

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة البليدة 1

Université Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie des Populations et des Organismes



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master

Option : Biologie et Physiologie de la Reproduction

Thème

**Etude comparative du choix des embryons à différents stades évolutifs
lors d'un transfert embryonnaire chez la femme**

Soutenu le 29 /09 /2020

Présenté par : M^{lle} BOUZID Assia Doudja

M^{lle} MOUMENE Rania

Devant le Jury :

Mme. BENAZOUZ F.	MAA	U. Blida 1	Présidente
Mme. BENMANSOUR N.	MCB	U. Blida 1	Examinateur
Mr. BESSAAD M.A.	MCA	U. Blida 1	Promoteur

A madame la présidente du jury BENAZOUZ F.

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury. Nous tenons à vous remercier pour tout l'enseignement que vous nous avez dispensé avec toute la gentillesse et la bienveillance dont vous faite preuve au quotidien.

Hommages respectueux

A monsieur le promoteur BESSAAD M.A.

Nous tenons à vous remercier du grand honneur que vous nous avez fait en acceptant la direction et l'encadrement de ce travail.

Nous avons toujours trouvé près de vous un accueil chaleureux. Votre largeur d'esprit et la clarté de votre enseignement ont toujours impressionné tous ceux qui avaient le privilège de participer à vos cours.

Veillez trouver ici l'expression de notre sincère reconnaissance et nos vifs remerciements.

A madame BENMANSOUR N.

On vous remercie d'avoir accepté d'examiner notre travail et de participer au jury de ce mémoire.

Veillez trouver ici l'expression de notre profond respect.

A monsieur LARBI DOUKARA K.

Qui s'est battu pour nous et sans qui cela n'aurait pu être possible.

Sincères remerciements.

A tous nos maitres du département de biologie et physiologie de la reproduction et de l'institut des sciences vétérinaires.

Université de Blida 1

JE DEDIE CE MEMOIRE,

A MES PARENTS,

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

A MES CHERS ET ADORABLE FRERES,

En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.

A MON FIANCE,

Je te remercie pour tes encouragements, ton soutien et ton aide. Que dieu me garde pour toi :p <3

A TOUTE MA FAMILLE, AMIS ET COLLEGUES DE LA 1° BPFM-Alger port,

En témoignage de ma tendresse.

Assia 

Résumé

Depuis les débuts de la fécondation in vitro, les biologistes se sont principalement basés sur les critères morphologiques des ovocytes, des zygotes et des embryons à J2/J3 ou à J5/J6 dans le choix des embryons à transférer, cependant les avis divergent et les scientifiques restent partagés quant à faire un transfert au stade clivé (à J2 et à J3) ou au stade blastocyste (à J5 ou J6). Ainsi, il nous a paru intéressant de faire une étude dont l'objectif serait de démontrer l'existence d'une corrélation entre les scores du zygote et le développement embryonnaire jusqu'au stade blastocyste avec le taux de réussite.

Au départ, nous devions réaliser une étude de cas au niveau de la clinique de PMA Audin, mais vu la situation pandémique actuelle nous avons été contraint de nous rabattre sur une étude rétrospective comparative de plusieurs résultats d'études (10 articles) autour de notre thème.

La majeure partie des travaux penchent en faveur d'un transfert à J5 par rapport à J3, du fait qu'il présente un meilleur taux de transfert, d'implantation, de grossesse, de naissance vivante et un plus faible taux de grossesse gémellaire et les risques de morbi-mortalité fœtomaternels associés.

Le transfert au stade blastocyste permettrait donc de meilleurs taux de réussite comparé au stade clivé, mais les politiques de transfert restent très variables selon les centres d'AMP.

Summary

Since the beginnings of in vitro fertilization, biologists have mainly focused their works on the morphological criteria of oocytes, zygotes and embryos at D2/D3 or at D5/D6 in order to choose the embryos for transfer, however opinions differ and scientists remain divided as to whether to make a transfer at the cleaved stage (at D2 and D3) or at the blastocyst stage (at D5 or D6). Thus, it seemed interesting to us to carry out a study whose objective would be to demonstrate the existence of a correlation between zygote scores and embryonic development to blastocyst stage with the success rate.

Initially, we had to carry out a case study at the clinic of assisted medical procreation “Audin”, but given current pandemic situation we were forced to fall back on a comparative retrospective study of several study results (10 articles) around our theme.

Most of the work leans in favor of a transfer to D5 over D3, because it has a better rate of transfer, implantation, pregnancy, live births and a lower rate of twin pregnancy and the associated risk of foeto-maternal morbidity and mortality.

The transfer at the blastocyst stage would therefore allow better success rates compared to the cleaved stage, but transfer policies remain very variable depending on the center of AMP.

ملخص

منذ بدايات الإخصاب في المختبر، ركز علماء الأحياء بشكل أساسي على المعايير المورفولوجية للبيضات، البويضات الملقحة و كذا الأجنة (في اليوم الثاني/ الثالث) أو (في اليوم الخامس/ السادس) بغرض اختيار الأجنة الملائمة لنقلها، لكن اختلفت آراء العلماء حول ما إذا كان يجب إجراء النقل عند مرحلة الانقسام أو عند مرحلة الكيسة الأريمية (**blastocyste**) وبالتالي، بدا لنا أنه من المثير للاهتمام إجراء دراسة يكون هدفها إثبات وجود علاقة بين درجات البويضات الملقحة (**zygote**) و تطور الجنين إلى مرحلة الكيسة الأريمية مع نسبة النجاح.

في البداية، كان علينا إجراء دراسة حالة على مستوى عيادة المساعدة على الإنجاب "**Audin**" ولكن بالنظر إلى الوضع الوبائي الحالي، اضطررنا إلى الرجوع إلى دراسة مرجعية مقارنة للعديد من نتائج الدراسات (10 مقالات علمية) تدور حول موضوعنا.

تميل معظم الأعمال لصالح النقل الجيني في اليوم الخامس عوض اليوم الثالث، لأنه يتمتع بمعدل نقل أفضل، زرع، حمل، ولادة ناجحة (أي مولود حي) و معدل منخفض في حمل توأم مع ارتباطها بخطر الاعتلال والوفاة الجنين و الأم.

و عليه، فإن النقل الجيني خلال مرحلة الكيسة الأريمية يؤدي إلى تحقيق معدلات نجاح أفضل مقارنة بمرحلة الانقسام، لكن سياسات التحويل تظل متغيرة للغاية و هذا حسب مراكز المساعدة على الإنجاب.

SOMMAIRE

Introduction.....	1
I. Généralités.....	3
1. Quelques rappels physiologiques.....	4
1.1 Les tissus endocriniens et leurs sécrétions.....	4
1.2 Contrôle de l'ovogenèse et la folliculogenèse.....	5
2. Problèmes de reproduction chez les couples.....	7
2.1 Problèmes liés à la fécondation.....	7
2.2 Les défauts d'implantation.....	7
3. Procréation médicalement assistée.....	8
3.1 La stimulation ovarienne.....	9
3.2 Le prélèvement des gamètes.....	10
3.3 La fécondation.....	11
3.4 Observation embryonnaire.....	14
3.5 Transfert embryonnaire et issue de grossesse.....	16
II. Matériels et Méthodes.....	19
1. Critères d'inclusion.....	20
2. Stimulation ovarienne.....	20
3. La surveillance du protocole de traitement "monitorage".....	20
4. Déclenchement de l'ovulation.....	20
5. Ponction folliculaire.....	21
6. Traitement des ovocytes.....	21
7. Recueil de sperme.....	21
8. Traitement du sperme.....	21
9. Fécondation in vitro.....	21
10. Culture embryonnaire.....	22
10.1 Observation de la fécondation.....	22
10.2 Observation embryonnaire.....	22
10.3 Clivage précoce J1.....	22
10.4 Observation embryonnaire a J2 et J3.....	23
10.5 Observation embryonnaire au 5 ^{ème} jour (J5).....	25
11. Transfert embryonnaire et issue de grossesse.....	26
III. Résultats et discussion.....	33
1. Résultats.....	34
2. Discussion.....	39
IV. Conclusion.....	42

Liste Des Abréviations

CCO	Complexe Cumulo-Ovocytaire
FIV	Fécondation In Vitro
FSH	Follicle Stimulating Hormone
GnRH	Gonadotrophine Releasing Hormone
GP	Globules Polaires
βhCG	human Chorionic Gonadotropin
ICSI	Intra Cytoplasmic Sperm Injection
J2, J3, J5, J6	2 ^{ème} , 3 ^{ème} , 5 ^{ème} , 6 ^{ème} Jour de développement embryonnaire
LH	Luteinizing Hormone
MIV	Maturation In Vitro
PMA	Procréation médicalement assistée
PN	ProNucléi
PVP	Poly vinyl pyrrolidone.
TEJ3	Transfert d'embryon à J3
TEJ5	Transfert d'embryon à J5
TG	Transfert de grossesse
TUB	Transfert unique de blastocyste
TUE	Transfert unique d'embryon

Liste des tableaux

	Titre du tableau	Page
Tableau 1	Classification des embryons selon leurs critères morphologiques au stade clivé (J2/J3)	23
Tableau 2	Classification des embryons selon leurs critères morphologiques au stade de blastocyste (J5)	25
Tableau 3	Récapitulatif des résultats de tous les Articles étudiés	34
Tableau 4	Comparaison des taux de fausse couche/avortement des articles 01, 02, 05, 08	35
Tableau 5	Comparaison des taux de grossesse gémellaire des articles 01, 06, 08	35
Tableau 6	Comparaison des taux de naissance vivante des articles 06 et 07	36
Tableau 7	Comparaison des taux de grossesse des articles 01, 02, 04, 05, 06, 08, 10	36
Tableau 8	Comparaison des taux d'implantation des articles 01, 02, 04, 06, 07, 08	37

Liste des figures

	Titre des figures	Page
Figure 1	Schéma illustrant le contrôle endocrinien et cycle sexuel (c. menstruel, c. ovarien, c. utérin).	6
Figure 2	Illustration d'une ponction échoguidée ovarienne, prélèvement des ovocytes pour une FIV	10
Figure 3	Image illustrant la différence entre une FIV conventionnelle et une ICSI	12
Figure 4	Injection d'un spermatozoïde dans l'ovocyte sous contrôle d'un microscope	12
Figure 5	Micrographie d'une culture embryonnaire a J1 avec présence de 2 PN	13
Figure 6	Micrographies des 5 premiers jours de développement de l'embryon au laboratoire observés sous microscope X40	13
Figure 7	Micrographies illustrant les étapes de développement cellulaire de J0 à J5 après ICSI.	16
Figure 8	Illustration d'un transfert réalisé par le gynécologue sous contrôle échographique, en introduisant un cathéter dans l'utérus en passant par le col cervical.	16
Figure 9	Micrographie X40 d'un ovocyte fécondé observé 20 heures après insémination (Stade zygote)	22
Figure 10	Micrographie illustrant l'observation faite à la 27ème heure après insémination	23
Figure 11	Micrographie de typage d'embryons selon leur morphologie observée à J2.	24
Figure 12	Schéma illustrant l'évolution d'un blastocyste	26
Figure 13	Micrographies du typage d'embryons selon leurs critères morphologiques	26
Figure 14	Graphique illustrant le pourcentage d'articles ayant le même taux de fausse couche/avortement à J3 et à J5	35
Figure 15	Graphique illustrant le pourcentage d'articles ayant le même taux de grossesse gémellaire à J3 et à J5.	35
Figure 16	Graphique illustrant le pourcentage d'articles ayant le même taux de naissance vivante à J3 et à J5.	36
Figure 17	Graphique illustrant le pourcentage d'articles ayant le même taux de grossesse à J3 et à J5.	36
Figure 18	Graphique illustrant le pourcentage d'articles ayant le même taux d'implantation à J3 et à J5	37
Figure 19	Graphique illustrant la moyenne des taux de grossesse et d'implantation obtenus de l'ensemble des articles par jour de transfert (J3 et J5)	38

Introduction

Le transfert embryonnaire consiste à transplanter l'ovocyte fécondé in vitro une fois que l'embryon commence à se développer, dans l'utérus de la future maman.

Le transfert peut alors se faire soit le 2^{ème} / 3^{ème} jour après ponction (stade clivé) soit le 5^{ème} / 6^{ème} jour (stade blastocyste).

Cependant les avis divergent quant au protocole de transfert à appliquer (transfert au stade clivé ou au stade blastocyste). C'est probablement l'étape la plus importante et, vu la sensibilité de ce geste ultime, ce dernier doit intégrer la parfaite connaissance des données disponibles. Ainsi, il nous a paru intéressant de faire une étude dont l'objectif serait de comparer différents paramètres pour définir la meilleure stratégie de transfert et ce dans le but d'optimiser les résultats de la tentative.

Pour réaliser notre objectif, il a été convenu de faire une étude de cas au niveau de la clinique de PMA Audin. Mais, étant donné les circonstances avec l'apparition de la pandémie du covid19, nous nous sommes retrouvés dans l'impossibilité de le réaliser et c'est ainsi que nous avons été contraints d'opter pour un travail d'analyse d'articles. Dans lequel nous avons compilé les résultats de 10 articles autour de notre thème en comparant différents paramètres en fonction d'un transfert à J3 ou à J5 tel que : Taux de grossesse, taux d'implantation, taux de grossesse gémellaire, taux de fausse couche/avortement, taux de transfert et taux de naissance vivante.

I. Généralités

1) Quelques rappels physiologiques :

Comme la spermatogenèse, l'ovogenèse est sous un contrôle endocrinien dont le système essentiel est constitué par le complexe hypothalamo-hypophysaire. Cependant les diverses catégories cellulaires gonadiques, qu'elles soient somatiques ou germinales, entretiennent entre elles de nombreuses interactions qui modulent également le déroulement de la gamétogenèse (*Foucrier et al. 2010*). (Voir annexe 1).

1)-1. Les tissus endocriniens et leurs sécrétions :

- **Le complexe hypothalamo-hypophysaire :**

Le centre hypothalamique reçoit et intègre un ensemble d'informations qui sont acheminées par la voie nerveuse et par la voie sanguine. C'est par cette dernière voie que lui parviennent les informations concernant les taux sanguins d'hormones circulantes qui régulent leur fonctionnement, par des phénomènes de rétrocontrôle ou feedback en produisant de manière cyclique la GnRH *Gonadotrophine Releasing Hormone*, qui stimule l'antéhypophyse, cette dernière, produit, suite à cette stimulation des gonadostimulines : FSH *folliculo-stimulating hormone* et LH *luteinizing hormone*.

- **Tissus gonadiques :**

La fonction hormonale gonadique se traduit essentiellement par la sécrétion d'hormones stéroïdes, mais également par celle de protéines intervenant dans des boucles de régulation.

- **Hormones stéroïdes :**

Trois types d'hormones sont secrétées par les ovaires :

Les œstrogènes : produits par les follicules ovariens et qui regroupent oestradiol, œstrone et œstradiol

Les androgènes : Comme la testostérone, ils constituent des intermédiaires dans le métabolisme des stéroïdes aboutissant à la production d'hormones femelles.

La progestérone : Produite par les cellules du corps jaune et dont la production est maintenue lors d'une gestation.

Protéines régulatrices : De nombreuses protéines sont secrétées par les tissus somatiques de l'ovaire et complètent le contrôle de l'ovogénèse. Parmi celles-ci on citera l'activine et l'inhibine, facteurs protéiques rattachés à la super famille des TGF beta, secrétés par les cellules folliculaires de la granulosa. (*Foucrier et al. 2010*)

1)-2. Contrôle de l'ovogénèse et la folliculogénèse :

La maturation des gamètes se réalisent de manière cyclique chez les individus femelles la rythmicité du phénomène varie selon les espèces et se manifeste soit de façon saisonnière soit durant toute l'année. Chez la femme le cycle d'environ 28 jours débute avec la puberté et s'achève avec la ménopause. Par ailleurs des arrêts peuvent observer de façon momentanée lors de la grossesse et de la lactation. Selon les cas le cycle est désigné soit sous le terme de cycle menstruel en se référant au laps de temps séparant 2 menstruations ou règles successifs soit sous celui de cycle œstrien en prenant en compte la durée séparant deux pontes ovulaires ou œstrus. Cette dénomination est généralement réservée aux espèces animales chez lequel l'œstrus correspond à la période fécondabilité qui s'accompagne du rut, c'est-à-dire de l'acceptation du mâle (*Foucrier et al. 2010*).

Deux phases caractérisent ce cycle, séparées par la période de l'ovulation, elles sont sous la dépendance d'une régulation hormonale où interviennent de façon directe les hormones hypophysaires :

Une phase pré-ovulatoire, correspondant à un temps de préparation de la ponte ovulaire, désignée sous le terme de phase folliculeuses ou phase oestrogénique.

Une phase post ovulatoire succédant à la ponte ovulatoire qui prépare à une possible gestation, dénommée phase lutéale où phase progestative.

a) Phase folliculeuse : durant laquelle, on observe :

Une évolution de follicules aboutissant à la formation d'un follicule mature, le follicule de De Graaf, ainsi des modifications physiologiques du tractus génital (contractions musculaires au niveau des trompes, sécrétion glandulaire du col de l'utérus, épaissement de la muqueuse vaginale).

Le premier jour des règles marque le début d'un nouveau cycle et à cette période, le taux d'hormones stéroïdes circulant est faible. L'hypothalamus réagit, par rétro contrôle positif, en libérant la GnRH, ce qui déclenche la production des gonadostimulines.

- b) **Phase ovulatoire** : à la fin de la 2e semaine de la phase folliculaire hausse, les œstrogènes circulants atteignent un maximum, provoquant un rétrocontrôle positif au niveau de l'axe hypothalamo-hypophysaire. Par conséquent une décharge rapide de LH se produit au 14e jour et un degré moindre de FSH. Le follicule dominant devenant follicule de De Graaf, fait saillie à la surface de l'ovaire et 36h après la décharge ovulante, s'effectue chez la femme la **ponte ovulaire**.
- c) **Phase lutéale** : durant cette période se réalise la préparation de la muqueuse utérine. Pour une nidation éventuelle du blastocyste. Elle est due à la progestérone produite par le corps jaune qui a été formé initialement sous la dépendance de LH.

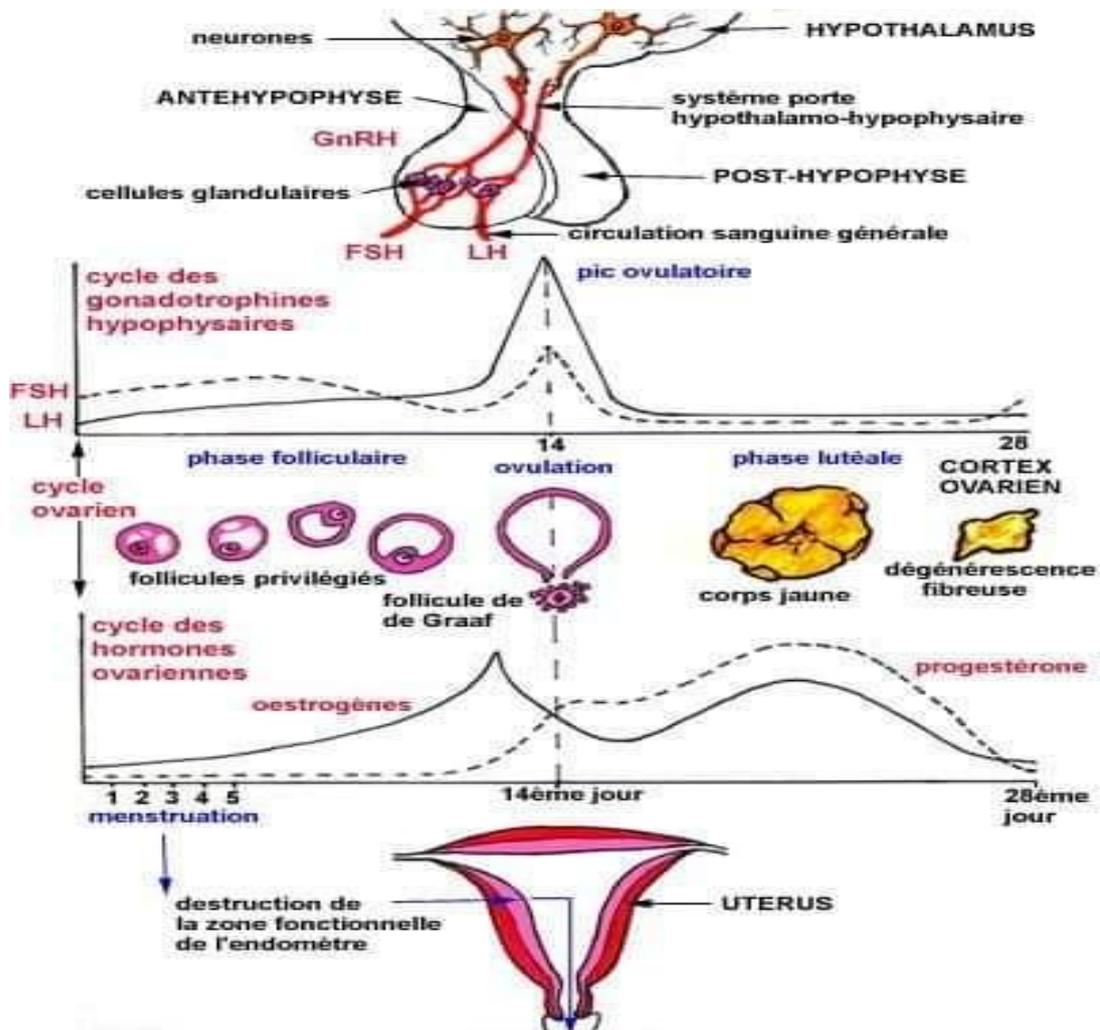


Figure 1 : Schéma illustrant le contrôle endocrinien et cycle sexuel (c. menstruel, c. ovarien, c. utérin).

2) Problèmes de reproduction chez les couples :

2)-1. Problèmes liés à la fécondation :

La fécondation normale impose la contribution d'une cellule germinale d'origine mâle et une d'origine femelle totalement différenciée, le spermatozoïde, et l'ovule.

Toute anomalie ou altération d'un de ces gamètes ou les deux à la fois aura comme conséquence un problème de stérilité ou infécondité (*Foucrier et al. 2010*).

Parmi ces anomalies on citera brièvement :

- Anomalie dans la production des gamètes mâles (anomalies quantitatives ex : azoospermie cryptozoospermie, anomalies qualitatives ex : asthenospermie, leucospermie)
- Anomalie dans la production des gamètes féminins. (Aménorrhée primaire et secondaire)
- Anomalie affectant le transit et la rencontre des gamètes (absence de survie des spermatozoïdes, incompatibilité immunologique ; présence des anticorps anti-spermatozoïdes).
- Anomalie lors de la fusion gamétique (polyspermie, parthénogenèse ...).

2)-2. Les défauts d'implantation :

L'implantation est un processus complexe au cours duquel se succèdent les phases d'apposition, d'adhérence, puis l'envahissement de l'endomètre maternel par le blastocyste. Toute anomalie au niveau de la muqueuse maternelle ou de l'embryon peut engendrer des défauts d'implantation.

Dans cette partie on parlera des anomalies qui engendrent une absence d'implantation, ces anomalies sont généralement détectées par hystérocopie, les fibromes par exemple sont capables de déformer la cavité utérine comme ils peuvent se former à l'intérieur, et ça va de même pour les polypes et les synéchies qui nécessitent parfois une ablation.

On note aussi que l'endomètre offre une réceptivité d'une période limitée, appelée **fenêtre implantatoire**, la réceptivité de l'endomètre résulte de l'acquisition de ligands ou de récepteurs facilitant l'apposition embryonnaire. Toutefois, il n'existe pas de définition moléculaire précise de cette fenêtre de réceptivité.

De nombreux acteurs moléculaires susceptibles d'intervenir dans la réceptivité endométriale et l'implantation ont été proposés par les études *in vitro* et pour certains, les techniques d'inactivation géniques ont permis de confirmer le rôle *in vivo* chez la souris. Leur action dans l'espèce humaine reste le plus souvent à préciser. Un dépôt de l'implantation entraîne une infertilité par fausses couches spontanées précoces. Indépendamment de toute perturbation de la fécondation et des premiers jours du développement embryonnaire. L'implantation défectueuse peut donc résulter d'une qualité ovocytaire, où embryonnaire, médiocre, d'une mauvaise réceptivité endométriale, d'un dysfonctionnement hormonal immunologique ou angiogénique, il faut savoir aussi que la fenêtre implantatoire peut être altérée par la stimulation de l'ovulation (*Foucrier et al. 2010*).

3) Procréation médicalement assistée :

La prise en charge des couples infertiles par la procréation médicalement assistée est un domaine en pleine expansion. Les besoins de la population ne cessent d'augmenter du fait de l'amélioration de l'accès aux soins et au déclin de la fertilité chez les couples.

D'autre part l'évolution des connaissances et des techniques est très rapide, ainsi il existe aujourd'hui des techniques adaptées à un grand nombre de situation : adaptation des protocoles de stimulation, FIV fécondation *in vitro* « classique » ou ICSI *intracytoplasmic sperm injection*, IMSI *intracytoplasmic morphologically selected sperm injection*.

Le principe de la FIV peut en théorie paraître simple puisqu'il consiste à recréer en laboratoire, dans "un tube" (l'expression latine *in vitro* signifiant "dans le verre") ce qui se passe normalement au moment de la fécondation dans les trompes de la femme (*in vivo*).

La fécondation *in vitro* comporte résumer en 4 grandes étapes :

- 1-la stimulation ovarienne.
- 2-le recueil des cellules sexuelles mâles et femelles (les gamètes).
- 3-la fécondation (soit par technique conventionnelle, soit par ICSI).
- 4-le transfert des embryons dans l'utérus.

A noter : en dehors de l'étape de fécondation, qui varie selon qu'il s'agit d'une FIV conventionnelle ou d'une ICSI, les autres étapes sont identiques pour les deux techniques.

3)-1-La stimulation ovarienne

Dans la fécondation in vitro (FIV), le but de l'utilisation des agonistes ou antagonistes de la GnRH est d'optimiser le contrôle de l'organisation des prélèvements ovocytaires.

Le choix d'un protocole de stimulation tient aussi compte des caractéristiques ovulatoires cliniques, biologiques et échographiques de la candidate à une FIV, ainsi que des éventuelles mesures de stimulation déjà entreprises.

L'âge apparaît comme le facteur prédictif majeur de la réponse ovocytaire à la stimulation, l'échographie au troisième jour étant un élément prédictif du succès de la collecte ovocytaire.

La connaissance de paramètres hormonaux au troisième jour du cycle (FSH, œstradiol, inhibine B, hormone anti-Mullérienne) permet d'affiner les choix thérapeutiques. L'ensemble de ces éléments permet de définir différentes catégories de patientes en terme de réponse à la stimulation hormonale.

Les agonistes induisent une extinction de la sécrétion hypophysaire qui inhibe le pic de LH préovulatoire et bloquent l'ovulation naturelle. Néanmoins, il existe un effet stimulant initial (*flare up*), transitoire de quelques jours et un risque de désensitivation ovarienne prolongée, responsables d'effets secondaires.

Les antagonistes, administrés juste avant la phase ovulatoire présumée, provoquent une décroissance rapide de la LH tout en évitant l'effet *flare up* et la longue désensitivation ovarienne.

Différentes méta-analyses comparant les deux types de traitements plaident actuellement légèrement en faveur des agonistes en terme de nombre d'ovocytes produits, mais les pourcentages d'ovocytes matures obtenus ainsi que les taux de fertilité sont comparables, quel que soit le type de traitement.

En pratique, les protocoles de stimulation utilisant les agonistes offrent une supériorité en terme d'organisation, surtout pour les équipes travaillant de façon séquentielle. Cependant, les protocoles utilisant les antagonistes pourraient avoir un intérêt particulier chez les « faibles répondeuses et restent globalement mieux tolérés (*Frydman. 2005*). (Voir annexe 5 et 6)

3)-2-Le prélèvement des gamètes

a- Le recueil des ovocytes

Lorsque plusieurs follicules d'un diamètre de 1,5 cm à 1,8 cm se sont développés à la surface des ovaires, on peut déclencher l'ovulation. Pour cela, on procède à une injection de gonadotrophines chorioniques (hCG), une hormone ayant les effets de la LH. Elle provoque l'ovulation dans un délai de 32 à 38 heures.

Le recueil des ovocytes est réalisé 36 heures après l'injection de ganadotrophine, par ponction. Le médecin dirige une aiguille au fond du vagin et traverse la paroi en direction des ovaires, guidée par une sonde d'échographie. Le contenu des follicules (ovocytes entouré de quelques cellules et le liquide folliculaire) est aspiré. Ceci se passe habituellement sous anesthésie locale.

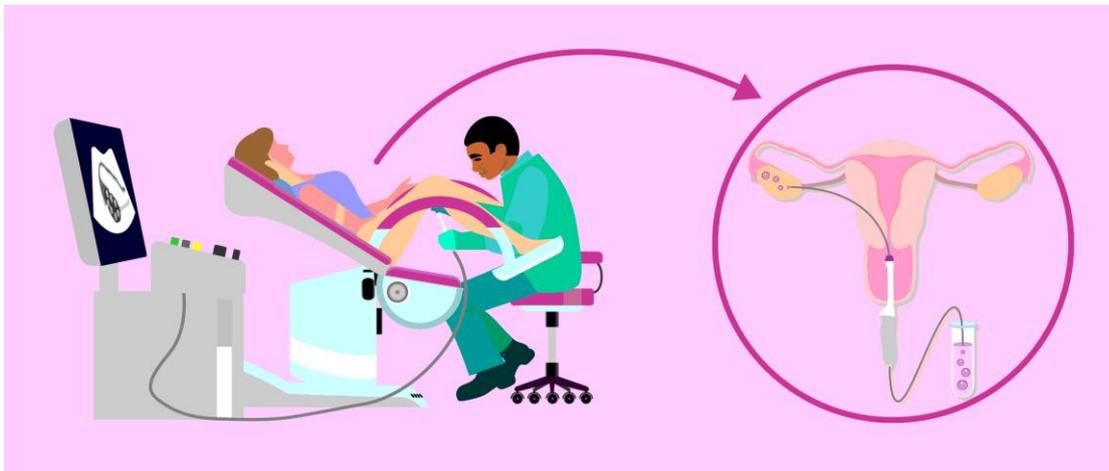


Figure 2 : Illustration d'une ponction échoguidée ovarienne, prélèvement des ovocytes pour une FIV.

Recherche et lavage des ovocytes :

Les ovocytes sont recherchés à partir des liquides folliculaires, ponctionnés par le clinicien, puis ils sont lavés avant d'être mis dans un milieu de culture.

Le plus souvent, après une stimulation ovarienne on recueille entre 5 et 10 ovocytes (car tous les follicules prélevés ne contiennent pas forcément un ovocyte). Les ovocytes matures qui présentent les caractéristiques nécessaires à la mise en fécondation in vitro sont ensuite conservés dans un incubateur à 37°C jusqu'à l'étape suivante.

b- Le recueil des spermatozoïdes

Chez l'homme, il est demandé au conjoint d'observer une abstinence de trois à 5 jours avant la FIV afin d'obtenir un sperme de bonne qualité. Le recueil des spermatozoïdes se fait habituellement le jour de la FIV par masturbation au laboratoire. Le sperme est ensuite préparé selon différentes techniques en fonction de sa qualité. Le plus souvent, on utilise un procédé qui permet de séparer les différents composants pour sélectionner les spermatozoïdes mobiles ayant le meilleur potentiel de fécondance.

Traitement et sélection des spermatozoïdes :

Il se fait par "lavage - centrifugation - lavage" ou plus généralement par centrifugation en gradient de densité. On fait ensuite migrer le culot de centrifugation qui contient les spermatozoïdes dans un milieu de culture approprié (swim up ascendant).

Les spermatozoïdes les plus vigoureux se retrouvent alors dans le liquide surnageant, ce sont ceux qui seront utilisés pour la fécondation in vitro.

Cette préparation a aussi pour but d'éliminer le liquide spermatique qui aurait un effet délétère sur la fécondation en éprouvette ainsi que les débris cellulaires et un certain nombre de germes bactériens.

Dans certains cas, les spermatozoïdes doivent être prélevés par ponction ou directement par biopsie dans les testicules, le jour même ou bien longtemps auparavant - ils sont dans ce dernier cas congelés.

3)-3-La fécondation

Par technique conventionnelle

Chaque ovocyte est alors placé au sein d'un milieu de culture dans une boîte en verre dans laquelle sont déposés quelques microlitres d'une solution contenant les spermatozoïdes les plus mobiles : entre 10 000 et 100 000 spermatozoïdes environ par ovocyte suivant la technique utilisée. C'est cette étape qui est différente dans l'ICSI (Intra Cytoplasmic Sperm Injection).

Ces boîtes sont mises dans un incubateur à 37°C et il est possible d'observer, le lendemain, le nombre d'ovocytes fécondés. Mais ce n'est que le surlendemain, soit 48 heures après la ponction folliculaire, que le nombre d'embryons obtenus peut être connu.

Par ICSI

L'ICSI (ou injection intracytoplasmique de spermatozoïdes) également appelée FIV avec micromanipulation, représente 60 % des FIV en France. Elle est indiquée dans les situations d'infertilité masculine ou après des échecs de FIV par technique conventionnelle.

Pour obtenir une fécondation par ICSI, les ovocytes doivent être préparés contrairement à la FIV conventionnelle. Lors de leur recueil par ponction, ils sont débarrassés de la couronne de cellules folliculaire qui les entoure. C'est la décoronisation. Puis, on sélectionne les ovocytes matures et qui ont un globule polaire visibles. Une fois cette étape réalisée, on sélectionne le même nombre de spermatozoïdes que d'ovocyte matures, car il faut un ovocyte pour un spermatozoïde. Puis, on injecte un spermatozoïde directement dans chaque ovocyte. Cette injection est faite sous microscope.

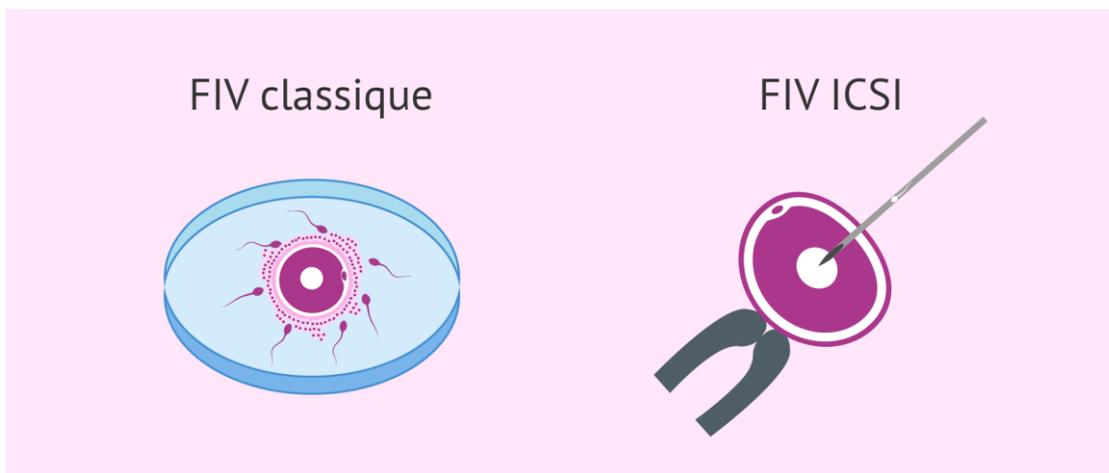


Figure 3 : Image illustrant la différence entre une FIV conventionnelle et une ICSI.



Figure 4 : Injection d'un spermatozoïde dans l'ovocyte sous contrôle d'un microscope.

Après l'injection de spermatozoïdes, les étapes suivantes de la culture embryonnaire sont :

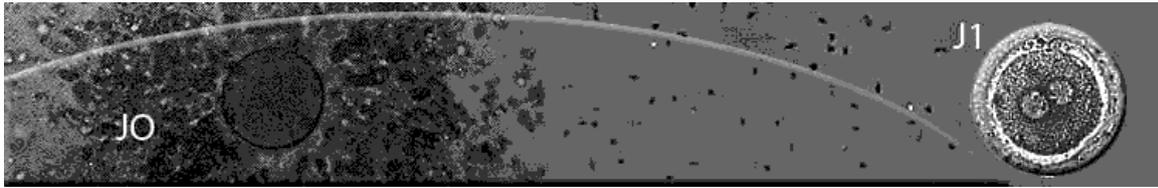


Figure 5 : Micrographie d'une Culture embryonnaire a J1 avec présence de 2 PN.

Jour "un"

20 à 24 heures après l'insémination, les ovocytes sont nettoyés et changés de milieu de culture pour continuer leur évolution dans un milieu propre. La présence de 2 pronuclei indique que le spermatozoïde est bien à l'intérieur de l'ovocyte et que le clivage en deux cellules est proche.

Jour "deux ou trois "

Après observation de la qualité des embryons, généralement composés de 4 blastomères autour de 48 heures après insémination et de 8-10 à 72 heures. Ils sont ensuite triés pour préparer le transfert embryonnaire et une éventuelle cryoconservation des embryons surnuméraires.

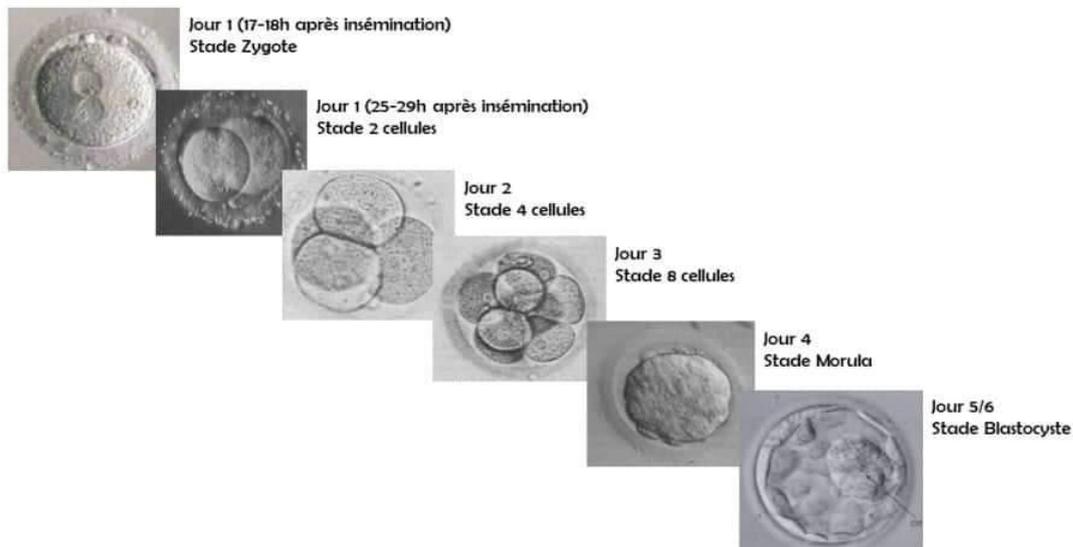


Figure 6 : Micrographies des 5 premiers jours de développement de l'embryon au laboratoire observés sous microscope x40.

Dans de nombreux cas, il peut être intéressant de prolonger la culture des embryons jusqu'au stade blastocyste. Pour cela on utilisera des milieux de culture spéciaux. Le transfert sera alors retardé de quelques jours.

3)-4. Observation embryonnaire :

Observation embryonnaire a J2 et J3 :

La morphologie embryonnaire est évaluée à J2 et J3 sous microscope inversé à l'objectif x40 en utilisant une classification basée sur :

- Le nombre de blastomères.
- La typicité du clivage.
- Le pourcentage de fragments anucléés.
- La présence ou non de blastomères multi nucléés (BMN).

Plusieurs auteurs ont décrit l'importance de certains critères dans la survenue de l'implantation. La régularité de la taille des blastomères à J2 est en relation avec une augmentation du taux de grossesse post-AMP (*Hardarson et al. 2001 ; Holte et al. 2007*).

Un clivage aboutissant à des cellules de tailles différentes entraîne une distribution différente des molécules cytoplasmiques (protéines, ARNm...), ce qui augmente l'incidence de blastomères multinucléés et d'aneuploïdie et diminue les taux d'implantation (*Hardarson et al. 2001 ; Magli et al. 2001 ; Van Royen et al. 2001 ; Scott et al. 2007*).

La proportion de fragments dans le volume intra-pellucidaire est largement utilisée pour prédire le potentiel d'implantation des embryons et est liée à l'aneuploïdie (*Ebner et al. 2001 ; Ziebe et al, 2003 ; Munne et al. 2006*). Si la fragmentation n'atteint pas 10% du volume total de l'embryon, il est convenu qu'elle n'a pas d'impact sur le potentiel de développement de l'embryon (*Van Royen et al. 2001, Holte et al. 2007*).

La multinucléation a été décrite comme étant liée à des anomalies chromosomiques de l'embryon (*Hardarson et al. 2001*). Des analyses génétiques, révélant une élévation des taux d'aneuploïdie, d'anomalies chromosomiques et de défauts dans la synthèse d'ADN, sont à l'origine d'une baisse des taux de grossesse et d'implantation après leur transfert (*Hardarson et al. 2003*).

Ces études isolées ont fini par aboutir à l'établissement d'un Consensus à l'échelle européenne (*Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology, 2011*). Les embryons sont définis comme étant « Top » ou « Non Top » selon leurs caractéristiques morphologiques.

Les embryons de grades **A**, **B** et **C+** étaient considérés comme des embryons « **Top** » à potentiel implantatoire plus élevé (*Holte et al. 2007*).

Les grades **C-** et **D** comme des embryons « **Non-Top** ».

Les embryons de grade **D** ne seront jamais transférés ni congelés, ils sont destinés à la destruction.

Observation embryonnaire au 5^{ème} jour (J5) :

La morphologie embryonnaire est évaluée à J2 et J3 sous microscope inversé à l'objectif x40 en utilisant une classification précédente, puis à J5 en utilisant les critères de la classification de Gardner (*Gardner et Schoolcraft, 1999*), adaptée aux habitudes de lecture du laboratoire, et basée sur :

- le degré d'expansion de la cavité blastocœlique,
- la morphologie du bouton embryonnaire,
- le nombre et l'aspect des cellules formant le trophoctoderme.

Ainsi sont considérés comme blastocystes « **Top** » (Grades **A**, **B**, **C+**) à J5 ; Les blastocystes présentant une cavité blastocœlique débutante (B1) ou <50% (B2) typiques, ainsi que les blastocystes dont la cavité est plus développée (>50%, [B3-B6]) associée à un bouton embryonnaire bien visible, composé de cellules compactées ou aux contours cellulaires visibles (IA ou IB) et un trophoblaste comportant des cellules en croissant formant un épithélium cohésif ou fin (TA ou TB).

Sont considérés comme « **Non Top** » (Grade **C-**, **D**) : les blastocystes présentant une cavité blastocœlique débutante (B1) ou <50% (B2) non typiques, ainsi que les blastocystes dont la cavité est plus développée (>50%, [B3-B6]) associée à un bouton embryonnaire absent et/ou un trophoctoderme sans cellule en croissant.

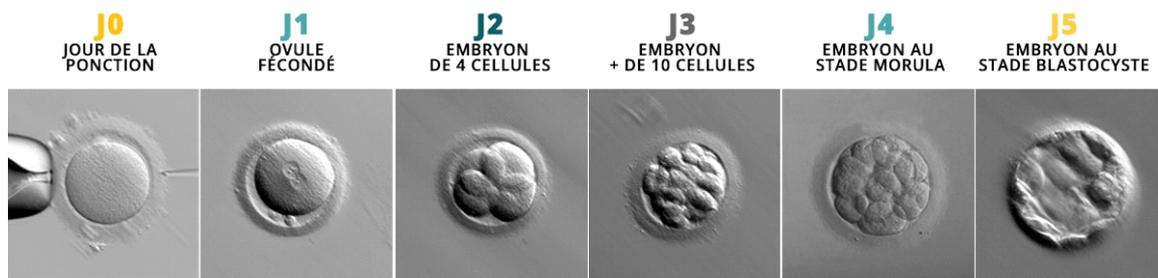


Figure 7 : Micrographies x40 illustrant les Etapes de développement cellulaire de J0 à J5 après ICSI.

3)-5. Transfert embryonnaire et issue de grossesse :

Lors d'une 1^{ère} tentative, le transfert au stade clivé (J2 ou J3) a été privilégié si le nombre d'ovocytes recueillis à la ponction est inférieur à 10. Les chances de grossesse ayant été montrées comme étant équivalentes à J2 et J3 (*Laverge et al. 2001 ; Brown Cochrane 2016 ; Lee et al. 2017*).

La culture prolongée jusqu'au 5^{ème} jour de développement a été décidée dans le cas où plus de 10 ovocytes ont été mis en fécondation, afin d'évaluer le potentiel évolutif des embryons, post-activation génomique à J3 (*Braude et al. 1988*).

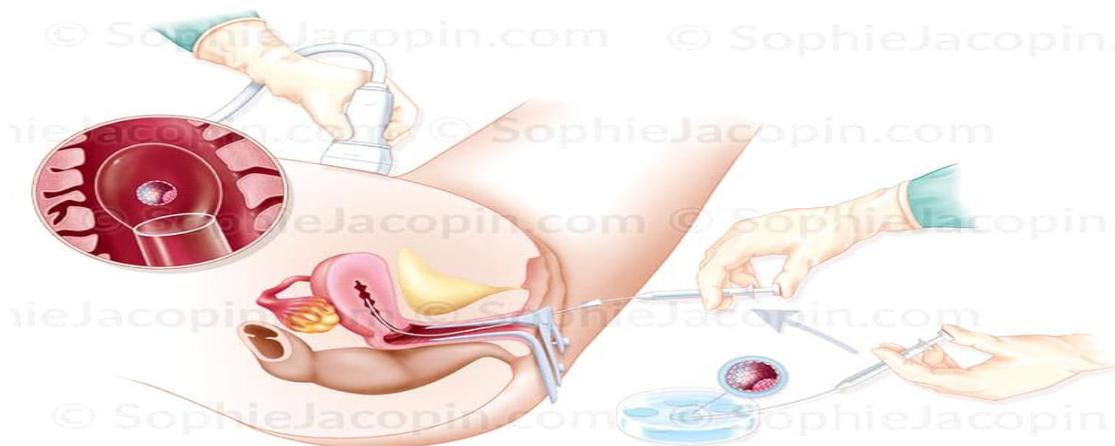


Figure 8 : Illustration d'un Transfert réalisé par le gynécologue sous contrôle échographique, en introduisant un cathéter dans l'utérus en passant par le col cervical.

1. Transfert a J2/J3 :

avantages:

- Elle permet un temps d'exposition réduit de l'embryon aux conditions de culture in vitro, diminuant ainsi les éventuels risques inutiles dus aux réactifs utilisés.
- A ce stade, le nombre d'embryons transférables est plus important (*Maheshwari et al. 2016*).
- L'arrêt de culture au stade clivé permet de congeler un plus grand nombre d'embryons et ainsi d'effectuer plus de Transferts d'Embryons Congelés (TEC) (*Pandian et al. 2013*).

Inconvénients :

- A ce stade, la stratégie adoptée est le plus souvent le transfert de 2 embryons, cela implique une augmentation du taux de grossesse gémellaire.
- Le transfert d'embryon au stade clivé n'est pas physiologique en termes de synchronicité avec la muqueuse utérine, car physiologiquement à J2/J3 l'embryon se trouve dans la trompe, ce qui pourrait diminuer les chances d'implantation.

2. Transfert a J5/J6:

avantages:

- La culture prolongée permet une sélection embryonnaire naturelle, Lorsqu'une anomalie de qualité ovocytaire est suspectée, la culture prolongée permet d'évaluer l'aptitude des zygotes à se développer après activation du génome embryonnaire à J3 (*Braude et al. 1988*)
- Elle permet le transfert d'un seul embryon et donc de diminuer les grossesses gémellaires et les complications encourus (*Gardner et al. 1998*).
- L'implantation embryonnaire serait plus efficace grâce à une meilleure synchronisation avec l'endomètre, car le blastocyste est naturellement à ce stade dans l'utérus (*Check et al. 1995 ; Valbuena et al. 2001 ; Kolibianakis et al. 2002*).

Inconvénients :

- L'environnement dans le laboratoire, tel que les milieux de culture, le pH et la température, influence la cinétique du développement, De ce fait, le risque de non-transfert pour arrêt de développement ou morphologie insuffisante est significativement plus élevé à J5 (*Sermondade et al 2012 ; Gardner et al. 2016*).
- D'après certaines études, la culture prolongée pourrait augmenter les poids de naissance (macrosomie), le déséquilibre du sex-ratio homme-femme, les taux de jumeaux monozygotes et d'accouchements prématurés (*Milki 2003 ; Chang et al. 2009 ; Wang et al. 2017*).

II. Matériels et Méthodes

Concernant la partie pratique, il a été convenu de faire une étude de cas au niveau de la clinique de PMA Audin avec Dr GUEMAR qui avait accepté de nous encadrer dans la réalisation de l'étude. Malheureusement au bout de la deuxième séance (le 25.01.2020), étant donné les circonstances avec l'apparition de la pandémie du covid19, nous nous sommes retrouvés dans l'impossibilité de réaliser l'objectif que l'on s'était fixé et c'est comme cela que nous avons été contraints d'opter pour un travail d'analyse d'articles, tout en exploitant les explications sur les aspects et les méthodes mises en œuvre pratique au niveau de la clinique.

Le protocole utilisé aurait dû se décliner selon les étapes suivantes :

1) Critères d'inclusion :

Ont été inclus dans l'étude les couples ayant bénéficié :

D'un transfert d'embryon(s) frais (TEF) issus de FIV avec ICSI, avec sperme du conjoint éjaculé frais, et âge des patientes < 43ans.

2) Stimulation ovarienne :

Le choix du protocole de stimulation ovarienne utilisé ainsi que la fréquence du monitoring a été adaptée par le gynécologue à chaque patiente en fonction de sa réserve ovarienne, son âge, tentatives antérieures. Les protocoles de stimulation utilisés sont soit un protocole long agoniste soit un protocole antagoniste.

3) La surveillance du protocole de traitement "monitorage" :

Par dosage hormonaux (œstradiol, LH, progestérone) et échographie (nombre, taille des follicules et épaisseur de l'endomètre) afin de repérer le moment adéquat au déclenchement de l'ovulation.

4) Déclenchement de l'ovulation :

Par administration de hCG dès que 4 follicules pré-ovulatoires (16-22 mm) de diamètre étaient visualisés, avec un taux d'œstradiol par follicule supérieur à 200pg/ml et une épaisseur endométriale supérieur à 6mm. Et ponction 36h après.

5) Ponction folliculaire :

Prélèvement sous anesthésie générale écho-guidé par voie transvaginale, la sonde vaginale est munie d'un guide qui permet le passage d'une aiguille de prélèvement au fond du vagin qui traverse la paroi en direction des ovaires. Une fois le liquide folliculaire aspiré dans une seringue, il est transmis au biologiste qui compte les complexe cumulo-ovocytaires.

6) Traitement des ovocytes :

Les CCO retrouvés ont été rincés et déposés dans une boîte de culture contenant un milieu ferticult préalablement gazé et chauffé à 37°C. La boîte de culture est ensuite déposée dans un incubateur à 37°C sous 5 % de CO₂, ils sont ensuite débarrassés de la couronne de cellules qui les entoure par l'action mécanique de la micropipette puis observés sous microscope, seul les ovocytes ayant repris leur maturation et qui ont un globule polaire visible pourront être micro-injectés.

7) Recueil de sperme :

Recueil du sperme du conjoint le jour de la ponction par masturbation avec abstinence au préalable de 3 à 5 jours.

8) Traitement du sperme :

Par simple lavage, qui consiste à retirer le liquide séminal et concentrer les spermatozoïdes dans un petit volume grâce à la centrifugation. Puis lavés dans un milieu capacitant *Ferticult*.

Avec cette technique on obtient une concentration en spermatozoïde mais aucune sélection. Le pourcentage des formes mobiles ainsi que la numération sont évalués sous microscope. Les spermatozoïdes sont ensuite placés dans une solution de PVP (poly vinyl pyrrolidone) qui les ralentit par sa viscosité.

9) Fécondation in vitro :

En ICSI un seul spermatozoïde est introduit dans le cytoplasme de l'ovule, le spermatozoïde retenu est chargé dans une micropipette après cassure de son flagelle pour le rendre immobile puis introduit dans le cytoplasme de l'ovocyte décoronisé qui est fixée à l'aide d'une pipette.

Cette micro-injection est réalisée sous microscope avec un grossissement de l'ordre de x200 à x400.

10) Culture embryonnaire :

10)-1 Observation de la fécondation :

20h après insémination, les ovocytes fécondés sont rincés et placés dans des microgouttes de nouveau milieu sous huile. C'est un milieu qui apporte tous les nutriments nécessaire pour le développement embryonnaire de J1 à J6.

La fécondation est objectivée par l'observation de deux pronuclei (mâle et femelle) et de l'expulsion du deuxième globule polaire sous un microscope inversé à l'objectif x40.

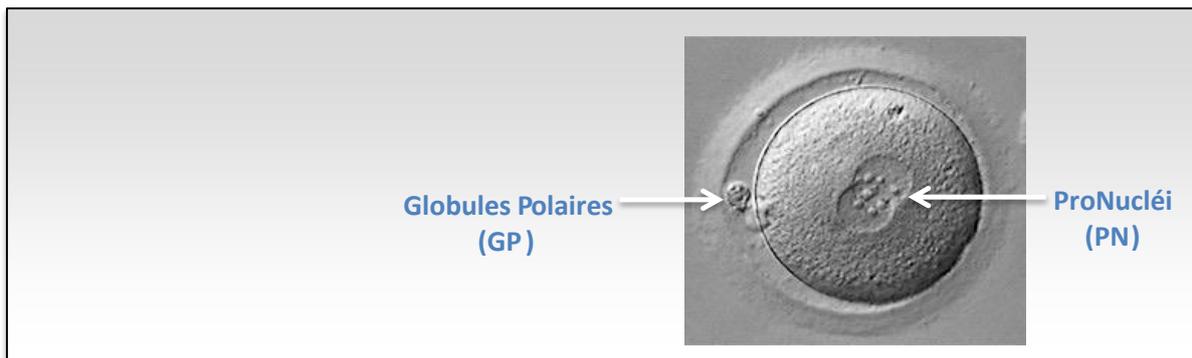


Figure 9 : Micrographie d'un Ovocyte fécondé observé 20 heures après insémination (Stade zygote) x40.

10)-2 Observation embryonnaire :

L'observation de la morphologie embryonnaire au microscope est une méthode non invasive simple et rapide, permettant de décider du devenir des embryons (transfert ou arrêt de culture).

10)-3 Clivage précoce J1 :

A la 27eme heure post insémination, la présence ou non du clivage précoce est observée sous microscope inversé à l'objectif x40.

Les différents stades observés correspondaient soit à une persistance des pronuclei (stade 2 PN), soit à leur effacement (stade BD ou break-down), soit à un clivage précoce embryonnaire. Dans ce dernier cas, le nombre de blastomères, leurs régularités et le taux de fragmentation sont notés.

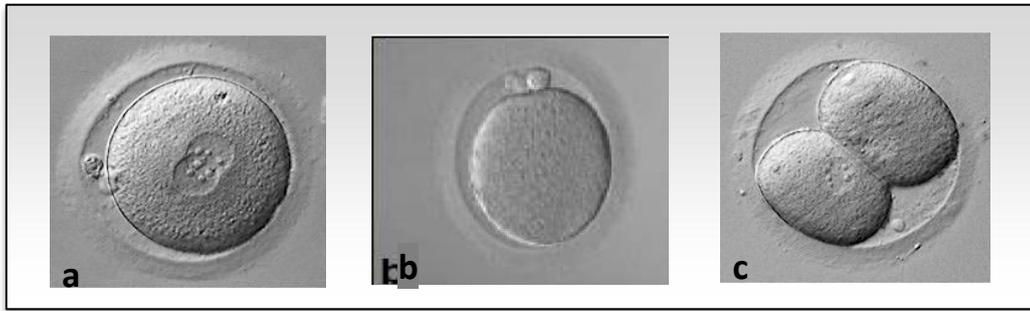


Figure 10 : Micrographie x40 illustrant l'Observation faite à la 27ème heure après insémination.

(a) Stade 2PN. (b) Stade BD. (c) Clivage précoce.

10)-4 Observation embryonnaire a J2 et J3 :

Les embryons ont été cultivés dans des microgouttes de milieu unique One step jusqu'à J2 ou J3.

La morphologie embryonnaire a été évaluée à J2 et J3 sous microscope inversé à l'objectif x40.

Les embryons sont définis comme étant « Top » ou « Non Top » selon leurs caractéristiques morphologiques.

Ainsi 5 grades ont été définis

Tableau 1 : Classification des embryons selon leurs critères morphologiques au stade clivé (J2/J3).

- **A** : 4 blastomères à J2 ou 7-8 blastomères à J3, clivage typique, absence de fragments anucléés et de BMN.
- **B** : 4-5 blastomères à J2 ou 7-8 blastomères à J3, clivage typique, < 10% de fragments anucléés et absence de BMN.
- **C+** : 4-5 blastomères à J2 ou ≥ 6 blastomères à J3, clivage typique, 10% à 25% de fragments anucléés et absence de BMN.
- **C-** : clivage typique associé à 30 à 50% de fragments anucléés ou clivage atypique avec moins de 50% de fragments anucléés ou présence de blastomères multinucléés.
- **D** : > 50% de fragments anucléés, avec ou sans BMN.

GRADES	A		B		C+		C-		D
Nombre de blastomères	J2	J3	J2	J3	J2	J3	J2/J3		/
	4	7-8	4-5	7-8	4-5	≥ 6	/		
Clivage	Typique		Typique		Typique		Typique	Atypique	
% fragments anucléés	-		<10%		10-25%		26-50%	0-50%	>50%
BMN	-		-		-		Ou +		+/-

Embryon top

Embryon non top

Les embryons de grades **A**, **B** et **C+** étaient considérés comme des embryons « **Top** » à potentiel implantatoire plus élevé.

Les grades **C-** et **D** comme des embryons « **Non-Top** ».

Les embryons de grade **D** ne seront jamais transférés, ils sont destinés à la destruction.

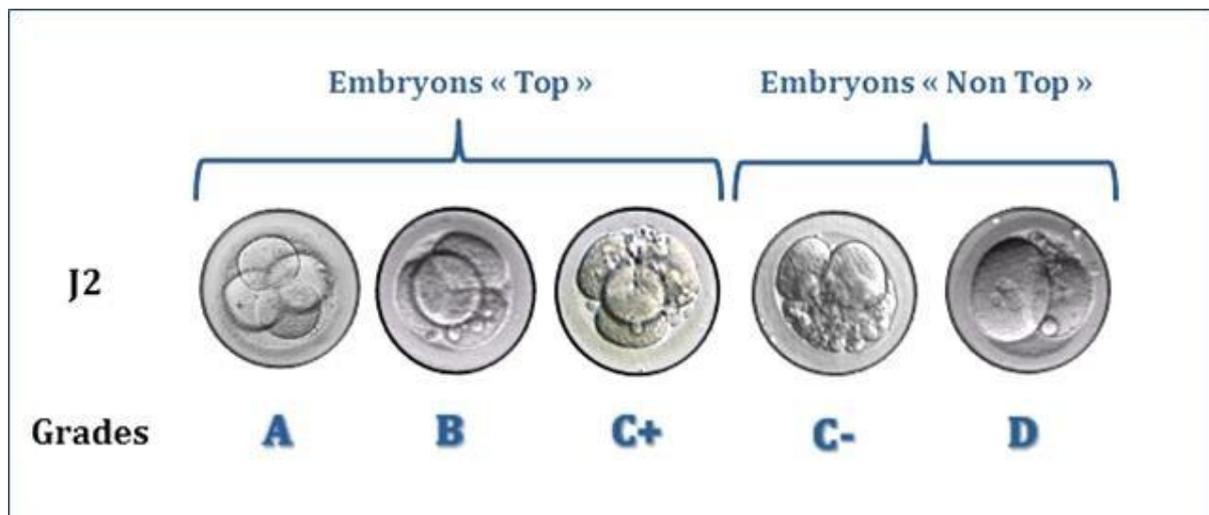


Figure 11 : Micrographies de typage d'embryons selon leur morphologie observée à J2.

10)-5 Observation embryonnaire au 5^{ème} jour (J5) :

Lorsqu'une culture prolongée a été indiquée, les embryons ont été cultivés dans des microgouttes de milieu unique jusqu'à J5.

La morphologie embryonnaire a été évaluée à J2 et J3 sous microscope inversé à l'objectif x40 en utilisant une classification précédente, puis à J5 en utilisant les critères de la classification de Gardner.

Tableau 2 : Classification des embryons selon leurs critères morphologiques au stade de blastocyste (J5).

Cavité blastocœlique	Caractéristiques morphologiques
B1	Début de cavitation
B2	Cavité < 50% du volume intra-pellucidaire, sans expansion
B3	Cavité > 50%, sans expansion
B4	Blastocyste expansé, zone pellucide amincie
B5	Blastocyste en cours d'éclosion
B6	Blastocyste éclos

GRADES	Bouton embryonnaire (ICM)	Trophectoderme (T)
A	Bien visible, nombreuses cellules compactées	Cellules en croissant, formant un épithélium cohésif
B	Contour cellulaire visible	Cellules en croissant, formant un fin épithélium
C	Peu visible voire absent	Absence de cellules en croissant

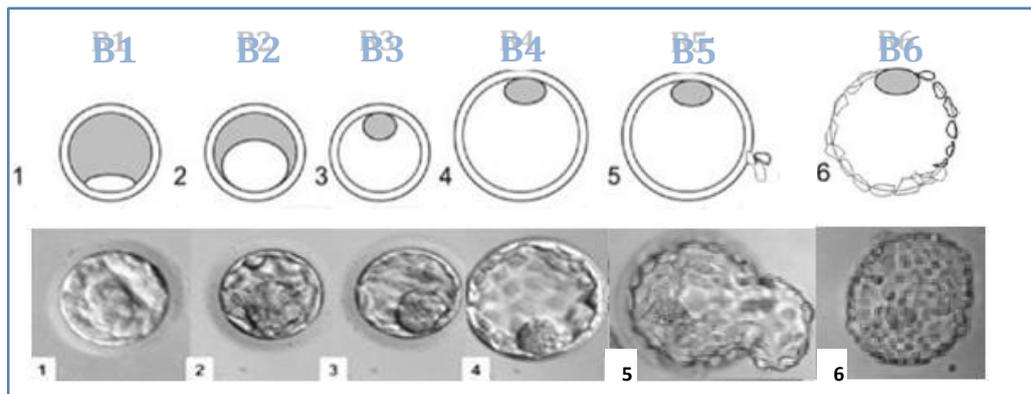


Figure 12 : Schéma illustrant l'évolution d'un blastocyste.



Figure 13 : Micrographies du type d'embryons selon leurs critères morphologiques.

Ainsi sont considérés comme blastocystes « **Top** » (Grades **A, B, C+**) à J5

Sont considérés comme « **Non Top** » (Grade **C-, D**)

11) Transfert embryonnaire et issue de grossesse :

Le choix du jour du transfert et du nombre d'embryons à transférer a été décidé en accord avec le clinicien et le couple en fonction du pronostic de la tentative, du déroulement des tentatives précédentes, de l'âge de la patiente, du souhait du couple et des risques obstétricaux de chaque patiente.

Le transfert est réalisé par le gynécologue sous contrôle échographique, en introduisant un cathéter dans l'utérus en passant par le col cervical.

Un dosage sanguin de β hCG plasmatiques est effectué 10 jours post-transfert en cas de blastocystes, et 13 jours post-transfert en cas d'embryons clivés, il faut refaire le dosage 48h après pour vérifier que le taux de β hCG augmente bien, ce taux doit doubler toutes les 48h.

En cas de dosage évolutif, une échographie pelvienne a été réalisée à 6 semaines d'aménorrhée pour compter le nombre de sacs gestationnels et détecter l'activité cardiaque fœtale.

Faute de cas réels sur lesquels nous aurions pu mener cette étude selon des critères prédéfinis, nous nous sommes orientés comme déjà annoncé précédemment vers une analyse d'articles qui nous a permis de comparer et discuter les résultats de 10 articles autour de notre thème.

Article n°1 :

- **Titre de l'article :** Transfert d'embryon à J 3 et à J 5 : une étude prospective randomisée
- **Méthode :** Sur un total de 118 patientes, un transfert de 2 embryons a été effectué. chez 57 patients à J3 (groupe I) et d'un seul embryon chez 61 à J5 (groupe II).
- **Résultats :** Les taux de HCG positif étaient de (70,2 contre 67,2%), grossesse clinique (63,2 contre 52,5%), implantation (43,9 contre 36,7%), jumelage (41,6 contre 40,6 %) et des fausses couches précoces (15,0 contre 29,2%).
- **Reference:** Bungum M, Reproductive BioMedicine Online. Vol 7. No1. 23 April 2003, Pages 98–104 Article/857.

Article n°2:

- **Titre de l'article:** Résultat de la grossesse du transfert d'embryon à J3 par rapport à J5: une analyse rétrospective.
- **Methode:** Sur un total de 704 patientes qui répondaient aux critères d'inclusion, 411 ayant eu un transfert d'embryon a J3 et 293 un transfert d'embryon à J5. Les patientes âgées de plus de 40 ans ont été exclus.
- **Resultats :** le taux de grossesse clinique et le taux d'implantation n'ont montré aucune différence statistiquement significative entre les groupes de transfert des jours 3 et 5. Celles-ci étaient de 44% contre 45% et 19% contre 19%. Une augmentation du taux de fausses couches J5 par rapport à J3 (12,0% contre 4,4%), mais aucune différence significative n'a été trouvée concernant le taux de grossesse biochimique.
- **Reference:** Alfaraj S, Alzaher F, Alshwaiaer S, Ahmed A. 2017 Pregnancy outcome of day 3 versus day 5 embryo transfer: A retrospective analysis. Asian Pac J Reprod volume 6 issue 2 page 89-92.

Article n°3:

- **Titre de l'article:** Transfert d'embryons à J3 par rapport aux transferts de blastocystes à J5 : un essai contrôlé randomisé prospectif.
- **Objectif :** Cette étude visait à montrer si le transfert d'embryons à J5 entraînait des taux d'implantation et de grossesse plus élevés que le transfert d'embryons à J3 chez des femmes turques qui ont subi une injection intra-cytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI).
- **Methode:** Un total de 190 femmes qui ont fait une ICSI après la récupération de plus de quatre ovocytes le jour de la vérification de la fécondation ont été assignées au hasard pour subir un transfert d'embryon au jour 3 ou au jour 5.
- **Resultats :** Les transferts d'embryons aux jours 3 et 5 avaient des taux d'implantation, de grossesse clinique, de jumelage et de naissances vivantes statistiquement similaires ($p = 0,779$, $p = 0,771$, $p = 0,183$ et $p = 0,649$, respectivement).
- **Reference:** Şafak Hatırnaz and Mine Kanat Pektaş. Turk J Obstet Gynecol ; vol14(2): June 15 2017. pages S82–S88.

Article n°4:

- **Titre de l'article:** Transfert d'embryons: une comparaison rétrospective du transfert de blastocyste à j5 vs j3
- **Methode:** En 1999, 214 patientes ont eu un transfert de blastocyste après 5 jours de culture d'embryons dans des milieux séquentiels définis et ont été comparés à 848 patients qui ont subi un transfert d'embryons de 3 jours de culture avec des cellules de granulosa autologues et de transfert d'embryons clivés entre 1995 et 1998.
- Principaux critères de jugement : Taux de grossesse clinique et en cours, taux d'implantation, taux de gestation multiple, nombre moyen d'embryons transférés, nombre de blastocystes cryoconservés.
- **Resultats:** Les taux de grossesse cliniques et en cours étaient pratiquement similaires pour le transfert J3 (48,4%; 39,4%) et J5 (47,8%; 42,9%), Meme chose pour la cryoconservation des blastocystes (37,9% vs 37,3%).
Les patientes avec moins de 5 ovocytes avaient un taux de grossesse significativement plus élevé avec transfert a J3 (2/27 contre 0/12 pour le transfert à J5),

tandis que les patientes de plus de 39 ans avec plus de 10 ovocytes avaient des résultats meilleurs avec le transfert de blastocyste (6/9 vs 2/19 grossesse en cours pour le transfert à J3). Le nombre moyen d'embryons transférés par patient était inférieur à J5 par rapport aux transferts à J3 (2,6 vs 3,6). Le taux d'implantation plus élevé pour le transfert de blastocyste par rapport au transfert à J3 (27,4% vs 19,4%).

- **Reference:** Freeman M.R; Howard K.G; Hinds M.S; C.M Whitworth, G.A Weitzman, G.A Hill. ScienceDirect, Volume 74, Issue 3, Supplement 1, September 2000, Pages S170-S171

Article n°5:

- **Titre de l'article:** Les fausses couches précoces sont significativement plus élevées après un transfert embryonnaire effectué à J3 qu'après le transfert effectué à J5.
- **Objectif:** L'étude actuelle visait à déterminer si le transfert d'embryon à J3 (TUE) entraîne une fausse-couche précoce. (FCP) que le transfert d'un seul blastocyste (TUB).
- **Methode:** Un total de 896 patientes ont subi 1103 cycles de FIV avec un protocole antagoniste de la gonadotrophine (GnRH). Pour 603 cycles (groupe D3) un seul embryon de 3 jours de culture a été transféré, et pour les 500 cycles restants, un seul blastocyste a été transféré aussi à J5 (groupe D5).
- **Resultats:** Le TUE a abouti à 209 grossesses (34,7%), contre 221 grossesses (44,2%) pour TUB, le taux de fausses couches précoces était significativement plus élevé avec le TUE par rapport au TUB (26,8% contre 17,2%) et le taux d'implantation en cours était également significativement plus élevé à J5 par rapport au transfert d'embryon à J3.
- **Reference:** Vaggelis P, Reproductive BioMedicine Online, Vol 12. No 1. 25 November 2005, pages 60-65 /Article/1952.

Article n°6:

- **Titre de l'article:** Impact du transfert d'embryon à J3 et à J5 sur les taux de grossesse et les gestations multiples.
- **Methode:** Les cycles ont été comparés par jour de transfert et stratifiés d'avantage en fonction de l'âge de la patiente (<35 ans et 35–40 ans).

Le nombre d'ovocytes récupérés, les embryons au jour 3, les embryons transférés, le taux de grossesse, le taux d'implantation et les taux de multiples jumeaux et d'ordre élevé (\geq triplets) ont été comparés. Sur les 274 patients qui répondaient à nos critères d'inclusion, 153 ont subi un transfert embryonnaire à J3 (TEJ3) et 121 à J5 (TEJ5).

- **Resultats:** Le groupe TEJ5 avait un âge moyen et un nombre d'embryons transférés plus bas et un taux d'implantation plus élevé (56% contre 42%) que le groupe TEJ3. Les patientes âgées de 35 à 40 ans avaient un taux de naissances vivantes significativement plus élevé (68% contre 40%). Bien que statistiquement non significatifs, le groupe TEJ5 avait des taux plus élevés de grossesse clinique (73% contre 65%) et de grossesse gémellaire (33% contre 25%).
- **Reference:** Beesley R, Robinson R, Propst A, Arthur N, Retzlöff M. Fertility and Sterility Volume 91, Issue 5, May 2009, Pages 1717-1720.

Article n°7:

- **Titre de l'article:** Effets des transferts d'embryons à J3 vs à J5 / J6 sur les taux de naissance vivante, d'implantation et d'annulation dans les cas de FIV-ET avec ≤ 3 embryons viables à J3 de la culture d'embryons: une analyse rétrospective sur dix ans.
- **Methode:** L'insémination ovocytaire a été réalisée avec 200 000 spermatozoïdes mobiles / ml pendant 15 à 18 heures dans des boîtes de culture à 5 puits. Tous les embryons ont été cultivés à une densité de 3 à 5 embryons / goutte dans un incubateur à 37 ° C avec 6% de CO₂. Les transferts d'embryons ont été effectués avec un cathéter de transfert d'embryons Wallace de 18 cm. Le taux d'implantation a été défini comme le nombre de sacs fœtaux avec une activité cardiaque sur la sonde transvaginal à 5 semaines après le transfert / le nombre d'embryons transférés. Seuls les cas de FIV-ET avec ≤ 3 embryons viables au jour 3 de la culture d'embryons ont été inclus dans l'étude. Les ovocytes de donneur ont été utilisés dans 5% et ICSI dans 10% des cas de FIV-ET.
- **Resultats:** A J3 : Naissances vivantes par transfert = 22%, taux d'implantation = 19,4%.
A J5 : Naissances vivantes par transfert = 35.6%, taux d'implantation = 29,7%.
- **Reference:** Smith L.K, Phy J.L, Odom Dorsett M.J , Fertility and Sterility. Volume 88, Supplement 1, September 2007, Page S330.

Article n°8:

- **Titre de l'article:** Transfert d'embryon au jour 5 par rapport au jour 3: un essai randomisé contrôlé.
- **Methode:** Les patientes avec quatre zygotes ou plus ont été réparties au hasard en deux groupes. La fécondation a été obtenue par FIV régulière ou injection intracytoplasmique de spermatozoïdes. Les deux ou trois meilleurs embryons ou blastocystes (morphologiquement) ont été choisis pour le transfert dans les deux groupes.
- **Resultats:** Tous les taux de grossesse par transfert d'embryon étaient les mêmes (39%) aux jours 3 et 5. Les taux d'implantation étaient respectivement de 21 et 24% à J3 et J5. Le taux de gestation multiple, le nombre d'avortements et les grossesses en cours étaient similaires dans les deux groupes.
- **Reference:** Coskun S, Hollanders J, Al-Hassan S, Al-Sufyan H, Al-Mayman H, Jaroudi K. Human Reproduction (Oxford, England). Volume 15, Issue 9, September 2000, Pages1947–1952.

Article n°9:

- **Titre de l'article:** Transfert d'embryons à J3 et J5 chez les femmes d'âge maternel avancé
- **Methode:** Les couples dont la partenaire avait 40 ans ou plus et qui se sont présentés pour un traitement de procréation assistée entre le 1er janvier 2008 et le 31 décembre 2008 ont été invités à participer à l'étude. Les patientes utilisant des donneurs d'ovocytes ont été exclues de l'étude. Le jour du TE était déterminé par le médecin traitant. Le taux de grossesse clinique a été comparé entre les patientes recevant l'embryon après 3 et 5 jours de culture.
Pour déterminer les différences significatives entre les groupes (du jour 3 et du jour 5 du TE), nous avons comparé l'âge de la patiente, le nombre total d'ovocytes récupérés, le nombre d'embryons cryoconservés et le nombre d'embryons transférés.
- **Resultats:** Sur les 293 cycles inclus dans l'étude; 41 cycles n'ont pas effectué le TE; dont 35 étaient dus à la cryoconservation de tous les embryons et 06 cycles n'ont pas réussi à avoir des embryons de qualité appropriée pour le transfert. 141 cycles ont fait un TE après 3 jours de culture d'embryons, et 111 cycles avaient après 5 jours.

Cette étude démontre que des taux de grossesse clinique élevés sont réalisables chez les femmes d'âge maternel avancé après un TE à J5. Nos données indiquent que la décision d'un médecin pour le choix entre le troisième ou le cinquième jour semble être influencée par le nombre d'ovocytes récupérés.

- **Reference:** Chang W, Briton-Jones C, Buehler N, Danzer H, Surrey M, Hill D.L. Fertility and Sterility, Volume 93, Issue 5, Supplement, 15 March 2010. Page S10.

Article n°10:

- **Titre de l'article:** Évaluation prospective du moment optimal pour sélectionner un seul embryon pour le transfert à J3 versus J5.
- **Methode:** Pour déterminer le meilleur jour pour la sélection et le transfert d'un seul embryon, une étude prospective randomisée a été entreprise sur 227 patientes de moins de 36 ans afin de comparer le taux de grossesse en cours (TG) après le transfert d'un seul embryon (TUE) à J3 pour 99 femmes, avec celui après le transfert d'un seul blastocyste (TUB) à J5 pour 128 femmes.
- **Resultats:** Les résultats montrent un TG global significativement plus élevé après TUB (32,8%) par rapport à TUE (23,2%), et un TG de (40,8%) après TUB contre (25,6%) après TUE avec des embryons d'excellente qualité.
- **Reference:** H.Zech N, Lejeune B, Puissant F, Vanderzwalmen S, Zech H, Vanderzwalmen P. Fertility and Sterility, July 2007. Volume 88, Issue 1, Pages 244-246.

III. Résultats et discussion

1. Résultats :

Afin de mieux visualiser et comparer les résultats des différents articles, nous les avons matérialiser sous forme de tableaux et graphiques selon les critères suivants:

- taux de fausse couche/avortement.
- taux de grossesse gemellaire.
- taux de naissance vivante.
- taux de grossesse (clinique et en cours).
- taux d'implantaion.

Tableau 3 : Récapitulatif des résultats de tous les Articles étudiés

Articles	RESULTATS									
	Taux de fausse couche / avortement		Taux de grossesse gémellaire		Taux de naissance vivante		Taux de grossesse		Taux d'implantation	
	J3	J5	J3	J5	J3	J5	J3	J5	J3	J5
Art 1	15%	29.2%	41.6%	40.6%	-	-	63.2%	52.5%	43.9%	36.7%
Art 2	4.4%	12%	-	-	-	-	44%	45%	19%	19%
Art 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Art 4	-	-	-	-	-	-	48.4%	45.8%	19.4%	27.4%
Art 5	26.8%	17.2%	-	-	-	-	36.7%	44.2%	-	-
Art 6	-	-	25%	33%	40%	68%	65%	73%	42%	56%
Art 7	-	-	-	-	22%	35.6%	-	-	19.4%	29.7%
Art 8	50%	50%	50%	50%	-	-	39%	39%	21%	24%
Art 9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Art 10	-	-	-	-	-	-	23.2%	32.8%	-	-

Tableau 4 : Comparaison des taux de fausse couche/avortement des articles 01, 02, 05, 08.

TAUX DE FAUSSE COUCHE/AVORTEMENT	Article 01	Article 02	Article 05	Article 08
J3	15%	4.4%	26.8%	=
J5	29.2%	12%	17.2%	=

TAUX DE FAUSSE COUCHE/AVORTEMENT

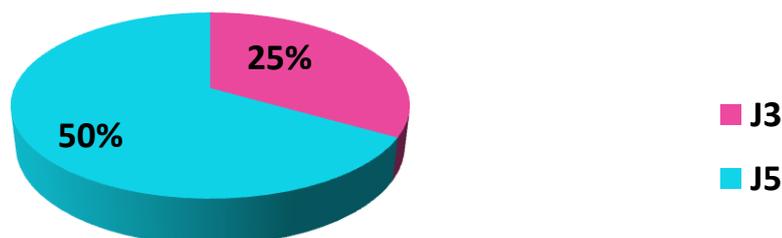


Figure 14 : Graphique illustrant le pourcentage d'articles ayant le même taux de fausse couche/avortement à J3 et à J5.

Tableau 5 : Comparaison des taux de grossesse gémellaire des articles 01, 06, 08.

TAUX DE GROSSESSE GEMELLAIRE	Article 01	Article 06	Article 08
J3	41.6%	25%	=
J5	40.6%	33%	=

TAUX DE GROSSESSE GEMELLAIRE

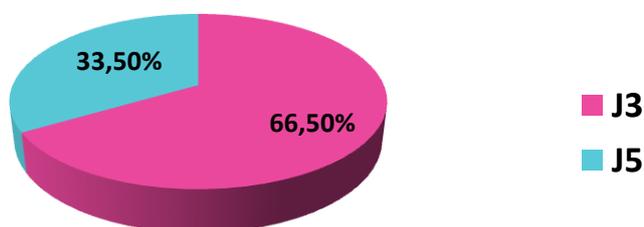


Figure 15 : Graphique illustrant le pourcentage d'articles ayant le même taux de grossesse gémellaire à J3 et à J5.

Tableau 6 : Comparaison des taux de naissance vivante des articles 06 et 07.

TAUX DE NAISSANCE VIVANTE	Article 06	Article 07
J3	40%	22%
J5	68%	35.6%

TAUX DE NAISSANCE VIVANTE

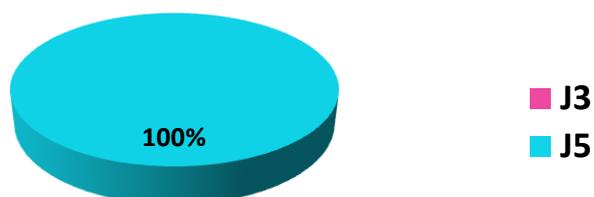


Figure 16 : Graphique illustrant le pourcentage d'articles ayant le même taux de naissance vivante à J3 et à J5.

Tableau 7 : Comparaison des taux de grossesse des articles 01, 02, 04, 05, 06, 08, 10.

TAUX DE GROSSESSE	Article 01	Article 02	Article 04	Article 05	Article 06	Article 08	Article 10
J3	63.2%	44%	48.4%	34.7%	65%	39%	23.2%
J5	52.5%	45%	45.8%	44.2%	73%	39%	32.8%

TAUX DE GROSSESSE

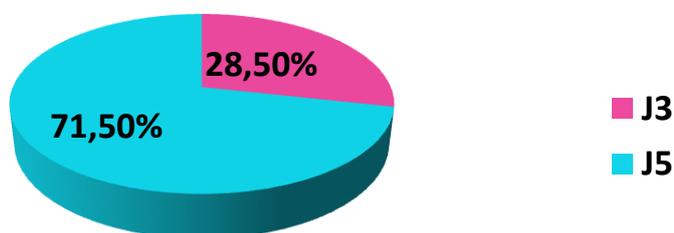


Figure 17 : Graphique illustrant le pourcentage d'articles ayant le même taux de grossesse à J3 et à J5.

Tableau 8 : Comparaison des taux d'implantation des articles 01, 02, 04, 06, 07, 08.

TAUX D'IMPLANTATION	Article 01	Article 02	Article 04	Article 06	Article 07	Article 08
J3	43.9%	19%	19.4%	42%	19.4%	21%
J5	36.7%	19%	27.4%	56%	29.7%	24%

TAUX D'IMPLANTATION

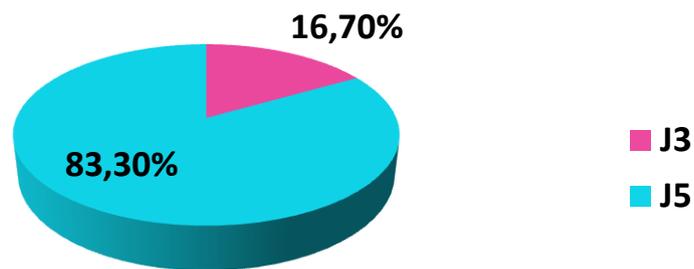


Figure 18 : Graphique illustrant le pourcentage d'articles ayant le même taux d'implantation à J3 et à J5.

Sur les 7 articles comparant les taux grossesse, les 6 articles comparant les taux d'implantation et les 4 articles comparant les taux de fausse couche/avortement à J3 et à J5. Nous remarquons une différence significative en faveur d'un transfert à J5.

En ce qui concerne les 3 articles comparant les taux de grossesse gemellaire et les 2 articles comparant le taux de naissance vivante les pourcentages sont comparables, quel que soit le type de transfert.

Sagissant d'une étude épidémiologique rétrospective, afin d'avoir un échantillon représentatif, nous avons aussi calculé la moyenne des taux de grossesse et d'implantation obtenus de l'ensemble des articles par jour de transfert (J3 et J5).

Résultats obtenus :

Taux d'implantaion à J3 : 27.45% / Taux d'implantaion à J5 : 32.13%

Taux de grossesse à J3 : 45.35% / Taux de grossesse à J5 : 47.47%

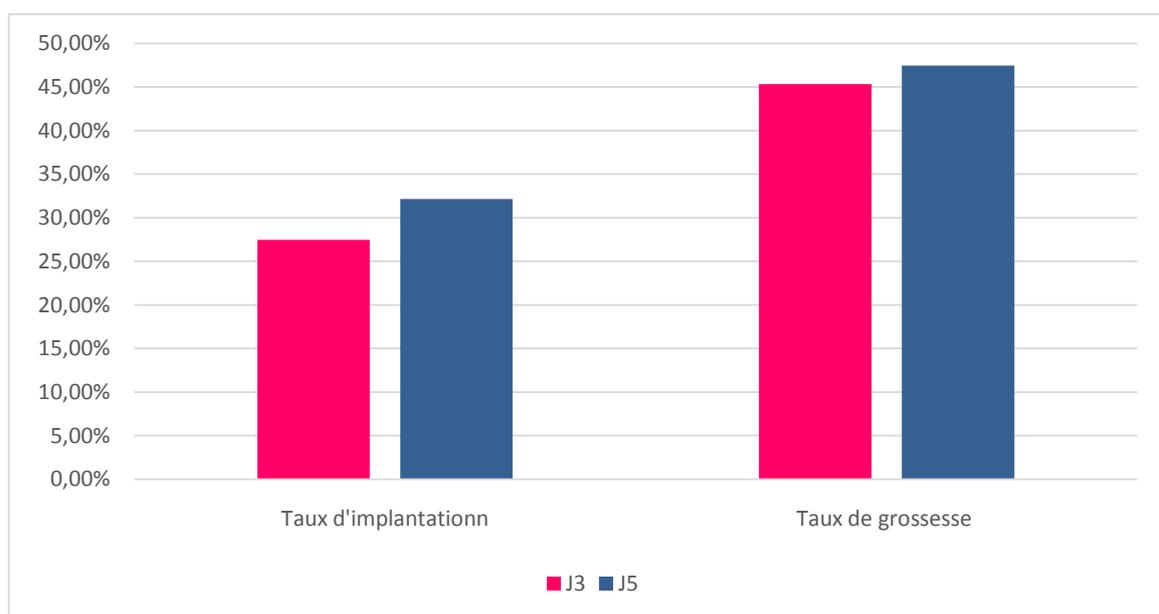


Figure 19 : Graphique illustrant la moyenne des taux de grossesse et d'implantation obtenus de l'ensemble des articles par jour de transfert (J3 et J5).

Il semblerait que le taux d'implantation soit meilleur à J5 que à J3

Alors que le taux de grossesse à J3 et à J5 ne montre pas de différence significative.

2. Discussion :

une bonne partie des travaux s'accordent à dire qu'un transfert au stade blastocyste serait plus avantageux du fait qu'il présente un meilleur taux de transfert, d'implantation, de grossesse, de naissance vivante et moins de grossesse gemellaire. Cependant on remarque un plus fort taux de fausse couche/avortement à ce stade et de nombreux articles montrent des similitudes dans les résultats obtenus après un transfert à J3 et un transfert à J5, c'est pour cela que le transfert au stade clivé (J3) ne peut être exclu et peut apporter certains avantages tel que:

- Un temps d'exposition réduit de l'embryon aux conditions de culture in vitro, diminuant ainsi les éventuels risques inutiles dus aux réactifs utilisés.
- A ce stade, le nombre d'embryons transférables est plus important, le risque de non-transfert est ainsi diminué. Les embryons de bas grade qui n'auraient peut-être pas résisté à une culture in vitro peuvent être transférés à J2/J3 et pourraient donner des grossesses (*Maheshwari et al.2016*).

Comme on peut le voir dans les résultats ci-dessus, il existe des différences entre les résultats lors d'un transfert à J3 et d'un transfert à J5, différences que nous pourrions expliquer pour certains paramètres grâce aux hypothèses suivantes :

les fausses couches/avortement: il s'agit d'une interruption du développement embryonnaire après l'implantation, qui peut être expliquée par :

- La présence d'anomalies utérines empêchant la continuité du développement; En effet toute anomalie au niveau de la muqueuse maternelle ou de l'embryon peut engendrer des défauts d'implantation (*Foucrier et al. 2010*).
- Des malformations génétiques de l'embryon menant par la suite à un dysfonctionnement hormonal (*Foucrier et al. 2010*) (voir plus de détails page 7)
- La notion de vascularisation; il se pourrait que la mère souffre de pathologies vasculaires d'où un faible apport d'oxygène à l'embryon, ce dernier dans un environnement hypoxique ne peut se développer.
- Le transfert n'a pas été effectué durant la fenêtre d'implantation qui elle pourrait être précoce ou retardée.

Plus d'études devraient être menées à l'échelle moléculaire afin de prouver cette possibilité.

Grossesses gemellaires: les hypothèses que nous émettons sont les suivantes:

- L'incidence de ce phénomène à J3 est facilement expliquée par le fait qu'à ce stade, le nombre d'embryons transférables est plus important.
- Pour le transfert de blastocyste (J5) l'hypothèse est que ce dernier a subi une multitude de manipulations médicales qui pourraient augmenter le risque de division du zygote.

Implantation et de grossesse : ils semblent être meilleurs lors d'un transfert de blastocyste, cela pourrait être dû au fait que:

- La culture prolongée permet une sélection embryonnaire naturelle. et Ainsi, il est possible d'écartier du transfert les embryons qui auraient un retard ou blocage de développement après J3 (*Boyer et al. 2011*).
- L'implantation embryonnaire serait plus efficace grâce à une meilleure synchronisation avec l'endomètre, car le blastocyste est naturellement à ce stade dans l'utérus (*Check et al. 1995*).
- L'endomètre n'accueille l'embryon que pendant une courte période, et chez certaines femmes cette fenêtre d'implantation pourrait être précoce ou retardée, quand les cellules entrent dans la phase de réceptivité optimale 238 gènes s'activent ou se désactivent et la combinaison de l'expression de ces gènes coïncide avec cet état de réceptivité optimale pour l'implantation (*Diaz-Gimeno et al. 2011*).

Durant cette étude, nous avons pu remarquer que tout est lié et entremêlé, et qu'il y a autant d'avantages que d'inconvénients pour les deux types de transferts, les causes d'échecs et de réussite sont à la fois dépendantes de la mère et de l'embryon et éventuellement d'autres facteurs externes.

Cependant notre étude présente certaines limites, Plusieurs paramètres entrent en jeu dans le choix de la politique de transfert : avant la tentative, il est nécessaire de connaître les antécédents gynéco-obstétriques de la patiente et les antécédents du couple s'ils ont déjà eu un parcours en AMP ; puis au cours de la tentative, la stratégie de transfert se précisera en fonction de la cohorte embryonnaire obtenue.

Nous pourrions affiner les résultats en prenant compte certains paramètres qui entrent en jeu dans le processus d'implantation embryonnaire et de grossesse évolutive, tels que l'indication de l'infertilité (féminine ou masculine), le statut ovarien de la patiente ainsi que la réceptivité endométriale. Nous pourrions aussi aller plus en profondeur en analysant de façon plus précise certains paramètres à l'échelle moléculaire.

IV. Conclusion

Au vu des résultats obtenus en fonction des critères pris en compte dans le cas de notre étude plus particulièrement le taux de grossesse et le taux d'implantation, il apparaît que les pourcentages plaident actuellement légèrement en faveur des embryons qui réussissent à se développer jusqu'au stade blastocystes (J5) car ils s'embent avoir un meilleur potentiel d'implantation et d'avantage de chance de mener à une grossesse à terme.

Cependant Il est important aussi de tenir compte du nombre d'embryons obtenus ainsi que de leur qualité, si les embryons ne sont pas d'excellente qualité, il serait préférable de les transférer au stade clivé (J3), car y'a un risque que leur développement cesse avant de pouvoir les transférer.

Recommandations :

La culture précoce pourrait être indiquée dans les cas suivants :

- 1ères tentatives de FIV.
- Faible cohorte ovocytaire à la ponction.
- Echecs de transferts répétés au stade de blastocyste, ou absence d'obtention de blastocyste lors des tentatives précédentes.

La culture prolongée pourrait être indiquée dans les cas suivants :

- Grandes cohortes ovocytaires à la ponction.
- Un développement embryonnaire précoce satisfaisant.
- Embryons surnuméraires après transfert au stade clivé.
- Echecs de transferts répétés au stade clivé.

Références Bibliographiques

- Alfaraj S, Alzaher F, Alshwaiaer S, Ahmed A. 2017 Pregnancy outcome of day 3 *versus* day 5 embryo transfer: A retrospective analysis. *Asian Pac J Reprod* volume 6 issue 2 page 89-92.
- Alpha Scientists In Reproductive Medicine, ESHRE Special Interest Group Embryology, 2011. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Human Reproduction* 2011; Vol.26, No.6 pp. 1270–1283. doi:10.1093/humrep/der037.
- Beesley R, Robinson R, Propst A, Arthur N, Retzliff M. *Fertility and Sterility* Volume 91, Issue 5, May 2009, Pages 1717-1720.
- Braude P, Bolton V, Moore S. Human gene expression first occurs between the four- and eightcell stages of preimplantation development. *Nature* 1988; 332(6163):459-61.
- Brown J, Daya S, Matson P. Day three versus day two embryo transfer following in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2016, Issue 12. Art. No.: CD004378. DOI: 10.1002/14651858.CD004378.pub3.
- Bungum M, *Reproductive BioMedicine Online*. Vol 7. No 1. 23 April 2003, Pages 98–104 Article/857.
- Chang W, Briton-Jones C, Buehler N, Danzer H, Surrey M, Hill D.L. *Fertility and Sterility*,. Volume 93, Issue 5, Supplement, 15 March 2010, Page S10.
- Chang HJ, Lee JR, Jee BC, Suh CS, Kim SH. Impact of blastocyst transfer on offspring sex ratio and the monozygotic twinning rate: a systematic review and meta-analysis. *Fertility Sterility* 2009 Jun;91, 2381–2390.
- Check JH, O'Shaughnessy A, Lurie D, Fisher C, Adelson HG. Evaluation of the mechanism for higher pregnancy rates in donor oocyte recipients by comparison of fresh with frozen embryo transfer pregnancy rates in a shared oocyte programme. *Human Reproduction* 1995 Nov;10(11):3022-7.
- Coskun S, Hollanders J, Al-Hassan S, Al-Sufyan H, Al-Mayman H, Jaroudi K. *Human Reproduction* (Oxford, England). Volume 15, Issue 9, September 2000, Pages 1947–1952.

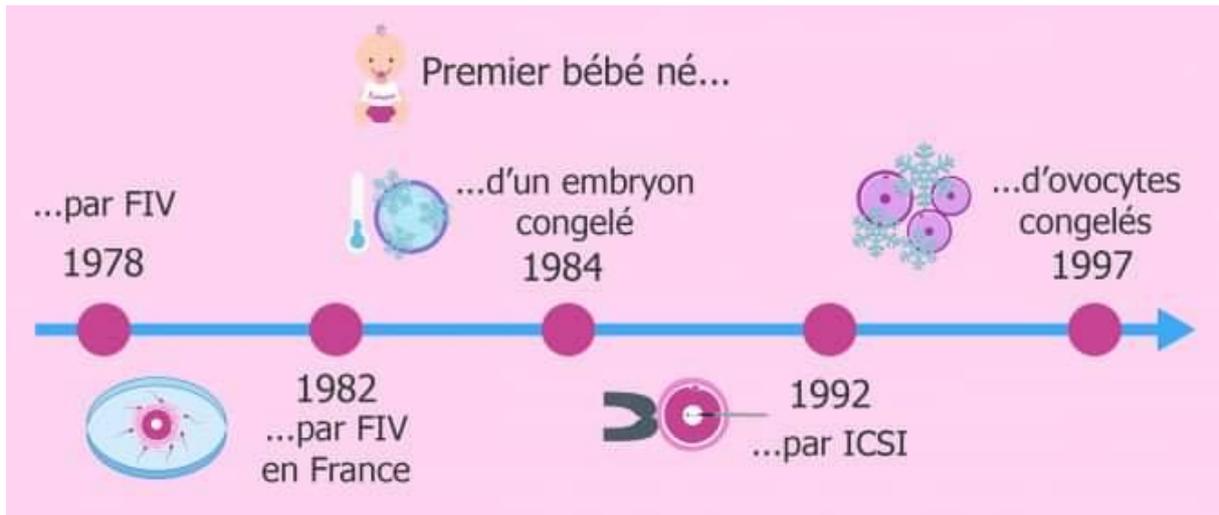
- Diaz-Gimeno P, Horcajadas J.A, Martinez-Conejero J, Francisco J. E, Pilar A, Pellicer A, Simon C, Janvier 2011, Fertility and sterility Vol 95, Issue 1, Pages 50-60.e15
- Ebner T, Yaman C, Moser M, Sommergruber M, Polz W, Tews G. Embryo fragmentation in vitro and its impact on treatment and pregnancy outcome. Fertility Sterility 2001;76:281-285.
- Fourcier J, Bassez G. Reproduction et Embryologie UE2 2010; 2eme Ed, Pages 44, 48, 284, 286, 287.
- Freeman M.R , Howard K.G, Hinds M.S, Whitworth C.M, Weitzman G.A, Hill G.A., ScienceDirect, Volume 74, Issue 3, Supplement 1, September 2000, Pages S170-S171.
- Frydman R, Annales d'urologie, Vol 39 supplement 3, octobre 2005, pages S51-S55.
- Gardner DK, Schoolcraft WB. In vitro culture of human blastocysts. In: Jansen R, Mortimer D (eds). Toward Reproductive Certainty: Infertility and Genetics Beyond 1998; Pages 378–388.
- Gardner DK, Balaban B. Assessment of human embryo development using morphological criteria in an era of time-lapse, algorithms and OMICS: is looking good still important? Mol Human Reproduction 2016;Vol.22, No.10 pp. 704–718.
- Hardarson T, Hanson C, Sjögren A, Lundin K. Human embryos with unevenly sized blastomeres have lower pregnancy and implantation rates: indications for aneuploidy and multinucleation. Human Reproduction 2001;16 pages 313–318.
- Hardarson T, Caisander G, Sjögren A, Hanson C, Hamberger L, Lundin K. A morphological and chromosomal study of blastocyst developing from morphologically suboptimal human preembryos compared with control blastocysts. Human Reproduction 2003;Volume 18, 2003, Pages 399-407.
- Holte J, Berglund L, Milton K, Garello C, Gennarelli G, Revelli A, Bergh T. Construction of an evidence-based integrated morphology cleavage embryo score for implantation potential of embryos scored and transferred on day 2 after oocyte retrieval. Human Reproduction 2007;22:548–557.

- Kolibianakis E, Bourgain C, Albano C, Osmanagaoglu K, Smitz J, Van Steirteghem A, Devroey P. Effect of ovarian stimulation with recombinant follicle-stimulating hormone, gonadotropin releasing hormone antagonists, and human chorionic gonadotropin on endometrial maturation on the day of oocyte pick-up. *Fertility Sterility* 2002;78, 1025–1029.
- Laverge H, De Sutter P, Van der Elst J, Dhont M. A prospective, randomized study comparing day 2 and day 3 embryo transfer in human IVF. *Human Reproduction* 2001 Mar;16(3):476-80.
- Lee JW, Cha JH, Shin SH, Kim YJ, Lee SK, Park CK, Pak KA, Yoon JS, Park SY. Efficacy of embryo transfer on day 2 versus day 3 according to maternal age in patients with normal ovarian response. *Clinical and Experimental Reproductive Medicine*. 2017 Sep;44(3):141145.
- Magli MC, Gianaroli L, Ferraretti AP. Chromosomal abnormalities in embryos. *Mol Cell Endocrinol* 2001;183:29–34.
- Maheshwari A, Hamilton M, Bhattacharya S. Should we be promoting embryo transfer at blastocyst stage? *Reproductive BioMedicine Online* 2016;32, 142–146.
- Milki AA, Jun SH, Hinckley MD, Behr B, Giudice LC, Westphal LM. Incidence of monozygotic twinning with blastocyst transfer compared to cleavage-stage transfer. *Fertility Sterility* 2003 Mar;79(3):503-6.
- Munné S. Chromosome abnormalities and their relationship to morphology and development of human embryos. *Reproduction Biomedicine Online* 2006;12:234-253.
- Pandian Z, Marjoribanks J, Ozturk O, Serour G, Bhattacharya S. Number of embryos for transfer following in vitro fertilization or intra-cytoplasmic sperm injection. *Cochrane Database of Systematic Review* 2013; Issue 7. Art No.:CD003416.
- Şafak H, Mine Kanat P. *Turk J Obstet Gynecol* ; June 15 2017. Vol 14, supplement 2, pages 82–88.

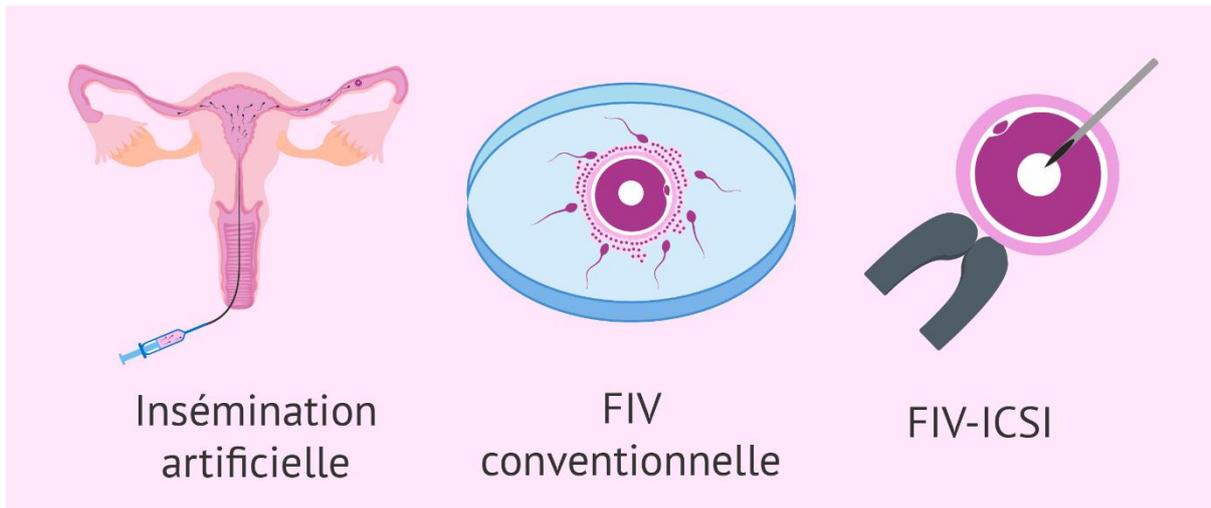
- Scott L, Finn A, O’Leary T, McLellan S, Hill J. Morphologic parameters of early cleavage-stage embryos that correlate with fetal development and delivery: prospective and applied data for increased pregnancy rates. *Human Reproduction* 2007;22:230–240.
- Sermondade N, Delarouzière V, Ravel C, Berthaut I, Verstraete L, Mathieu E, Antoine JM, Mandelbaum J. Characterization of a recurrent poorquality embryo morphology phenotype and zygote transfer as a rescue strategy. *Reproduction Biomedicine Online* 2012;24, 403– 409. doi:10.1016/j.rbmo.2012.01.004
- Smith L.K, Phy J.L, Odom Dorsett M.J , , *Fertility and Sterility*. Volume 88, Supplement 1, September 2007, Page S330.
- Vaggelis P, *Reproductive BioMedicine Online*, Vol 12. No 1. 25 November, 2005 pages 60-65 /Article/1952
- Valbuena D, Martin J, de Pablo JL, Remohí J, Pellicer A, Simón C. Increasing levels of estradiol are deleterious to embryonic implantation because they directly affect the embryo. *Fertility Sterility* 2001;76, 962–968.
- Van Royen E, Mangelschots K, De Neubourg D, Laureys I, Ryckaert G, Gerris J. Calculating the implantation potential of day 3 embryos in women younger than 38 years of age: a new model. *Human Reproduction* 2001;16:326–332.
- Wang X, Du M, Guan Y, Wang B, Zhang J, Liu Z. Comparative neonatal outcomes in singleton births from blastocyst transfers or cleavage-stage embryo transfers: a systematic review and metaanalysis. *Reprod Biol Endocrinol*. 2017 May 4;15(1):36.
- Zech H.N, Lejeune B, Puissant F, Vanderzwalmen S,Zech H,Vanderzwalmen P. *Fertility and Sterility*. Volume 88, Issue 1, July 2007, Pages 244-246.
- Ziebe S, Lundin K, Loft A, Bergh C, Nyboe Andersen A, Selleskog U, Nielsen D, Grøndahl C, Kim H, Arce JC; for the CEMAS II and III Study Group. FISH analysis for chromosomes 13, 16, 18, 21, 22, X and Y in all blastomeres of IVF pre-embryos from 144 randomly selected donated human oocytes and impact on pre-embryo morphology. *Human Reproduction* 2003; 18:2575-2581.

Annexe

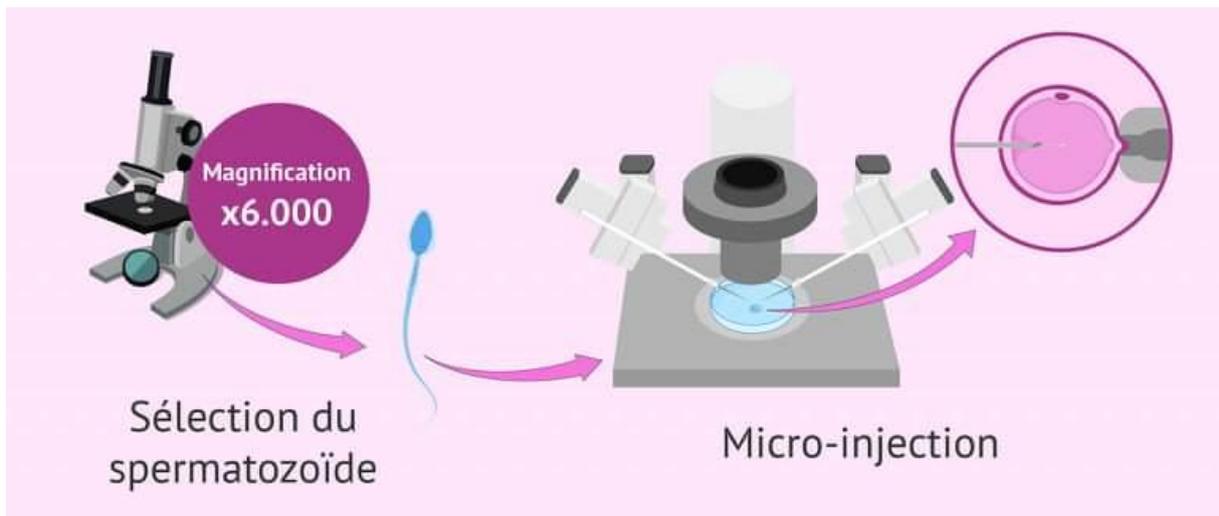
Annexe 1 : Evolution des techniques de PMA au fil du temps.



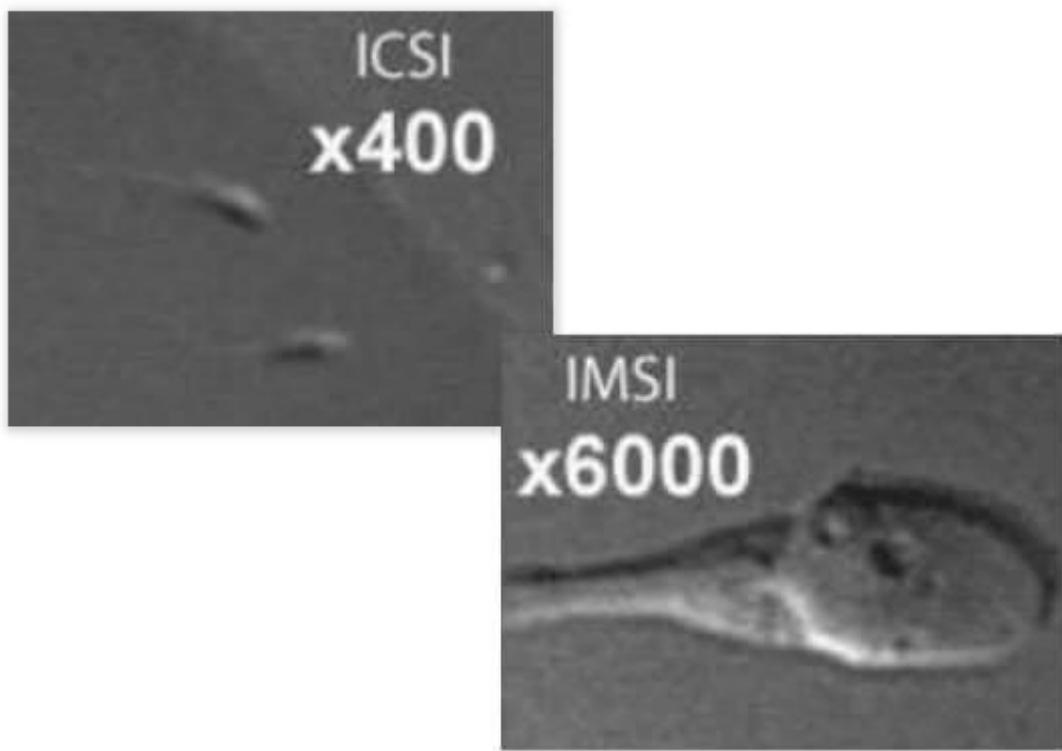
Annexe 2 : Schéma illustrant la différence entre une I.A, une FIV et une ICSI.



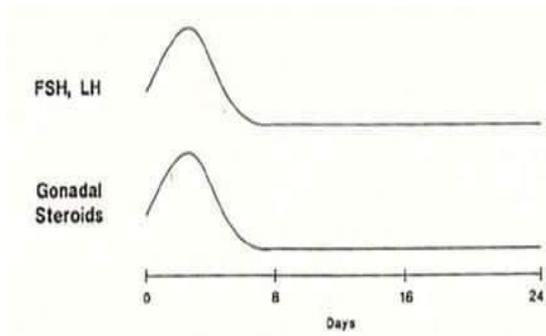
Annexe 3 : Image illustrant un microscope a fort grossissement utilisé lors d'une IMSI.



Annexe 4 : Micrographie de spermatozoïdes observés sous grossissement x400 et x6000.



Les agonistes du GnRH

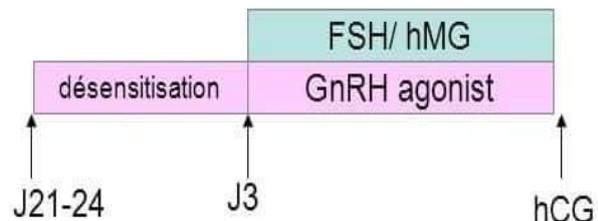


« Flare up »

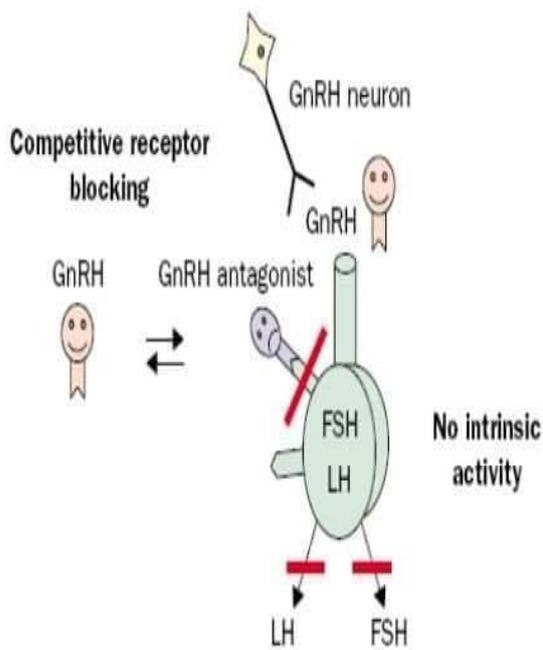


- Effet « flare up » suivi d'une « down regulation » des récepteurs
- Doit être administré **avant** le début de la stimulation
 - Début de la phase folliculaire (flare up)
 - **Phase lutéale (J21-24)**

Protocole long (phase lutéale)



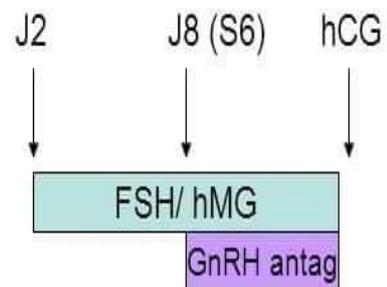
Les antagonistes du GnRH



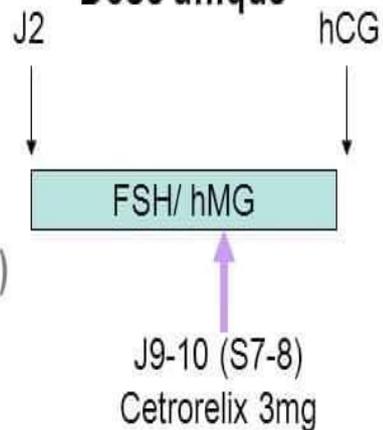
Huime et al, 2001

- Suppression immédiate (pas de « flare up »)
- Rapidement réversible

Doses multiples



Dose unique



Annexe 7 : Liste des 238 gènes analysés lors d'un test ERA (Endometrial receptivity Array).

Gene symbol	Gene name	Fold change	No. of probes
GPX3 ^{a,b,c}	Glutathione peroxidase 3 (plasma)	35.49	2
PAEP ^{b,c}	Progesterone-associated endometrial protein (placental protein 14, pregnancy-associated endometrial alpha-2-globulin, alpha uterine protein) (PAEP), transcript variant 2	31.43	1
COMP ^c	Cartilage oligomeric matrix protein	30.95	2
SLC1A1 ^c	Solute carrier family 1 (neuronal/epithelial high affinity glutamate transporter, system Xag), member 1	17.57	3
LIF ^b	Leukemia inhibitory factor (cholinergic differentiation factor)	15.03	3
TCN1 ^c	Transcobalamin I (vitamin B12-binding protein, R binder family)	14.76	1
CXCL14 ^c	Chemokine (C-X-C motif) ligand 14	14.02	2
C4BPA ^c	Complement component 4 binding protein, alpha	13.14	2
TSPAN8 ^c	Tetraspanin 8	12.90	2
LAMB3 ^c	Laminin, beta 3, transcript variant 2	11.32	1
MAOA ^c	Monoamine oxidase A, nuclear gene encoding mitochondrial protein	9.39	2
SOD2 ^c	Superoxide dismutase 2, mitochondrial, nuclear gene encoding mitochondrial protein, transcript variant 2	9.06	2
GADD45A ^c	Growth arrest and DNA damage inducible, alpha	8.25	1
MUC16	Mucin 16, cell surface associated	8.01	8
THBD ^c	Thrombomodulin	7.84	3
NNMT ^c	Nicotinamide N-methyltransferase	7.74	2
DPP4 ^{b,c}	Dipeptidylpeptidase 4 (CD26, adenosine deaminase complexing protein 2)	7.72	3
SCGB2A2 ^c	Secretoglobulin, family 2A, member 2	7.43	2
S100P ^c	S100 calcium-binding protein P	6.95	1
SNX10 ^c	Sorting nexin 10	6.56	2
CP ^c	Ceruloplasmin (ferroxidase)	6.34	2
G0S2	Putative lymphocyte G0/G1 switch gene	6.20	2
C4.4A ^c	GPI-anchored metastasis-associated protein homologue	6.03	1
ANG ^c	Angiogenin, ribonuclease, RNase A family, 5	5.98	2
ABCC3 ^c	ATP-binding cassette, subfamily C (CFTR/MRP), member 3	5.98	1
XCL1	Chemokine (C motif) ligand 1	5.80	3
ADRA2A	Adrenergic, alpha-2A, receptor	5.78	2
EFNA1	Ephrin-A1, transcript variant 1	5.77	3
KLRC1	Killer cell lectin-like receptor subfamily C, member 1, transcript variant 2	5.75	2
TAGLN ^b	Transgelin	5.71	3
SLC15A1	Solute carrier family 15 (oligopeptide transporter), member 1	5.59	2
IGFBP1	Insulin-like growth factor-binding protein 1	5.35	3
PTGER2	Prostaglandin E receptor 2 (subtype EP2), 53 kDa	5.18	2
THBS2	Thrombospondin 2	5.17	3
HPSE ^c	Heparanase	5.17	1
SERPING1 ^c	Serpin peptidase inhibitor, clade G (C1 inhibitor), member 1, (angioedema, hereditary), transcript variant 1	5.16	2
CFD ^c	D component of complement (adipsin) (DF)	5.13	2
CRISP3	Cysteine-rich secretory protein 3	5.09	1
C14orf161 ^c	Chromosome 14 open reading frame 161	5.07	2
RPRM ^c	Reprimo, TP53 dependent G2 arrest mediator candidate	5.03	3
GAST ^c	Gastrin	5.00	2
EDNRB ^{b,c}	Endothelin receptor type B, transcript variant 2	4.89	4
RARRES1	Retinoic acid receptor responder (tazarotene induced) 1, transcript variant 2	4.87	1
ABLIM3	Actin-binding LIM protein family, member 3	4.87	4
GLIPR1	GLI pathogenesis-related 1 (glioma)	4.83	2
AOX1 ^c	Aldehyde oxidase 1	4.82	2
CYP3A5	Cytochrome P450, family 3, subfamily A, polypeptide 5	4.82	3
CTSW	Cathepsin W	4.78	3
DHRS3	Dehydrogenase/reductase (SDR family) member 3	4.72	1
MYL9	Myosin, light polypeptide 9, regulatory, transcript variant 2	4.72	3
CLU ^b	Clusterin (CLU), transcript variant 2	4.70	2
IER3	Immediate early response 3, transcript variant long	4.69	4
GPRC5C	G protein-coupled receptor, family C, group 5, member C, transcript variant 1	4.69	6
C3	Complement component 3	4.67	3

Diaz-Gimeno. Customized array for endometrial receptivity. *Fertil Steril* 2011.