille semestriels ont été notés par les parents à partir du carnet de santé ; de même en a-t-il été pour les pathologies médicales ou chirurgicales, les hospitalisations en service de médecine ou de chirurgie, les traitements au long cours, les prises en charge paramédicales diverses. Des questions concernaient l'âge de la marche et de la parole, le niveau scolaire objectivé par la classe de maternelle ou de primaire fréquentée par l'enfant, et subjectivement étayé par les commentaires des parents quant à l'aisance ou la difficulté qu'ils jugeaient être celle de l'enfant en classe. Enfin le questionnaire laissait une place conséquente pour les commentaires libres des parents quant au caractère de leur enfant et à son comportement en famille et en société, ainsi qu'à l'avis du pédiatre traitant. Toutes les réponses aux questions portant sur le développement de l'enfant, ont été analysées par un pédiatre de l'équipe. Les réponses des parents au questionnaire ont pu être confrontées, en ce qui concerne 180 enfants, aux constatations de la consultation pédiatrique, soit unique, soit répétée.

- Les deuxième et troisième parties du questionnaire, que nous n'aborderons pas ici, portaient sur l'histoire obstétricale de la mère et la santé de la mère après cet accouchement.

- La dernière partie du questionnaire interrogeait les parents sur le secret qu'ils souhaitaient préserver ou non vis-à-vis de leur enfant sur la technique à l'origine de sa naissance ; de nombreux parents ont largement explicité leur choix.

Les données recueillies sur le développement des enfants sont les suivantes :

- 225 enfants, (82 %) n'ont présenté aucune pathologie. Parmi les 30 pathologies médicales, on note l'importance des bronchiolites et des reflux, souvent témoins de la prématurité. Parmi les 19 pathologies chirurgicales, on ne retrouve pas de pathologies spécifiques en dehors de 5 hernies inguinales qui peuvent également être mises en rapport avec la prématurité.

- 266 enfants (97 %) n'ont au moment de l'étude aucun problème de santé. 9 enfants suivent des traitements, 5 d'entre eux pour un asthme, une allergie, des convulsions ; 4 enfants (1,4 %)

sont en difficulté importante, et soumis à une prise en charge spécialisée lourde. Ces handicaps sévères concernent des enfants tous issus de grossesses multiples : il s'agit d'un garçon triplé de 10 ans, né sans problème à 37 semaines d'aménorrhée qui présente une psychose infantile. Un garçon jumeau de 7 ans, né à 34,5 semaines d'aménorrhée sans souffrance fœtale diagnostiquée à la naissance, un jumeau de 6 ans né en siège à 37 semaines d'aménorrhée présentent un retard psychomoteur. Enfin, une fille de 4 ans, triplée de deux frères monozygotes décédés in utero, née par césarienne à 32 semaines d'aménorrhée après rupture prématurée des membranes de l'autre poche a de lourdes séquelles de prématurité.

- 236 enfants (86 %) n'ont aucune prise en charge médicale ou paramédicale spécialisée. L'interprétation des prises en charge jugées légères telles que la rééducation orthophonique ou orthoptique, est difficile. Il s'agit en effet de petites séries par tranche d'âge ; par ailleurs, dans la littérature, on ne retrouve pas de chiffres de référence en ce qui concerne la population témoin.

- Les courbes de poids et de taille (figure 4) concernent le poids et la taille des enfants à la naissance et les mesures ultérieures du carnet de santé rapportées à l'âge. Elles intègrent 1030 mesures de poids, 998 mesures de taille, elles sont comparées aux courbes staturo-pondérales de la population générale par sexe. On note sur ces figures que les courbes staturo-pondérales des enfants nés après AMP ne diffèrent pas de celles de référence. On voit également que, malgré les cas de prématurité et d'hypotrophie, le poids et la taille sont rattrapés dès 6 mois.

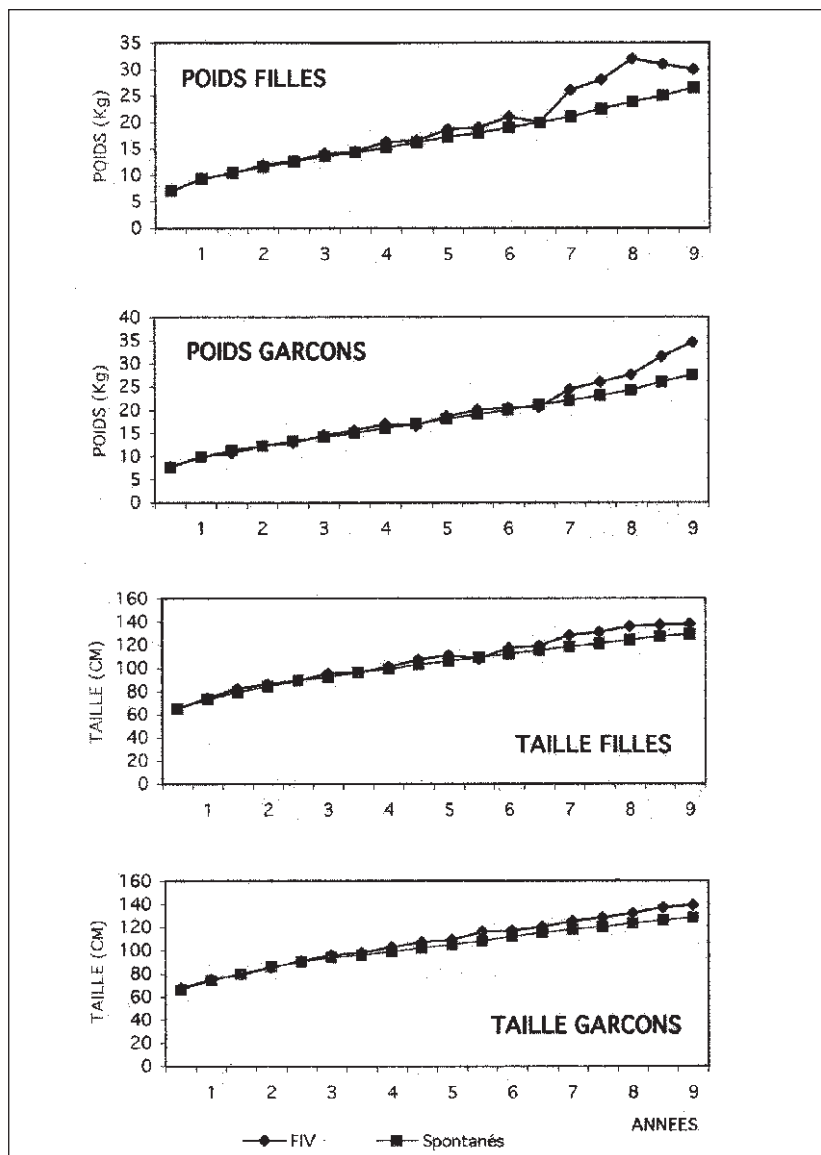
- La marche : parmi les 208 enfants marchant au moment de l'enquête, l'âge moyen des premiers pas est de 13,5 mois, ce qui n'est pas différent de la population générale.

- La parole : l'extrême subjectivité de ce critère rend les réponses de parents enthousiastes difficiles à apprécier. Parmi les réponses interprétables, l'association cohérente de mots est survenue à 18 mois (5,8), ce qui est également comparable à la population générale.

- L'étude de la scolarité : l'évaluation du niveau et de « l'aisance » scolaire de l'enfant par les parents de 151 enfants scolarisés en maternelle ou en primaire, allègue une scolarité sans problème chez 150 enfants, quelques difficultés chez 1 enfant. 150 enfants fréquentent une classe de leur niveau, ou d'un niveau supérieur ; 1 enfant est dans un niveau de classe

LES ENFANTS DE LA FIV ET DE L'ICSI

Figure 4
Courbes staturo-pondérales des enfants FIV comparés à la population de référence



d'une année en dessous du niveau attendu. Enfin, nous avons répertorié le niveau scolaire des 29 enfants de 5 à 10 ans fréquentant l'école primaire. 19 ont un niveau normal, 10 ont un an d'avance, banalement expliqué par l'attention très particulière dont ces enfants font l'objet, après avoir été tant attendus!

La consultation effectuée par un des pédiatres de l'équipe a permis une comparaison extrêmement intéressante entre les données de l'examen et les réponses des parents au questionnaire. 180 enfants uniques, jumeaux ou triplés ont été examinés par un pédiatre de la maternité. L'observation pédiatrique confirme et valide les réponses des parents pour les 3 enfants atteints de retard psychomoteur, l'enfant autiste et les 174 enfants dont le développement est jugé normal par la famille. Deux observations évoquent une pathologie tandis que la réponse parentale au questionnaire ne la suggérait pas.

En ce qui concerne le statut de la famille, 4 divorces (1,9 %) sont signalés, parmi les 214 familles enquêtées.

À la question : « Avez-vous dit à votre enfant qu'il a été conçu par FIV ou envisagez-vous de le faire plus tard? », 72 % des couples répondent positivement, et 7 % d'entre eux veulent à tout prix préserver le secret. Parmi les parents indécis, on retrouve en grande majorité ceux dont les enfants sont nés très récemment. Il est à noter que parmi les couples ayant donné naissance à 30 enfants après FIV impliquant des paillettes de sperme de donneur, la proportion est inversée, et, quand la réponse est positive, elle concerne l'information sélective sur la Fécondation In Vitro, et non sur l'origine des gamètes paternelles.

Au total, cette enquête rétrospective sur le devenir des enfants, est caractérisée par son faible taux de perdus de vue (4 %) 10 ans après la première naissance. 4 enfants sont porteurs d'un handicap, tous issus de grossesse multiple. En ce qui concerne les autres enfants, quel que soit le rang de la grossesse, l'analyse du développement staturo-pondéral, de l'adaptation scolaire, du suivi médical, ne retrouve pas de particularité les différenciant des autres enfants.

Une autre étude de cohorte, également rétrospective sans population témoin, a été publiée par l'équipe de Clamart en 1997 (30). Elle considérait le suivi de 422 enfants conçus après FIV entre juin 1981 et décembre 1988, âgés de 6 à 13 ans au moment de l'étude. La méthodologie comportait des interviews téléphoniques des parents et l'envoi de questionnaires aux parents et/ou aux pédiatres, sans consultation spécifique par un pédiatre de

l'équipe. Cette étude a colligé des données comparables à l'étude citée plus haut, complètes pour 375 enfants, (258 uniques, 102 jumeaux, et 15 triplés), 370 enfants étant vivants au moment de l'enquête. Le taux de perdus de vue était de 9 %. 55 enfants étaient âgés de 6 ans, 77 de 7 ans, 55 de 8 ans, 57 de 9 ans, 67 de 10 ans, 48 de 11 ans, 9 de 12 ans, et 2 de 13. Les pathologies de la grossesse étaient voisines de celles déjà rapportées (15, 25, 27, 29, 35). Parmi les 5 enfants décédés, tous issus de grossesse unique, les causes incriminées étaient dans un cas un retard de croissance majeur (décès à J 27), dans un autre des séquelles de prématurité (naissance à 29 SA, décès à 2 mois), une souffrance fœtale aiguë (décès dans le post-partum immédiat), 2 morts subites du nourrisson.

Les courbes de croissance se situaient dans les normes, sauf pour 2,2 % des enfants (< 2 DS) pour le poids, et 0,3 % d'entre eux pour la taille. Le taux de malformations était de 9/370, soit 2,7 %, comparable à celui de la population générale. Les pathologies émaillant la vie des enfants étaient mineures, sans spécificité; comme pour les prises en charge paramédicales diverses, aucune comparaison valable n'a pu être établie avec la population générale.

Les performances scolaires, d'évaluation intéressante dans cette population d'enfants tous scolarisés, étaient satisfaisantes pour 92,2 % d'entre eux.

En ce qui concerne la confidentialité, parmi les parents d'enfants âgés de 6 à 10 ans, 58,7 % avaient choisi de ne pas les informer de leur mode de conception, et 26,9 % d'entre eux de garder le secret vis-à-vis des familles. Les parents d'enfants de 11 à 13 ans souhaitaient garder ce secret vis-à-vis de l'enfant pour 34 % d'entre eux, vis-à-vis de la famille pour 22,4 %. Ces résolutions sont différentes de celles exprimées par les parents (d'enfants en majorité plus jeunes, conçus jusqu'en 1994) concernés par l'étude précédemment exposée. Il est à noter que les questions ont été posées de façon contemporaine (1995), l'une à une population pionnière (30), l'autre à un groupe de parents ayant en moyenne conçu 5 ans plus tard (13), la procréation assistée étant déjà plus banalisée.

La poursuite de telles enquêtes, riches d'informations évolutives, se doit d'être prévue de façon prospective avec population témoin; sa mise en pratique rencontre des problèmes divers, tels que la difficulté de suivi à long terme de familles témoins moins motivées avec le risque d'un plus grand nombre de perdus de

vue, l'intrusion délicate dans les vies familiales, la gestion confidentielle du traitement informatique des données, les moyens financiers d'une telle recherche.

B. Enfants nés après ICSI

Le jeune âge de cette technique, donc des enfants nés, ne permet pas d'analyse sur le long terme. Par contre, en raison des interrogations, nées avec la technique, quant à l'innocuité de cette thérapeutique des infertilités masculines extrêmes, nombre d'équipes pionnières ont d'emblée organisé un suivi prospectif et/ou comparatif des enfants. On dispose donc, d'ores et déjà, de suivis à moyen terme de cohortes, d'exhaustivité variable. L'ensemble de ces données est, à cette date, rassurant.

Notre équipe (Cochin – Saint-Vincent-de-Paul) a ainsi suivi de façon prospective les 141 premiers enfants nés vivants entre juillet 1995 et août 1997 après ICSI d'indications diverses (14). Les données néo-natales concernent 95 enfants uniques, et 46 jumeaux, parmi lesquels 66 filles et 75 garçons ; elles indiquent un taux de prématurité de 12,8 %, un taux d'hypotrophie de 9,2 %. Les taux de malformations et anomalies congénitales étaient indiqués dans le tableau V. L'étude, comme celle des enfants FIV, a reposé sur l'analyse combinée des questionnaires aux parents, des carnets de santé des enfants, des comptes-rendus d'hospitalisation (le cas échéant), et de l'examen par un pédiatre de l'hôpital pour 2/3 d'entre eux. Les données ont été exhaustives pour 100 % des enfants, à 6 mois pour le plus jeune, 2 ans et demi pour le plus âgé. Aucune pathologie spécifique des deux premières années de vie n'est apparue, en dehors du suivi prolongé d'un enfant ancien prématuré, ultérieurement bien portant, et des enfants chez qui avait été diagnostiquée une malformation. C'est probablement un des points les plus intéressants de ce suivi à moyen terme, car l'évolution d'une anomalie constatée en anténatal ou à la naissance n'est pas toujours prédictible : sur les sept enfants ayant une malformation majeure, les quatre enfants présentant une malformation majeure chirurgicalement curable sont, à distance, en parfaite santé (1 syndrome de la jonction, 2 sténoses du pylore, 1 kyste ovarien associé à une torsion annexielle ayant justifié une salpingectomie). Le suivi spécialisé de deux autres enfants a permis d'intégrer la pathologie première à un syndrome (1 pseudo-hermaphrodisme masculin, et

1 syndrome de Wiedemann-Beckwith), et ainsi d'affiner le diagnostic de naissance, et la prise en charge conséquente. La combinaison des analyses des questionnaires aux parents, des constatations évolutives du pédiatre traitant, des rapports d'hospitalisation, et les contacts directs avec les spécialistes ayant en charge certains enfants permet d'affirmer qu'à la date de l'étude, 97,9 % des enfants de 6 à 30 mois vont bien, ont un développement normal, sans médicalisation particulière. La poursuite de ce suivi est en cours.

Singh & coll. (38) ont présenté en 1999 le suivi de 100 enfants parmi les 107 nés après ICSI à Lausanne entre 1994 et 1996 (perdus de vue : 6,5 %). Il s'agissait de 39 filles et 61 garçons, 6 triplés, 32 jumeaux et 62 enfants uniques. L'étude a reposé sur 2 questionnaires : le premier était rempli par l'obstétricien, il a permis de colliger 2 malformations majeures à la naissance (2 %). Le second questionnaire, destiné à évaluer le développement de l'enfant, était rempli par le médecin investigateur après contact téléphonique avec l'un des parents. Il a retrouvé 9 malformations mineures diagnostiquées en postnatal (9 %), et son analyse a permis d'affirmer la normalité du développement physique et mental de 99 enfants (99 %), dont 45 à 1 an et 54 à 2 ans. Cependant, sur le plan méthodologique, les auteurs soulignent l'insuffisance d'une telle enquête par questionnaire seul, particulièrement pour le suivi des enfants qui présenteraient des pathologies repérées à la naissance.

Sutcliffe & coll, en 1999 (40), ont étudié la santé et le développement de 207 enfants de 1 à 2 ans nés après ICSI, en les appariant à 214 enfants conçus naturellement à Manchester. Le taux de perdus de vue était de 10 % à 18 mois. Les enfants issus d'ICSI étaient plus souvent nés par césarienne ($p < 0,05$), à un terme et avec un poids de naissance inférieurs ($p < 0,01$) à la population témoin, sans hospitalisation néo-natale plus fréquente. Les taux de malformations majeures et mineures constatées à la naissance, respectivement de 4,3 % et 10,1 % chez les enfants étudiés, et de 3,7 % et 7 % chez les témoins, ne présentaient pas de différence significative. Le score de Griffith a servi de base à l'évaluation du développement mental des enfants des 2 groupes. Les conclusions de l'étude indiquent que les enfants nés après ICSI ont un développement normal.

Parmi leurs autres travaux, Bonduelle & coll, en 2000, (7) ont comparé de façon prospective le développement à 2 ans de 229 enfants nés après ICSI, et de 133 enfants nés après FIV.

Cette cohorte représente une partie des enfants ayant atteint l'âge de 22 à 26 mois entre mai 1995 et mai 1999, 229/493 après ICSI (46 %), 133/235 après FIV (57 %). Ces enfants ont été examinés par un pédiatre formé en psychologie clinique, volontairement non informé de la technique spécifique à l'origine de la conception. L'évaluation du développement psychologique s'est appuyée sur l'échelle de Bayley. Aucune différence n'avait été notée entre les deux groupes d'enfants concernant leur poids et terme de naissance, ni le milieu socio-économique maternel. L'analyse des résultats en régression multivariée trouve un développement comparable et satisfaisant des enfants nés après FIV ou ICSI, sans influence de la technique. Dans les deux groupes esxt constaté de façon équivalente un score plus bas chez les garçons comparés aux filles, et les jumeaux par rapport aux enfants uniques.

Au total, l'ensemble de ces études, qui portent sur quelques centaines d'enfants, fournit une idée rassurante et concordante sur leur développement et leur bien-être de vie. Ces données préliminaires méritent d'être confirmées par un suivi à plus long terme. Elles doivent également être analysées en y intégrant les données obstétricales (taux de fausses couches, IMG, mortalité périnatale) et néo-natales précédemment exposées, de façon à fournir aux couples candidats à l'ICSI, futurs parents, les probabilités exactes de pouvoir élever un (ou deux) enfants en bonne santé. Elles peuvent également être affinées, notamment selon les indications des techniques, la qualité des spermatozoïdes utilisés, afin de déterminer, peut-être, des sous-groupes plus à risque pour la santé des enfants.

C. Enfants nés après congélation embryonnaire

Les données rassurantes concernant les enfants nés après congélation embryonnaire consécutives à une FIV sont complétées par une étude de suivi de cohorte effectuée par l'équipe de Sutcliffe (39) publiée en 1995. Cette étude concerne 91 enfants du nord-ouest de l'Angleterre (68 enfants uniques, 20 jumeaux et 3 triplés), appariés à 83 enfants conçus naturellement (81 enfants uniques et 2 jumeaux). Les critères de comparaison sont le taux de malformations, l'examen pédiatrique et l'évaluation du développement mental selon l'échelle de Griffith. La période de naissance concernée va de décembre 1989 à janvier 1993, et celle

d'évaluation sur 12 mois, d'août 1993 à septembre 1994. Il y avait respectivement dans le groupe congélation et le groupe témoin 50 et 40 garçons, 41 et 43 filles. La fréquence des anomalies congénitales mineures était de 10,1 % et 7 %, elle était de 3,3 et 2,2 % pour les malformations majeures. Ces chiffres sont statistiquement similaires. Aucune différence n'est constatée dans le développement des enfants conçus naturellement ou après congélation sur la courte période d'observation, et ce malgré la fréquence des enfants nés de grossesses multiples dans le premier groupe.

CONCLUSION

La connaissance de ces données est fondamentale, tant pour répondre à des interrogations légitimes sur les conséquences des techniques de procréation assistée, que pour redresser des idées erronées sur les enfants conçus avec l'aide de la médecine, représentations souvent façonnées de façon excessive, sur les thèmes divergents du miracle ou des dérives. La réalité biomédicale est relativement claire, concernant les caractéristiques des grossesses et la santé des nouveau-nés, ce qui permet aux professionnels d'en tirer des conclusions qui modifient de façon évolutive leurs attitudes thérapeutiques, et au public d'être informé. Ceci est évident pour les conséquences délétères des grossesses multiples, notamment triples, qu'il faut éviter, même au prix de moindres réussites. De même, l'ancienneté plus grande, quoique relative, de la FIV classique, doit la faire préférer, quand cela est possible, à l'ICSI, plus récente, dont les conséquences sont moins documentées et plus contradictoires.

Par contre, le caractère récent de ces techniques ne permet pas de certitudes formelles sur le long terme, il est donc fondamental de se donner les moyens de poursuivre le suivi de ces enfants, sans pour autant porter atteinte à l'intimité familiale.

Il faut cependant retenir le fort pourcentage d'enfants qui vont bien, élevés dans des familles motivées, bien que souvent marquées par un long passé d'attente et d'échecs.

Résumé

Vingt-deux ans après la première conception par Fécondation In Vitro (FIV) ayant abouti à une naissance, plusieurs centaines de milliers d'enfants sont nés après procréation assistée et ont grandi de par le monde. Dans la plupart des pays européens, on estime actuellement que les naissances après Assistance Médicale à la Procréation (AMP), représentent environ 1,2 % du total des naissances. De nombreuses données sont disponibles sur le déroulement des grossesses et des naissances après AMP provenant de registres nationaux ou de suivis organisés dans certains centres. Les données à la naissance sur les enfants conçus en FIV sont concordantes, elles témoignent d'un certain nombre de pathologies gravidiques et néo-natales telles que l'élévation des taux de prématurité, d'hypotrophie, et de mortalité périnatale ; cette élévation, attribuée à l'âge plus élevé et aux antécédents gynéco-obstétricaux des mères prises en charge en FIV, est retrouvée indépendamment des grossesses multiples, génératrices par elles-mêmes de perturbation de ces indicateurs. Les grossesses multiples représentent en effet le souci majeur de l'AMP, puisque les complications néo-natales sont presque doublées en cas de grossesse gémellaire (1,7 % versus 0,9 % pour les uniques), l'écart se creusant surtout en cas de grossesse triple (5,3 %). La modération actuelle des politiques de transfert embryonnaire a pour conséquence une diminution des grossesses multiples et des taux globaux de prématurité et d'hypotrophie. L'ensemble des travaux est en faveur d'une absence d'augmentation significative du taux de malformations congénitales des enfants nés après FIV.

Les caractéristiques des grossesses et des enfants nés après ICSI sont comparables à celles des « enfants FIV », hormis la survenue de malformations congénitales et d'anomalies génétiques pour lesquelles les conclusions sont moins formelles. Malgré l'absence d'harmonisation méthodologique entre les différentes études, on peut cependant à l'heure actuelle constater qu'aucune ne prouve une augmentation significative des taux de malformation des enfants nés après ICSI comparés à la population générale ou aux enfants nés après FIV.

Le devenir à moyen et long terme des enfants nés après FIV fait l'objet de plusieurs études de cohortes extrêmement rassurantes. Le développement et la santé des enfants nés après ICSI ont été étudiés de façon prospective depuis l'introduction de la technique en 1992. Les résultats de ces enquêtes sont également optimistes.

L'ensemble de ces conclusions demande à être complété par un suivi à plus long terme, qui intègre les données obstétricales et pédiatriques et

LES ENFANTS DE LA FIV ET DE L'ICSI

affine l'analyse des complications selon les indications des techniques, afin de déterminer, peut-être, des sous-groupes plus à risques pour la santé des enfants. Cet impératif permettrait de fournir aux couples stériles, futurs parents, les probabilités exactes de pouvoir élever 1 (ou 2) enfants en bonne santé. Ces suivis doivent s'effectuer dans le respect de l'intimité familiale.

Il faut, à l'heure actuelle, retenir le fort pourcentage d'enfants qui vont bien, élevés dans des familles motivées, bien que souvent marquées par un long passé d'attente et d'échecs.

Bibliographie

1. Aboulghar MA, Mansour RT, Serour I, Amin Y. A prospective study of 206 babies born after Intracytoplasmic injection (ICSI), Fertil Steril, 1999, 72, Suppl. 1: S7.
2. Aytoz A, Camus M, Tournaye H, Bonduelle M, Van Steirteghem A, Devroey P. Outcome of pregnancies after Intracytoplasmic sperm injection and the effect of sperm origin and quality on this outcome, Fertil Steril, 1998, 70: 500-505.
3. Bergh T, Ericson A, Hillensjö T, Nygren KG, Wennerholm UB. Deliveries and children born after in-vitro fertilization in Sweden 1982-95: a retrospective cohort study Lancet, 1999, 354: 1579-1585.
4. Bernasko J, Lynch L, Lapinski R, Berkowitz RL. Twin pregnancies conceived by assisted reproductive techniques: maternal and neonatal outcomes. Obstet Gynecol, 1997, 89: 368-72.
5. Bonduelle M, Legein J, Buysse A. et al Comparative follow-up study of 423 children born after intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod, 1996, 11: 1558-1564.
6. Bonduelle M, Willikens A, Buysse A, Van Assche E, Devroey P, Van Steirteghem AC, Liebaers I. A follow-up study of children born after intracytoplasmic sperm injection (ICSI) with epididymal and testicular spermatozoa and after replacement of cryopreserved embryos obtained after ICSI. Hum Reprod, 1998, 13, suppl.1: 196-207.
7. Bonduelle M, Heurckmans N, De Ketelaere V, Derde M. P, Liebaers I, Van Steirteghem A. Development outcome of children born after ICSI compared to children born after IVF at 2 years old. Hum Reprod, 2000, 15, Abstract book, 63.
8. Brandes J. M, Scher A, Itzkovits J, Thaler L, Sarid M, Ghersoni Baruch R. Growth and development of children conceived by IVF. Pediatrics 1992, 90, 424-429.
9. Cereddlad M, Friberg B, Ploman F, Sjöberg NO, Sternqvist K, Zackrisson E. Intelligence and behavior in children born after in vitro fertilization treatment. Hum Reprod, 1996, 11, 2052-2057.
10. De Mouzon J, Lancaster P. World collaborative. Report on in vitro fertilization, preliminary data for 1995. J Assist Reprod Genet 1997; 14S: 251-65.
11. Dhont M, De Sutter P, Ruysinck G, Martens G, Bekaert A. Perinatal outcome of pregnancies after assisted reproduction, A case-control study. Am J Obstet Gynecol, 181: 688-695.
12. Edwards RG, Steptoe PC. Birth after the reimplantation of a human embryo. Lancet 1978, 2: 366.
13. Epelboin S, Bulwa S, de Mouzon J, Francoual C. Assessment of post-IVF pregnancy and subsequent child development. Contracept Fertil Steril, 1995, 23, special N° 1-suppl.9: S 75.

14. Epelboin S, Coffineau A, Lucas H, De Medeiros N, Bulwa S, Poirat C, Quantin P, Abirached F, Douard S, Izard V, Thiounn N, Wolf JP, Jouannet P, Zorn JR, Francoual C. Exhaustive assessment of 150 post-ICSI pregnancies and subsequent children's development (1994-1996), *Hum Reprod*, 1998, Abstract book, 13: 191-92.
15. Fivnat présenté par Bachelot A, Rossin-Amar B, Logerot-Lebrun H, de Mouzon J. Bilan général. *Contracept Fertil Sex*, 1996, 24: 694-699.
16. Friedler S, Mashiach S, Laufer N. (1992): Births in Israel resulting from in-vitro fertilization/embryo transfer, 1982-1989: National Registry of the Israeli Association for Fertility Research. *Hum Reprod*, 7, 1159-63.
17. Gonzales J. Histoire naturelle de la contraception. Eds Bordas, Paris, 1996.
18. Govaerts I, Englert Y, Vamos E, Rodesch F. Sex chromosomal abnormalities after intracytoplasmic sperm injection. *Lancet*, 1995, 346: 1096.
19. In't Veld PA., Halley DJJ, Van Hemel JO, Niermeijer MF., Dohle G, Weber RFA. (1997). Genetic counselling before intracytoplasmic sperm injection. *Lancet*, 350, 490.
20. Kobayashi K, Mizuno K, Hida A, et al. PCR analysis of the Y chromosome long arm in azospermics patients: evidence for a second locus required for spermatogenesis. *Hum Mol Genet*, 1994, 3, 1965-1967.
21. Kurinczuk JJ, Bower C. Birth defects in infants conceived by intracytoplasmic sperm injection: an alternative interpretation. *BMJ*, 1997, 315: 1260-1265.
22. Lancaster P, Shafir E, Hurst T, Huang J. (1997). Assisted conception. Australia and New Zealand, 1994 and 1995. Sydney: AIHW National Perinatal Statistics Unit.
23. Liebaers I, Bonduelle M, Van Assche E, Devroey P, Van Steirteghem A. Sex chromosomal abnormalities after intracytoplasmic injection. *Lancet*, 1995, 346: 1095.
24. Liebaers I, Bonduelle M, Legein J, Wilkens E, Van Assche E, Buysse A, et al. Follow-up of children born after intracytoplasmic injection. In: Hedon B, Bringer J. Mares P. eds. *Fertil. Steril: a current overview*. New York: (Parthenon), 1995.
25. Medical Research International, Society for Assisted Reproductive technology (SART), The American Fertility Society: In vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET) in the United States: 1990 results from the IVF-ET Registry. *Fertil Steril*, 1992, 57: 15-24.
26. Morin N, Wirth F, Johnson DH, Franck LM, Presburg H, Van de Water et al. Congenital malformations and psychological development in children conceived by IVF. *J Pediat*, 1989, 115: 222-227.
27. MRC Working Party on Children Conceived by in vitro Fertilization: Births in Great Britain resulting from assisted conception, 1978-87. *B.M.J.*, 1990, 300: 1229-1233.
28. Mushin DN, Spensley J, Barreda Hanson M. Children of IVF 1985. *J Clin Obst* 1985.
29. National Perinatal Statistics Unit and Fertility Society of Australia: IVF and GIFT pregnancies Australia and New Zealand 1988, National perinatal statistics, unit Eds, Sydney 1990, ISSN 1030-4711, 65p.
30. Olivennes F, Kerbrat V, Rufat P, Blanchet V, Franchin R, Frydman R. Follow-up of a cohort of 422 children aged 6 to 13 years conceived by in vitro fertilization.. *Fertility and Sterility*, 1997, 67, 2: 284-289.
31. Palermo G, Colombero LT, Schattman GL, Davis OK, Rosenwaks Z. Evolution of pregnancies and initial follow-up of newborns delivered after intracytoplasmic sperm injection. *JAMA*, 1996, 276, 23: 1893-1897.
32. Patrat C, Wolf JP, Epelboin S, Hugues JN, Olivennes F, Granet P, Zorn JR, Jouannet P. Pregnancies, growth and development of children conceived by subzonal injection of spermatozoa. *Hum Reprod*, 1999, 14, 9.: 2004-2010.
33. Raoul-Duval A, Bertrand-Servais M, Letur-Konirsch H, Frydman R. Psychological follow-up of children born after in vitro fertilization. *Hum Reprod*, 1994, 9: 1097-1101.
34. Ron EPR, Lahat E, Golan A, Lerman M, Bukowski I, Herman A. Development of children born after superovulation induced by long acting GnRH agonist and menotropins and by IVF. *J Pediat*, 1994, 125: 734-737.
35. Rufat P, Olivennes F, de Mouzon J, Dehan M, Frydman R. and collaborative group. Task force report Outcome of pregnancies and children conceived by in vitro fertilization (France: 1987).
36. Rumeau-Rouquette C, du Mazaubrun

LES ENFANTS DE LA FIV ET DE L'ICSI

- C, Rabarison Y. Naître en France; 10 ans d'évolution 1972-1981. Editions INSERM, Doin ED, 216 pp, 1984.
37. Saunders DM, Spensley J, Munro J, Halasz G. Growth and physical outcome of children conceived by in vitro fertilization. *Pediatrics* 1996, 97: 688-692.
38. Singh L, Senn, De Grandi P, Germond M. Follow-up of 100 children, aged 1 and 2 years, born after Intracytoplasmic injection, *Hum Reprod*, 1999, 14: Abstract book, 58.
39. Sutcliffe A. G, Souza S.W.D, Cadman J, Richards B, McKinley I. A, Lieberman B. Minor congenital anomalies, major congenital malformations and development in children conceived from cryopreserved embryos. *Hum Reprod*, 1995, 10, 12: 3332-3337.
40. Sutcliffe AG, Taylor B, Li J, Thornton S, Grudzinskas JG, Lieberman BA. United Kingdom study of children born after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*, 1999, 14, Abstract book, 10.
41. Van Steirteghem. A. Outcome of Assisted Reproductive Technology. *N Engl JMed*, 1998, 338: 194-95.
42. Wada I, Macnamee M. C, Wick K. et al. Birth characteristic and perinatal outcome of babies conceived from cryopreserved embryos. *Hum Reprod*, 1994, 9: 543-546.
43. Wennerholm UB, Bergh C, Hamberger L, Nilsson L, Reisner E, Wernnergren M, Wikland M. Obstetric and perinatal outcome of pregnancies following intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*, 1996, 11, 5: 1113-1119.
44. Wisanto A. et al. Obstetric outcome of 904 pregnancies after ICSI. *Hum Reprod*, 1996, 11: 121-129.
45. Yovich JL, Parry TS, French NP, Granaugh AA. Development assessment of 20 IVF infants at their first birthday. *J of In Vitro Fert Embryo Transfer* 1986, 4: 253-257.