



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine (UFM)  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية **Département Biochimie et Biologie Moléculaire et Cellulaire**

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : Physiologie Cellulaire et Physiopathologie (PCPP)**

Intitulé :

---

# **Les facteurs de réussite du transfert d'embryons congelés par vitrification**

---

**Présenté et soutenu par : MECHTRI Yasmine**

**le 21 / 09 / 2021**

**Jury d'évaluation :**

**Présidente :** ROUABAH. Laila (Professeur- UFM Constantine1).

**Encadrante :** OUNIS. Leyla (MCB - Constantine 1)

**Co-encadrant :** ZOGHMAR. Abdelali (MA - CCSH Ibn rochd, Constantine)

**Examinatrice :** DAHMANI. D Ines (UFM - Constantine 1).

**Année universitaire : 2020 - 2021**

## **REMERCIEMENTS**

A « Allah », le tout puissant, qui m'a accordé le courage et la patience pour élaborer ce modeste travail.

### **Je remercie affectueusement :**

Madame « OUNIS Leyla MCB à l'Université Mentouri Constantine ». Pour l'encadrement, pour sa gentillesse, et l'attention que vous avez toujours su porter à mon égard. Merci pour toutes les connaissances que vous m'avez apportées, et pour me guider, encourager, conseiller et pour m'aider à trouver des solutions pour avancer, mais surtout de votre patience sans limite avec moi.

Soyez assurée de l'expression de mon profond respect et tous mes remerciements.

A Monsieur le Docteur ZOGHMAR Abdelali « médecin en biologie de la reproduction au centre Ibn Rochd Constantine » qui m'avez fait l'honneur d'accepter de m'encadrer. Pour m'avoir donné ce sujet, pour le temps qu'il m'a accordé. De m'avoir orienté, de m'avoir m'aidé et d'avoir été très patient avec moi. Je tiens à vous remercier, pour toutes les connaissances que vous m'avez apportées, pour vos qualités humaines, votre modestie, votre contact facile, vos remarques pertinentes, votre extrême gentillesse et tous les conseils dont j'ai pu bénéficier pendant ces mois, que j'ai l'opportunité de passer à vos côtés.

J'adresse mes vifs remerciements au Dr. Benbouhedja le directeur de la clinique Ibn Rochd qui m'a autorisé à réaliser ce travail au sein de la clinique.

Soyez assuré de l'expression de mon profond respect et tous mes remerciements.

Mes sincères remerciements et ma gratitude vont aussi à « Pr ROUABAH Laila » d'avoir accepté de juger ce travail et d'en présider le jury.

Au membre du jury Mme « DAHMANI Ines », pour l'honneur que vous me faites d'assister à la présentation de ce travail.

Veillez trouver ici l'expression de mes sincères reconnaissances

## Dédicace

♥Ma mère « Fatiha »♥

♥Mon père « Youcef »♥

Maman Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

♥Mes sœurs « louiza, Imene, Sara » et mon frère « Ahmed, et son petit-fils Yahiya, Zahra » ♥

♥A mes chères amies, Mira, Sandra, kenza, Zineb, Bisma, khawla, je vous remercie pour tous les moments formidables passés avec vous♥

♥Je remercie mon binôme « khawla Aimeur » ♥

De même :

Je remercie tous les enseignants de notre spécialité PCPP notamment Mme « ZEGHDAR Moufida », ainsi que toute l'équipe de la clinique de Ibn Rochd, centre de PMA, merci pour votre accueil et votre aide, notamment « Housseem Eddine Milat ».

En fin je remercie toutes les personnes qui ont participés de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

## **Résumé :**

**Contexte et objectif :** La cryoconservation d'embryons avec transfert d'embryons congelés-décongelés (TEC) après l'utilisation de la technique de vitrification, est devenu un élément essentiel des techniques de PMA, l'objectif de notre travail est d'étudier les facteurs de réussite du TEC.

**Matériel et méthodes :** Il s'agit d'une étude rétrospective menée sur 181 patientes qui ont fait un TEC après vitrification entre 2015 et 2020 dans le centre de PMA la clinique Ibn Rochd Constantine. Les critères étudiés sont : l'âge, le taux de progestérone, la culture 24 h, la préparation de l'endomètre, le jour du transfert, le nombre d'embryons transférés, la durée de cryoconservation, le nombre de blastomères lysés par embryons clivés.

**Résultats :** Nos résultats montrent que les facteurs ayant un impact sur les résultats du TEC sont l'âge, la culture 24 h, le nombre d'embryons transférés, le nombre de blastomères lysés par embryons clivés. Les grossesses chez les femmes ayant un âge inférieur à 35 ans dépassent significativement les autres catégories ( $p < 0,05$ ). L'âge est un facteur décisif lors d'un transfert d'embryon frais et congelés. Le protocole optimal de préparation endométriale n'est pas déterminé, il n'y avait pas de différence significative dans le taux de grossesse. Cependant le cycle naturel a donné des résultats positifs plus élevés par rapport au cycle de THS dans le TEC (33,3% vs 19,4%). Le transfert de deux embryons ou 3 embryons était associé à un meilleur taux de grossesse que le transfert mono-embryonnaire ( $p < 0,05$ ), et le transfert de blastocyste restera toujours une option favorable et prometteuse en TEC en comparaison avec le stade clivé (23,5% vs 21,5) et si le taux de progestérone le jour du transfert est inférieur ou égale au seuil de 8 ng/ml, il est préférable d'annuler le cycle de transfert. Le transfert d'embryons avec des blastomères entièrement intacts est associé à des taux de conception plus élevés que les embryons avec des blastomères lysés ( $p \leq 0,05$ ). Ainsi que les embryons qui ont fait over night culture donnent un taux de grossesse plus élevé que les embryons qui n'ont pas fait (100% vs 19,2%) ( $p < 0,001$ ), et la durée de cryoconservation n'influence pas sur le taux de grossesse.

**Conclusion :** Les résultats trouvés témoignent le succès des résultats après TEC. La vitrification permet aujourd'hui d'avoir des résultats voisins de ceux obtenus en transfert frais.

**Mots clés :** L'infertilité, PMA, la vitrification, transfert d'embryons congelés, la progestérone, la lyse.

## **Abstract:**

**Context and objective:** The cryopreservation of embryos with transfer of frozen-thawed embryos (FTE) after the use of the vitrification technique, has become an essential element of the techniques of ART, the objective of our work is to study the success factors of FTE.

**Material and methods:** This is a retrospective study carried out on 181 patients who underwent TEC after vitrification between 2015 and 2020 in the assisted reproduction center, Ibn Rochd Constantine clinic. The criteria studied are: age, progesterone level, and 24-hour culture, and endometrial preparation, day of transfer, number of embryos transferred, and duration of cryopreservation, the number of blastomeres lysed per cleaved embryos.

**Results:** Our results show that the factors having an impact on the results of the TEC are age, 24 h culture, the number of embryos transferred, the number of blastomeres lysed per cleaved embryos. Pregnancies among women under 35 years of age significantly exceed other categories ( $p < 0.05$ ). Age is a deciding factor when transferring fresh and frozen embryos. The optimal protocol for endometrial preparation has not been determined; there was no significant difference in the pregnancy rate. However the natural cycle gave higher positive results compared to the HRT cycle in TEC (33.3% vs. 19.4%). The transfer of two embryos or 3 embryos was associated with a better pregnancy rate than the mono-embryo transfer ( $p < 0.05$ ), and the blastocyst transfer will always remain a favorable and promising option in TEC compared to the cleaved stage. (23.5% vs 21.5) and if the progesterone level on the day of transfer is less than or equal to the threshold of 8 ng / ml, it is preferable to cancel the transfer cycle. Transfer of embryos with fully intact blastomers is associated with higher conception rates than embryos with lysed blastomers ( $p \leq 0.05$ ). As well as the embryos which made over night culture give a higher pregnancy rate than the embryos which did not (100% vs 19.2%) ( $p < 0.001$ ), and the duration of cryopreservation does not influence on the pregnancy rate.

**Conclusion:** The results found testify to the success of the results after TEC. The vitrification today makes it possible to have results similar to those obtained in fresh transfer.

**Key words:** Infertility, PMA, the vitrification, frozen Embryo transfer, progesterone, lysis.

## المخلص:

**السياق والهدف :** أصبح حفظ الأجنة بالتبريد مع نقل الأجنة المجمدة المذابة بعد استخدام تقنية التزجيج عنصرًا أساسيًا في تقنيات الإنجاب بمساعدة طبية، والهدف من عملنا هو دراسة عوامل نجاح نقل الأجنة المجمدة المذابة .

**المواد والطرق :** هذه دراسة بأثر رجعي أجريت على 181 مريضًا خضعوا لعملية التزجيج بين 2015 و 2020 في مركز المساعدة على الإنجاب، عيادة ابن رشد قسنطينة. المعايير المدروسة هي : العمر، مستوى البروجسترون، الزرع على مدار 24 ساعة، تحضير بطانة الرحم، يوم النقل، عدد الأجنة المنقولة، مدة الحفظ بالتبريد، عدد المتفجرات المفسدة لكل أجنة مشقوفة.

**النتائج :** تظهر نتائجنا أن العوامل التي لها تأثير على نتائج نقل الأجنة المجمدة المذابة هي العمر، و ثقافة 24 ساعة، وعدد الأجنة المنقولة، وعدد المتفجرات المفسدة لكل أجنة مشقوفة. يتجاوز الحمل عند النساء دون سن 35 عامًا الفئات الأخرى بشكل كبير ( $P < 0.05$ ). العمر هو العامل الحاسم عند نقل الأجنة الطازجة والمجمدة. لم يتم تحديد البروتوكول الأمثل لتحضير بطانة الرحم، ولم يكن هناك فرق كبير في معدل الحمل. لكن الدورة الطبيعية أعطت نتائج إيجابية أعلى مقارنة بدورة العلاج التعويضي بالهرمونات في (33.3% مقابل 19.4%). ارتبط نقل جنينين أو 3 أجنة بمعدل حمل أفضل من نقل الجنين الفردي ( $p < 0.05$ )، وسيظل نقل الكيسة الأريمية دائمًا خيارًا مناسبًا وواعدًا في نقل الأجنة المجمدة مقارنة بمرحلة الانقسام (23,5% مقابل 21,5%) وإذا كان مستوى البروجسترون في يوم النقل أقل من أو يساوي عتبة 8 نانوجرام / مل، فمن الأفضل إلغاء دورة النقل. يرتبط نقل الأجنة التي تحتوي على خلايا بلاستوميرات سليمة تمامًا بمعدلات حمل أعلى من الأجنة ذات الخلايا المتفجرة المتحللة ( $p \leq 0.05$ ). وكذلك الأجنة التي يتم تربيتها ليلاً تعطي معدل حمل أعلى من الأجنة التي لم يتم تربيتها. (100% مقابل 19.2%) ( $p < 0.001$ )، وكذلك مدة الحفظ بالتبريد لا تؤثر على معدل الحمل.

**الخلاصة :** النتائج التي تم العثور عليها تشهد على نجاح النتائج بعد نقل الأجنة المجمدة المذابة. يجعل التزجيج اليوم من الممكن الحصول على نتائج مماثلة لتلك التي تم الحصول عليها في النقل الطازج.

**الكلمات الدالة :** العقم ، الإنجاب بمساعدة طبية ، التزجيج ، نقل الأجنة المجمدة ، البروجسترون، تحلل.

## **LISTE DES ABRÉVIATIONS**

ABM : Agence de la biomédecine

AMP : Assistance médicale à la procréation

CA : Cycles artificiels

CL : Congélation lente

CN : Cycles naturels

CPs : Cryo protecteurs

CCSR : Clinique de chirurgie et des sciences de la reproduction

FIV: Fécondation in vitro

FSH: Hormone folliculostimulante

GNRH : Hormone de libération des gonadotrophines hypophysaires

J : Jour

HCG : Hormone gonadotrophine chorionique

H : Heure

IA : Insémination artificielle

ICSI : Injection intra cytoplasmique de spermatozoïdes

IIC : Insémination intra-cervicale

IIU : Insémination intra-utérine

IMSI : Injection intracytolasmique de spermatozoïdes morphologiquement sélectionnés

OMS : Organisation mondiale de la santé

PMA : Procréation médicalement assistée

P4 : Progestérone

2PN: 2 pro noyaux

SHO : Syndrome d'hyperstimulation ovarienne

TEC : Transfert d'embryon congelé

THS : Traitement hormonal substitutif

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure. 1 :</b> Schéma représentatif des étapes insémination artificielle.....	7
<b>Figure. 2 :</b> Schéma représentatif de la FIV classique.....	8
<b>Figure. 3 :</b> Schéma représentatif de l'injection intra cytoplasmique de spermatozoïdes.....	8
<b>Figure. 4 :</b> Schéma représentatif de la congélation embryonnaire.....	14
<b>Figure. 5 :</b> Phases de développement embryonnaire jusqu'au stade blastocyste.....	19
<b>Figure. 6 :</b> Répartition des cas en fonction de l'âge.....	28
<b>Figure. 7 :</b> Répartition des patientes en fonction du taux de progestérone le jour du transfert.....	31
<b>Figure. 8 :</b> Distribution des patientes selon le nombre d'embryons transférés.....	32
<b>Figure. 9 :</b> Distribution des patientes selon le jour du transfert.....	33
<b>Figure. 10 :</b> Distribution des patientes selon la culture 24 h.....	34
<b>Figure. 11 :</b> Répartition des cas en fonction des résultats du TEC.....	35
<b>Figure. 12 :</b> Répartition de patientes positives en fonction du développement de grossesse.....	36
<b>Figure. 13 :</b> Répartition des naissances en fonction du nombre d'enfants.....	36



## Liste des tableaux

<b>Tableau. 1 :</b> Comparaison entre les méthodes de congélation lente et de vitrification.....	12
<b>Tableau. 2 :</b> Paramètres biologiques.....	29
<b>Tableau. 3 :</b> Répartition des patientes en fonction du type de protocole utilisé.....	29
<b>Tableau. 4 :</b> Distribution des patientes selon la durée de congélation.....	30
<b>Tableau. 5 :</b> Distribution des patientes selon le nombre de blastomères lysés par embryons clivés.....	31
<b>Tableau. 6 :</b> Répartition des patientes en fonction des résultats avant congélation.....	32
<b>Tableau. 7 :</b> Répartition des cas en fonction des résultats TEC.....	34
<b>Tableau. 8 :</b> Lien l'âge et les résultats du TEC.....	37
<b>Tableau. 9 :</b> Distribution des résultats des paramètres biologiques par tranche d'âge.....	38
<b>Tableau. 10 :</b> Lien entre les 2 protocoles et les résultats du TEC.....	40
<b>Tableau. 11 :</b> Lien entre la durée de congélation et les résultats du TEC.....	41
<b>Tableau. 12 :</b> Lien entre le taux de progestérone le jour du transfert et les résultats du TEC.....	42
<b>Tableau. 13 :</b> Lien entre le nombre d'embryons transférés et les résultats du TEC.....	43
<b>Tableau. 14 :</b> Lien entre le jour du transfert et les résultats du TEC.....	44
<b>Tableau. 15 :</b> Lien entre la culture 24 h et les résultats du TEC.....	45
<b>Tableau. 16 :</b> Lien entre le nombre de blastomères lysés par embryons clivés et les résultats du TEC.....	46

## Table des matières

REMERCIEMENTS ET DÉDICACES

LISTE DES ABRÉVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

RESUME

INTRODUCTION.....	1
Analyse bibliographique	
I. Généralités.....	4
I.1 Notion et concepts d'infertilité.....	4
I.2 Causes d'infertilité féminine.....	4
I.2.1 Les troubles hormonaux.....	4
I.2.2 Les troubles morphologiques.....	5
I.2.2.1 Les anomalies tubaires.....	5
I.2.2.2 Les anomalies utérines.....	5
I.2.3 L'endométriose.....	5
I.2.4 Les infections.....	5
I.2.5 Les fausses couches à répétition.....	5
II. La procréation médicalement assistée.....	6
II.1 Les différentes techniques de la PMA.....	6
II.1.1 Insémination artificielle.....	6
II.2.2 La Fécondation in vitro .....	7
II.2.2.1 FIV conventionnelle (classique).....	7
II.2.2.2 FIV - ICSI (injection intra cytoplasmique de spermatozoïdes).....	8
II.2.2.3 FIV IMSI.....	9
II.2 Embryon surnuméraires.....	9
III. Transfert d'embryons congelés .....	10
3.1 Historique de la cryoconservation.....	10
3.2 Principe de la cryoconservation.....	10
3.2.1 La congélation lente.....	11

3.2.2 La vitrification.....	11
3.2.2.1 Techniques de la vitrification.....	13
3.3 L'importance de la congélation embryonnaire dans le parcours de PMA.....	14
IV. Les facteurs influençant les résultats du transfert d'embryons congelés.....	15
5.1 L'âge de la femme.....	15
5.2 Taux de progestérone le jour du transfert.....	15
5.3 La préparation endométrial.....	16
5.4 La qualité embryonnaire.....	17
5.5 Le choix du stade de congélation embryonnaire .....	18

## La partie Pratique

### Matériel et Méthodes

1. Population cible.....	21
2. Critères d'inclusion.....	21
3. Critères d'exclusion.....	21
4. Recueil des données.....	21
5. Techniques de PMA.....	21
5.1 Technique d'ICSI.....	22
5.2 Technique de la vitrification.....	24
6. Etude statistique.....	26

### RESULTATS

1. Répartition des cas en fonction de l'âge.....	28
2. Résultats du TEC.....	28
3. Répartition des patientes en fonction du type de protocole utilisé.....	29
4. Répartition des patientes selon la durée de congélation.....	30
5. Répartition des patientes en fonction du taux de progestérone le jour du transfert.....	30
6. Répartition des patientes selon le nombre de blastomères lysés par embryons clivés et les résultats du TEC.....	31
7. Répartition des patientes en fonction des résultats avant congélation (frais).....	32
8. Distribution des patientes selon le nombre d'embryons transférés.....	32

9.	Distribution des patientes selon le jour du transfert après décongélation.....	33
10.	Distribution des patientes selon la culture 24 heure .....	33
11.	Répartition de la population selon les résultats du transfert d'embryons congelés.....	34
12.	Répartition des résultats positifs en fonction du développement de grossesse.....	35
13.	Répartition des naissances en fonction du nombre d'enfants.....	36
14.	Lien entre l'âge et les résultats du TEC.....	37
15.	Distribution les résultats des paramètres biologiques par tranches d'âge.....	38
16.	Lien entre les 2 protocoles et les résultats du TEC.....	40
17.	Lien entre la durée de congélation et les résultats du TEC.....	40
18.	Lien entre le taux de progestérone le jour de transfert et les résultats du TEC.....	41
19.	Lien entre le nombre d'embryons transférés et les résultats du TEC.....	42
20.	Lien entre le jour du transfert et les résultats du TEC.....	43
21.	Lien entre la culture 24 heure transférés et les résultats du TEC.....	45
22.	Lien entre le nombre de blastomères lysés par embryons clivés et les résultats du TEC.....	46

DISCUSSION

CONCLUSION

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

# **INTRODUCTION**

Dans de nombreuses cultures, le désir de se reproduire et d'avoir un enfant a de nombreuses explications dans le domaine social, émotionnel et biologique. Pour la plupart des personnes, le mariage et la naissance d'un enfant sont considérés comme un besoin humain inné, et quand ces désirs et besoins ne sont pas satisfaits, ils finissent par être source de stress, détresse de mépris, et désordre mental et psychologique.

L'infertilité est la difficulté de la procréation, qui est influencée par des nombreux facteurs (biologiques) qui peuvent affecter les hommes, les femmes ou les deux partenaires, l'infertilité est un problème de couple, qui souhaitent procréer et qui n'arrivent pas à concevoir un enfant au bout d'une année de rapport sexuels non protégés (Zegers-Hochschild et al., 2009). Selon les inquiétudes nationales menées par le ministère de la santé de la population et de la réforme hospitalière entre 1992 et 2002, l'Algérie compte plus de 300.00 couples souffrant d'infertilité, soit une proportion de 7 % des couples. En 2010 l'organisation mondiale de la santé (OMS) a estimé que 48,5 millions des couples dans le monde étaient infertiles, avec une prévalence croissante due à une population mondiale croissante.

La procréation assure le renouvellement de l'humanité ainsi que sa pérennité, elle est donc source de vie, la pratique de la procréation médicalement assistée (PMA) est un ensemble de techniques qui permettent de pallier aux difficultés à concevoir, elle remédie aux difficultés de rencontre entre le spermatozoïde et l'ovocyte sans nécessairement traiter la cause. En France en 2013 on dénombrait 23651 enfants nés grâce à l'AMP soit environ 2,9 % des naissances, selon l'agence de la biomédecine (ABM), la part des naissances issues de ces techniques ne cessera d'augmenter et environ 1 couple sur 10 aura recours à l'AMP.

Parmi les techniques d'AMP, la fécondation in vitro (FIV) classique et la micro-injection intra cytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI), ces 2 techniques permettent d'obtenir une FIV au laboratoire et d'aboutir à la formation en culture. Cependant, un certain nombre de problèmes persistent. Par ailleurs, le problème des grossesses multiples induites par l'AMP.

Le transfert embryonnaire est un des gestes fondamentaux de la prise en charge en AMP, étape de désir un enfant pour de nombreux couples, d'autres techniques permettent de la cryoconservation des embryons surnuméraires viables pour leur utilisation lors d'un prochain cycle se sont la congélation lente et la vitrification. De nombreuses études comparant ces deux

techniques rapportent une supériorité de la vitrification en ce qui concerne le taux de survie embryonnaire après décongélation (Nagy et al., 2020).

Cette technique augmente les chances cumulatives de grossesse par cycle FIV-ICSI, lorsque le transfert en frais aura échoué, ou aura été différé ou en cas de succès de celle-ci. La vitrification donne la possibilité de mettre en route un nouveau transfert sans repasser par l'étape stimulation – ponction. En 2013, 16 % des naissances liées à l'AMP sont issues d'une cryoconservation selon l'Agence de biomédecine avec des efforts récents pour réduire les taux de naissances multiples après la procréation assistée.

La pratique du transfert d'embryon congelé (TEC) s'est accrue pendant la dernière décennie : il y a aujourd'hui plus du TEC que de transfert frais (Calhaz-Jorge et al., 2017). Cette augmentation est consécutive à la meilleure survie embryonnaire grâce au processus de vitrification des embryons (Sifer., 2014). Il existe plusieurs facteurs qui peuvent influencer les résultats du TEC après réchauffement tels que l'âge de la femme, le taux de progestérone, le taux de survie de blastomères après décongélation, la préparation endométriale, le jour de transfert. C'est dans cet objectif qu'on a proposé d'étudier les facteurs de réussite du transfert d'embryon congelé décongelé au sein d'une population de l'Est Algérien.

# **ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE**



## **I. Généralités**

### **I.1. Notion et concepts d'infertilité :**

La fertilité est définie comme l'aptitude à concevoir. Un individu ou un couple est donc dit fertile s'il est apte à obtenir une grossesse. Dans le cas contraire, on parle d'infertilité: c'est l'incapacité à procréer. L'organisation mondiale de la santé (OMS) a définie l'infertilité comme l'incapacité d'un couple à procréer ou à mener une grossesse à terme après un an ou plus de rapports sexuels réguliers et non protégés (Ben Rhouma et al., 2019).

L'infertilité peut être primaire ou secondaire : elle est primaire en absence de grossesse après un minimum d'un an de rapports sexuels non protégés chez une femme qui n'a jamais eu d'enfants, et secondaire si cette femme a déjà eu une ou plusieurs grossesses.

L'infertilité représente un réel problème de santé publique et elle est considérée comme une pathologie à part entière. De nos jours, 10-15% des couples ont des difficultés à procréer, l'aptitude à procréer dépend du bon fonctionnement coordonné des systèmes reproducteurs masculin et féminin. Différentes causes peuvent être à l'origine de cette incapacité à procréer : des troubles endocriniens, des maladies infectieuses, des obstructions du tractus génital, un défaut de la gamétogenèse féminine ou masculine, des défauts d'implantation, des problèmes d'érection ou d'éjaculation, des études ont aussi montré que l'environnement et le mode de vie pouvaient affecter la fertilité (Ben Rhouma et al., 2019).

### **I.2. Causes d'infertilité féminine :**

#### **I.2.1. Les troubles hormonaux**

Les causes les plus fréquentes d'infertilité d'origine féminine sont l'absence (anovulation) ou les troubles de l'ovulation (dysovulation) qui se traduisent par l'absence de production d'un ovocyte fécondable. Ce diagnostic est évoqué devant des règles absentes (aménorrhée) ou irrégulières. Les principales origines sont soit ovariennes (ovaires poly kystiques ou insuffisance ovarienne), elles sont dites périphériques, soit hypothalamo-hypophysaires, dues à une anomalie de sécrétion hormonale, elles sont alors dites centrales (Lévy-dutel et al., 2015).

### **I.2.2. Les troubles morphologiques**

#### **I.2.2.1. Les anomalies tubaires**

Les trompes peuvent être obturées ou altérées, ce qui va empêcher la rencontre de l'ovocyte et des spermatozoïdes. L'obstruction tubaire peut être la conséquence d'infections sexuellement transmissibles, en particulier les infections à *Chlamydia*, d'une malformation congénitale.

#### **I.2.2.2. Les anomalies utérines**

La cavité utérine est le lieu d'implantation de l'embryon. Les pathologies utérines qui peuvent gêner l'implantation sont le myome, le polype, l'endométrite (infection de l'endomètre), les malformations utérines acquises ou congénitales (cloison utérines, synéchie) (Lévy-dutel et al., 2015).

#### **I.2.3. L'endométriase**

L'endométriase est une maladie gynécologique caractérisée par des localisations anormales de la muqueuse utérine hors de l'utérus, dans les ovaires, les trompes ou la cavité péritonéale (Koch et al., 2012).

#### **I.2.4. Les infections**

Certaines infections interfèrent avec la fertilité féminine. Le germe le plus fréquent est la *Chlamydia*. Cette bactérie peut favoriser par exemple l'obstruction d'une ou des deux trompes tubaires, une endométrite (infection de la paroi utérine) responsable de fausses couches ou d'autres troubles de l'implantation du futur embryon (Lévy-dutel et al., 2015).

#### **I.2.5. Les fausses couches à répétition**

La fausse couche constitue la complication la plus courante de la grossesse (10 à 15 %). Elle se définit par l'arrêt spontané du développement embryonnaire ou fœtal. 80 % des fausses couches ont lieu avant la fin du premier trimestre : plus la grossesse évolue, plus le risque de fausse couche diminue (Lévy-dutel et al., 2015).

## **II. La procréation médicalement assistée :**

L'infertilité est un problème de santé mondial qui touche environ 15 % des couples dans le monde. Cependant, moins de 55 % de ces couples touchés demandent une assistance médicale (Brás de Guimarães et al., 2020).

A l'origine, les techniques d'assistance médicale à la procréation ont été développées dans le but de remédier à une infertilité médicalement constatée (Mollard., 2017), redonne l'espoir aux couples qui ne peuvent procréer naturellement (Allard et al., 2007). Les pratiques d'assistance médicale à la procréation (AMP) recouvrent l'ensemble des techniques cliniques et biologiques d'aide à la procréation qui nécessitent la manipulation d'au moins l'un des deux gamètes, il s'agit soit de la manipulation des spermatozoïdes de l'homme, on évoque alors les pratiques d'insémination artificielle (IA), soit de la manipulation des spermatozoïdes de l'homme et des ovocytes de la femme in vitro (FIV) avec ou sans assistance à la fécondation injection intra cytoplasmique de spermatozoïde (ICSI) (Royère et al., 2011).

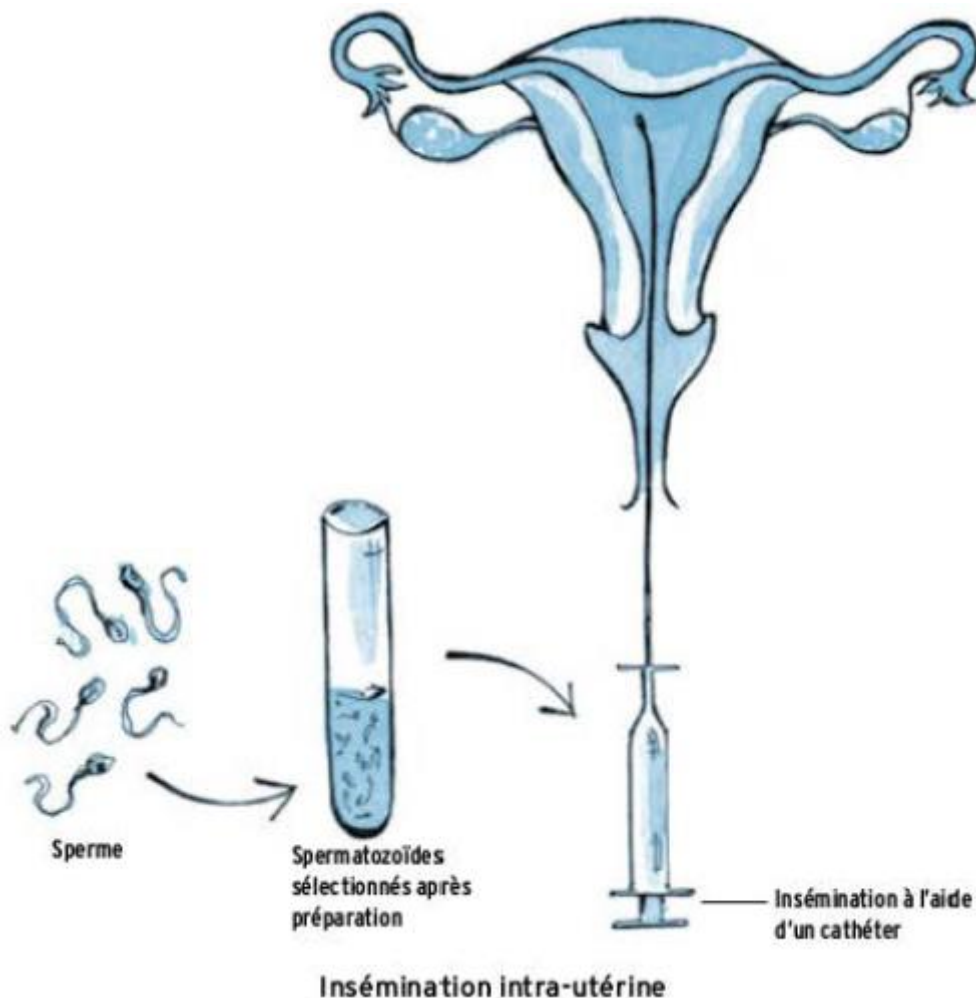
### **II.1. Les différentes techniques de la PMA :**

#### **II.1.1. L'insémination artificielle :**

C'est la technique La plus ancienne des techniques d'AMP. Elle consiste à introduire des spermatozoïdes à l'intérieur des voies génitales féminines, pour faciliter la rencontre des gamètes mâles et femelles. Elle se divise en deux :

Insémination intra-cervicale(IIC): le sperme est placé dans le col de l'utérus.

Insémination intra-utérine (IIU): consiste à déposer des spermatozoïdes mobiles du conjoint directement dans l'utérus à l'aide d'un cathéter (Lévy-dutel et al., 2015).



**Figure. 1** : Schéma représentatif des étapes insémination artificielle(Lévy-dutel et al., 2015)

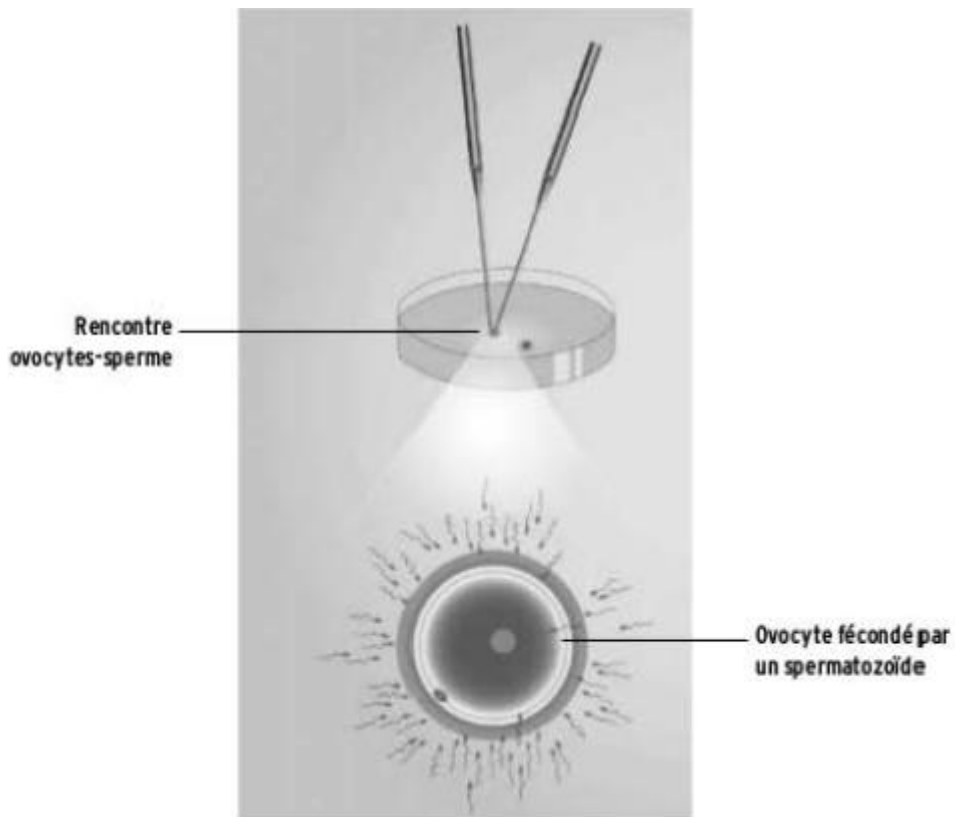
## II.2.2. La Fécondation in vitro (FIV) :

La FIV reproduit en laboratoire la fécondation et les premières étapes du développement embryonnaire, découpent schématiquement le processus de FIV en quatre étapes successives : la stimulation ovarienne, le recueil des gamètes, avec notamment la ponction ovocytaire, la FIV à proprement parler et le transfert embryonnaire dans l'utérus (Allard et al., 2007).

### II.2.2.1. FIV conventionnelle (classique) :

Qui consiste à pratiquer une fécondation, ou plus au moins une rencontre des spermatozoïdes et de l'ovule, in vitro, donc en dehors des voies génitales de la femme.

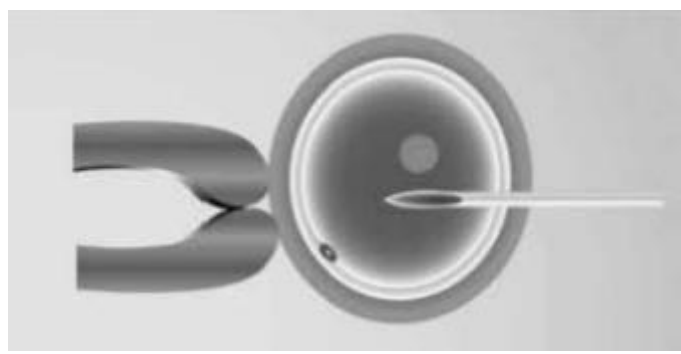
Louise Brown, le premier bébé-éprouvette au monde, est née le 25 juillet 1978, en Grande-Bretagne (Steptoe et al., 1978).



**Figure. 2 :** Schéma représentatif de la FIV classique (Lévy-dutel et al., 2015)

#### II.2.2.2. FIV- ICSI (injection intra cytoplasmique de spermatozoïdes) :

Un seul spermatozoïde est injecté directement dans l'œuf, le choix est généralement basé sur les paramètres du sperme, aujourd'hui environ 70% des tentatives de FIV sont faites par ICSI (Chapuis et al., 2017), (Kupka et al., 2016).



**Figure. 3 :** Schéma représentatif de l'injection intra cytoplasmique de spermatozoïdes (Lévy-dutel et al., 2015)

### **II.2.2.3. FIV-IMSI :(Injection intracytoplasmique de spermatozoïdes morphologiquement sélectionnés)**

Pour la technique d'ICSI, une préparation de spermatozoïdes après, un grossissement optique de 200x à 400x est utilisé pour examiner l'échantillon. Les meilleurs spermatozoïdes mobiles « d'apparence normale » sont sélectionnés en fonction de leur morphologie majeure, puis injectés dans les ovocytes récupérés après stimulation ovarienne. Cependant, les taux de naissances vivantes restent faibles, ce qui peut justifier la recherche de nouvelles interventions pour améliorer les résultats. Au début des années 2000, une alternative à l'approche de la sélection des spermatozoïdes a été décrite. Cette technique nécessite l'analyse de critères morphologiques mineurs utilisant la microscopie à très fort grossissement ( $\geq 6000x$ ) (Teixeira et al., 2020).

## **II.2. Embryons surnuméraires :**

Le nombre d'embryons ou de blastocystes obtenus peut être supérieur au nombre d'embryons ou de blastocystes transférés. Les embryons ou les blastocystes non transférés dits « surnuméraires » sont alors congelés (Cryo conservés) avec l'accord du couple, pour une prochaine utilisation. Le protocole de préparation de l'utérus pour un transfert d'embryons ou de blastocystes congelés est plus simple qu'un protocole de FIV (Lévy-dutel et al., 2015). La comparaison entre le transfert frais et congelé à J2/J3 versus J5/J6 a fait l'objet de nombreuses études qui vont toutes dans le même sens: le transfert au stade blastocyste permet d'obtenir des taux d'implantation, de grossesses cliniques et d'accouchements significativement plus importants (Papanikolaou et al., 2006), (Glujovsky D et al., 2013).

### **III. Transfert d'embryons congelés :**

#### **III.1. Histoire de la cryoconservation :**

La cryoconservation, c'est-à-dire la conservation du matériel biologique à très basse température, englobe deux méthodes principales : la congélation lente et la vitrification.

Les premières observations de la vitrification ont été faites il y a seulement environ 200 ans par le scientifique français Joseph Louis Gay-Lussac, en 1938, près d'un siècle plus tard, Luyet et Hodapp ont publié le premier rapport sur la cryoconservation réussie des spermatozoïdes de souris, réalisée par vitrification (Luyet and Hodapp, 1938). En 1949, Christopher Polge, Audrey Smith et Alan Parkes, tout en essayant de reproduire les résultats de Luyet et Hodapp avec du sperme de volaille, ont accidentellement découvert la propriété Cryo protectrice du glycérol et ont ainsi ouvert le champ de la congélation lente tout en écartant (excluant) la vitrification. En effet, la congélation lente a si bien réussi à congeler le sperme, ce qui a donné naissance au premier bébé humain à l'aide de spermatozoïdes congelés décongelés en 1953 par Sherman et Bunge. Cependant, les embryons et les ovocytes étaient plus difficiles. En 1972, Whittingham, Leibo et Mazur ont publié la première survie d'embryons de souris produisant une progéniture vivante. Depuis lors, des dizaines des espèces ont été Cryo conservées avec succès par la congélation lente, plus tard en 1983 Trounson et Moher en Australie ont signalé la naissance d'un embryon humain congelé « Zoé » (Trounson and Mohr, 1983). La vitrification a été éclipsée par le succès de la congélation lente jusqu'en 1985. Il n'a été appliqué cliniquement que récemment. La vitrification donne actuellement des résultats très satisfaisants. Lorsque la première vitrification réussie d'embryons de rat a été réalisée par Rall et Fahey. La vitrification a émergé dans le domaine de l'AMP dans les années 1990 comme alternative à la congélation lente. Actuellement, la vitrification donne des résultats très satisfaisants (Arav and Natan, 2019).

#### **III.2. Principe de la cryoconservation :**

La cryoconservation doit permettre le ralentissement, voire l'arrêt réversible de tous les phénomènes biologiques. À des températures inférieures à -150 °C, les mouvements moléculaires sont très réduits, les réactions enzymatiques inhibées : « le temps cellulaire est suspendu » mais, l'eau, constituant majeur des cellules, passe d'une phase liquide à une phase solide et ces transitions peuvent détruire les cellules, soit à cause de la formation de cristaux de glace acérés, soit à cause de perturbations osmotiques (Royère et al., 2011).

Les processus de cryoconservation sont généralement regroupés dans les types suivants: la congélation lente et la vitrification (Jang et al., 2017).

### **III.2.1. La congélation lente (CL) :**

#### **Le principe :**

Permet la cryoconservation à une vitesse lente, cette technique consiste en une déshydratation lente et progressive de l'embryon, à température ambiante, par l'utilisation de Cryo protecteurs à faibles concentrations et par l'application d'une descente en température lente et contrôlée (l'utilisation d'une machine de congélation programmable conçue pour fournir des paramètres de refroidissement précis et cohérents) (Mazur, 1970).

Les résultats en termes de taux de survie, de développement embryonnaire, de grossesse et d'accouchement par cette méthode sont satisfaisants mais restent significativement inférieurs à ceux obtenus en vitrification (AbdelHafez et al., 2010).

Avec l'utilisation de la congélation ultra rapide (vitrification), cette technique n'est pratiquement plus utilisée en AMP (Anav et al., 2018).

### **III.2.2. La vitrification :**

Le terme « vitrification » littéralement « transformé en verre » est défini comme le passage d'un l'état liquide vers un état vitreux/ solide (Pegg., 2005).

La vitrification est un processus ultrarapide dans lequel un échantillon (un embryon) se solidifie sans formation de cristaux de glace, entraînant ainsi un état amorphe vitreux après l'exposition à l'azote liquide de -196°C (Arav and Patrizio., 2019). Elle nécessite l'utilisation de concentrations initiales élevées de Cryo protecteurs (CPs), de faibles volumes et de vitesses de refroidissement-réchauffement ultra-rapides (Rienzi et al., 2016).

La vitrification est la solidification d'une solution à très basse température sans formation de cristaux. Cet état amorphe ou vitrifié est obtenu grâce à la combinaison de CPs en concentration élevée associée à une vitesse de refroidissement extrêmement rapide (2 000 °C/min à 20 000 °C/min) (Vanderzwalmen et al., 2006).

Les résultats des expériences réalisées dans différents laboratoires ont montré que les embryons vitrifiés au stade précoce du développement (zygote, embryon J2-J3, et blastocyste) résistent mieux au processus de congélation/décongélation que ceux ayant été congelés par



congélation lente (CL). Ainsi, après vitrification et réchauffement, ils ont retrouvé d'avantage d'embryons intacts qu'avec la CL, expliquant ainsi une augmentation significative du nombre de grossesses après vitrification (Al-Hasani et al., 2007), (Sifer et al., 2012), (Li et al., 2014).

Les principaux facteurs qui influencent les probabilités de vitrification sont les suivantes:

- Volume de l'échantillon: plus le volume est bas, plus les chances de vitrification sont grandes.
- Taux de refroidissement: à mesure que le taux de refroidissement augmente, la chance pour que la glace se transforme en gros cristaux diminue.
- Viscosité de l'échantillon: plus la viscosité de l'échantillon est élevée, plus les chances d'éviter la cristallisation de la glace sont élevées (Arav and Patrizio., 2019).

Combinant ces trois facteurs peuvent aboutir aux équation de la probabilité de vitrification: (Saragusty and Arav., 2011).

$$\text{Probabilité de vitrification} = \text{Vitesse de refroidissement} \times \text{Viscosité} / \text{Volume}$$

**Tableau. 1** : Comparaison entre les méthodes de congélation lente et de vitrification (Jang et al., 2017)

Caractéristique	Procédure	
	Congélation lente	Vitrification
Temps de travail	Plus de 3 h	Rapide, moins de 15 min
Coût	Nécessite une machine de congélation coûteuse	Pas cher, aucune machine spéciale n'est nécessaire
Concentration de CPA	Faible	Haute
Risque de gel, y compris la formation de cristaux de glace	Haute	Faible
Viabilité après le dégel	Haute	Haute
Risque de toxicité du CP	Faible	Haute
État du système	Système fermé uniquement	Système ouvert ou fermé

### **III.2.2.1. Techniques de la vitrification :**

Les techniques de vitrification peuvent-être classées en deux grandes catégories :

#### **A. Système ouvert :**

Les systèmes ouverts ont été les premiers développés, l'échantillon à vitrifier est directement en contact avec l'azote liquide. Ces vitesses extrêmement importantes de refroidissement permettent d'utiliser des concentrations en Cryo protecteurs moins importantes. Néanmoins, la mise en contact direct de l'échantillon avec l'azote liquide pose le problème de la contamination de cet échantillon (Maris et al., 2019), cette méthode est caractérisée par graves inconvénients (Gullo et al., 2020), l'azote liquide utilisé pour le stockage de ces échantillons n'étant pas stérile, (Maris et al., 2019), ce dernier pouvant contenir différents microbes et virus (Anav et al., 2018), et il existe donc un risque théorique de contamination directe ou croisée par d'autres échantillons stockés ensemble. Toutefois, à ce jour aucune contamination n'a été rapportée dans des conditions normales de fonctionnement. Afin de remédier à ce risque de contamination, plusieurs solutions ont été proposées: utilisation d'azote liquide stérile, utilisation de vapeur d'azote ou encore stérilisation par rayons ultra-violets. Les surcoûts importants liés à ces alternatives ont favorisé le développement des systèmes de vitrification fermés (Maris et al., 2019).

#### **B. Système fermé :**

L'embryon est placé dans une paillette avant d'être plongé dans l'azote liquide afin de s'affranchir du potentiel risque de contamination avec les systèmes ouverts, les systèmes fermés présentant une sécurité sanitaire plus importante du fait d'un contact indirect entre l'azote liquide et l'échantillon biologique à congeler (Sifer., 2014).



**Figure. 4 :** Conservation des paillettes de spermatozoïdes et d'embryons congelés dans l'azote liquide. CECOS (centre d'étude et de conservation des œufs et du sperme) du CHU de Bordeaux

### **III.3. l'importance de la congélation embryonnaire dans le parcours d'Assistance Médicale à la Procréation :**

Les deux principales complications de l'AMP sont les risques de grossesses multiples et le syndrome d'hyperstimulation ovarienne (SHO).

Grâce à l'AMP, la cryoconservation embryonnaire a permis d'augmenter significativement le taux cumulatif de grossesses (pourcentage de grossesse après le transfert d'embryons frais + le transfert d'embryons congelés) par ponction et de limiter ainsi les grossesses multiples par les politiques du transfert d'un seul embryon (Maris et al., 2019), et le risque de SHO (en cas de suspicion de SHO, il préfèrera de différer le transfert pour le prochain cycle) (Rienzi et al., 2016).

La cryoconservation d'embryons pour la préservation de la fertilité (l'application de la FIV avant la chimiothérapie chez une femme diagnostiquée d'un cancer du sein) (Vanderzwalmen et al., 2006).

Chez les femmes en âge de procréer, la vitrification ovocytaire est l'une des techniques les plus utilisées pour préserver la fertilité lorsque la stimulation ovarienne est possible (Sarandi et al., 2016).

La congélation embryonnaire a donc pris une importance indéniable dans la qualité de la prise en charge d'un couple infertile en AMP.

#### **IV. Les Facteurs influençant les résultats du transfert d'embryons congelés :**

Différents facteurs peuvent influencer les résultats des transferts d'embryons congelés. Certains sont communs aux cycles frais (l'âge de la femme, le nombre d'embryons transférés) et d'autres sont plus spécifiques aux cycles de TEC (le choix du stade de congélation embryonnaire, la durée de congélation, les protocoles de préparation etc.).

##### **IV.1. Age de la femme :**

L'âge de la femme au moment de la ponction ovocytaire est un paramètre majeur influençant les résultats en FIV mais également lors des transferts d'embryons congelés. Selon Salumets et al., 2006 l'âge de la femme est le facteur clinique le plus important lors d'une tentative de TEC. Avec l'âge une diminution du taux de grossesse par transfert est observée. Rapportaient, dans une étude, un taux de grossesse clinique par TEC de 32 % chez les femmes âgées de moins de 33 ans contre 13 % chez celles âgées de plus de 38 ans ( $p < 0,001$ ) (Oehninger et al., 2000). De même, Wang et al., 2001 retrouvaient un taux d'implantation de 10,1 % versus 4 % respectivement chez les femmes âgées de moins de 30 ans et de plus de 40 ans (Wang et al., 2001).

##### **IV.2. Le taux de progestérone le jour du transfert :**

Le rôle primordial de la progestérone (P4) dans l'implantation et le maintien de la grossesse. Elle permet l'activation et l'expression de plusieurs gènes permettant un dialogue entre l'endomètre et l'embryon, dans le but d'être réceptif à l'implantation d'une grossesse 5 à 6 jours après l'ovulation (Acosta et al., 2000). Conformément aux fluctuations physiologiques de la P4, le taux de P4 optimale corrélée à l'amélioration des résultats de la grossesse varie tout au long des étapes du cycle du TEC. Dans la phase folliculaire tardive des cycles de TEC, des taux sériques élevés de P4 ont été associés à des taux de grossesse significativement plus faibles (Racca et al., 2018), (Lawrenz and Fatemi., 2017). Cependant, au stade mi-lutéal, des concentrations plus élevées de P4 sont préférables pour de meilleurs résultats de grossesse (Yovich et al., 2015). C'est entre ces deux étapes bien étudiées, le jour du transfert d'embryons, que la littérature sur l'existence d'un seuil P4 sérique optimale devient plus rare. Alors que des issues de grossesse plus défavorables ont déjà été associées à des niveaux de P4 plus faibles le jour du TEC (Labarta et al., 2017), (Tihomirova et al., 2018). De plus, des résultats contradictoires ont également été

démontrés, avec des niveaux de P4 supérieur à 20 ng/ml le jour du TEC étant corrélés à des taux de grossesse significativement plus faibles (Kofinas et al., 2015).

#### **IV.3. La préparation de l'endomètre :**

Les transferts d'embryons congelés-décongelés (TEC) sont de plus en plus utilisés dans les techniques de PMA. Depuis l'application de méthodes de cryoconservation plus efficaces. En conséquence, les protocoles de préparation de l'endomètre ont reçu une plus grande attention alors que les cliniciens cherchent à améliorer les résultats de la grossesse. Les cycles substitués qui incluent une préparation endométriale exogène (Le principe de la préparation endométriale par THS est de recréer artificiellement une maturation endométriale permettant l'ouverture de la fenêtre d'implantation uniquement par l'administration séquentielle exogène d'estrogènes et de progestérone, comme au cours d'un cycle menstruel), sont parfois nécessairement adoptés sur les cycles naturels pour des raisons médicales, comme dans le cas d'une anovulation ou d'un don d'ovocytes (Cédrin-Durnerin et al., 2019). Cependant, aucune différence en termes de taux de grossesses cliniques ou de naissances vivantes n'a été rapportée chez les patientes ayant subi une préparation endométriale au cours d'un cycle naturel ou stimulé ou avec un traitement hormonal substitutif (THS) (Yarali et al., 2016).

Les cliniciens préfèrent fréquemment la préparation artificielle de l'endomètre car elle facilite la programmation du transfert d'embryons (De plus, les cycles artificiels présentent des avantages pratiques par rapport aux cycles naturels et peuvent être utilisés pour faciliter un accès rapide aux TEC pour les cliniciens et les patientes) (Van der Linden et al., 2015).

L'administration séquentielle d'estrogènes est généralement commencée au début du cycle pour empêcher l'augmentation de l'inter cycle de l'hormone folliculo stimulante (FSH) et la croissance folliculaire tout en permettant la croissance de l'endomètre. Une fois que l'épaisseur de l'endomètre a atteint au moins 7 mm, la progestérone est administrée 2, 3 ou 5 jours avant le transfert d'embryon prévu, selon le stade de la cryoconservation de l'embryon. L'administration d'œstradiol et de progestérone doit être poursuivie jusqu'au déplacement lutéo-placentaire à environ 3 mois de grossesse. Bien que le corps jaune sécrète d'autres hormones que l'œstradiol et la progestérone (Paulson., 2011), ce protocole donne d'excellents résultats, notamment dans les programmes de don d'ovules.

#### **IV.4. Influence de la qualité embryonnaire :**

Il est largement démontré que les chances d'implantation des embryons congelés dépendent de leur qualité avant la congélation et du nombre de blastomères ayant survécu après la décongélation (Zhang et al., 2009).

La sélection d'embryons congelés décongelés est critique dans le cycle TEC. Le taux de survie du blastomère d'embryon après décongélation a été évalué en tant qu'indice de dommage à l'embryon (Check et al., 2009).

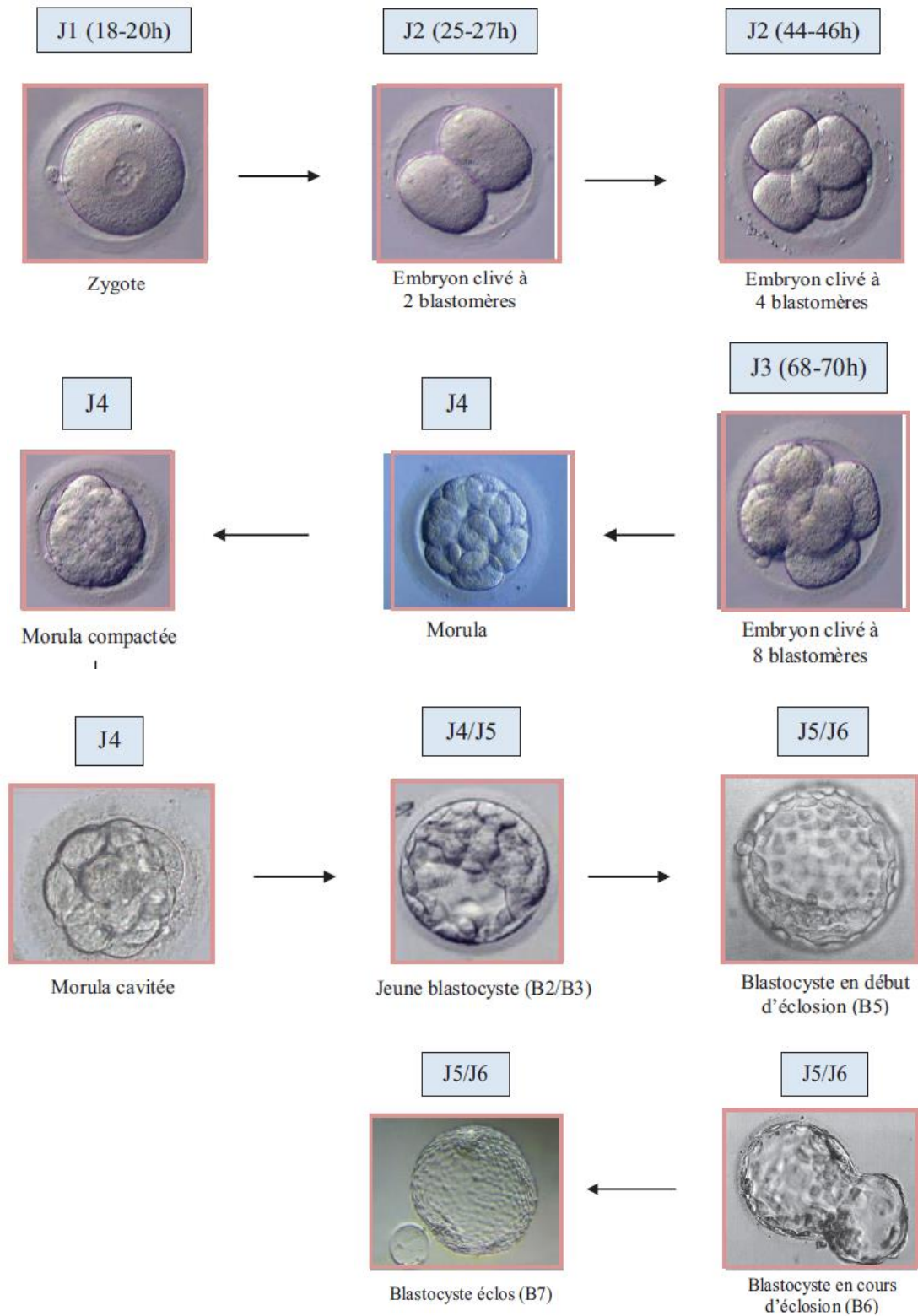
Il est bien connu que seuls certains embryons Cryo conservés restent totalement intacts après décongélation même si seuls les embryons présentant le meilleur aspect morphologique ont été congelés. D'autres embryons perdent un ou plusieurs blastomères après décongélation et sont donc qualifiés de partiellement endommagés. Les études qui ont été rapportées jusqu'à présent ont fourni des résultats contradictoires en ce qui concerne le potentiel de développement des embryons congelés et décongelés partiellement endommagés. Certains scientifiques ont rapporté que les embryons endommagés avaient la même capacité à produire des grossesses que des embryons entièrement intacts (Hartshorne et al., 1999), tandis que d'autres ont rapporté un effet délétère des dommages embryonnaires sur leur potentiel d'implantation (Burns et al., 1999), (El-Toukhy., 2003).

La vitrification (technique de congélation « ultra-rapide ») permet, par comparaison à la technique de congélation lente, d'augmenter les taux de survie embryonnaire après réchauffement (Supérieurs à 90%), et par conséquent les chances de grossesse (Son et al., 2009), (Loutradi et al., 2008). Cette amélioration des techniques de congélation embryonnaire par vitrification, permet aujourd'hui d'atteindre des résultats semblables à ceux obtenus lors du transfert d'embryons frais (Roque et al., 2013), (Rienzi et al., 2016).

Bien que le transfert d'embryons avec 50 % de blastomères intacts après décongélation puisse conduire à des grossesses réussies, la taux de grossesse était plus élevée lorsque tous les blastomères ont survécu (Rienzi et al., 2005), (check et al., 2009). En effet, si les embryons ont survécu au processus de congélation-décongélation avec tous leurs blastomères intacts, le taux de grossesse était comparable à celle des cycles de fécondation in vitro frais.

**IV.5. Le choix du stade de congélation embryonnaire :**

Les embryons humains peuvent être congelés à différents stades (zygote ou 2 pro noyaux (2PN), clives précoces, et blastocystes), car il s'avère qu'après décongélation, le taux de survie à ces différents stades est satisfaisant et les naissances après transfert possibles (Al-Hasani et al., 2007), (Sifer et al., 2012).



**Figure. 5 :** Phases de développement embryonnaire jusqu'au stade blastocyste. (Charlotte M., 2017)



# **MATERIEL ET METHODES**

## **1. Population cible**

Il s'agit d'une étude rétrospective descriptive portant sur 421 dossiers de patientes ayant consulté entre 2015 et 2020 au centre de procréation médicalement assisté (PMA) de la clinique Ibn Rochd, Constantine. Toutes les patientes sont destinées à la clinique par leur médecin traitant pour diagnostic d'infertilité. 181 patientes âgées entre 20 et 44 ans et qui répondaient aux critères d'inclusion ont été retenues dans cette étude, Chaque patiente avait fait une tentative de FIV-ICSI et 352 embryons congelés /décongelés ont été transférés.

## **2. Critères d'inclusion:**

Sont inclus dans cette étude :

Toute patiente ayant fait une tentative de transfert des embryons congelés au stade (4 cellules ,8 cellules, blastocystes), ayant des dossiers complets et des résultats négatifs ou positifs de vitrification.

## **3. Critères d'exclusion :**

Sont exclus dans cette étude :

Toutes les patientes qui n'ont pas des résultats négatifs ou positifs de vitrification (toute patiente n'ayant pas répondu au téléphone donc absence de résultats), ou des dossiers incomplets.

## **4. Recueil des données :**

Les données suivantes ont été recueillies à partir des dossiers :

- L'âge de la femme
- Le taux de progestérone

### **Les paramètres du TEC**

- Le nombre d'embryons transférés.
- Le nombre des blastomères lysés par embryons clivés.
- Le jour du transfert (J2, J3, J5, J6).
- La durée de congélation.
- La culture 24 h après décongélation
- Concernant le transfert : nombre d'embryons transférés vitrifiés et stade de développement.
- Le traitement : la préparation de l'endomètre

La préparation endométriale pouvait se faire soit par un cycle naturel (sans traitement), soit par un cycle substitué (traitement hormonal sous forme (Progynova 2mg. Utrogestan 200mg), soit par un cycle stimulé (Gonal. Menopure. Decapeptyl. Ovitrelle), le but est de préparer la muqueuse utérine à la nidation d'un embryon et de déterminer le moment optimal pour réaliser le transfert, le protocole adéquat était choisi en fonction des caractéristiques de la patiente.

- Les résultats Frais /congelé: positif ou négatif, sans transfert (congeler tout)
- L'évolution de la grossesse : à terme avec naissance ou avortement

## **5. Techniques de PMA :**

Quelle que soit la technique de PMA, la stimulation ovarienne ou l'induction de l'ovulation est la première étape déterminante. Elle permet aux équipes du centre de PMA d'obtenir chez la femme un ou plusieurs follicules mûrs de qualité optimale. Les résultats de la procréation médicalement assistée vont dépendre de l'efficacité de cette étape.

### **5.1 Technique d'ICSI :**

L'ICSI est indiquée dans les situations d'infertilité masculine ou après des échecs de FIV conventionnelle, qui consiste à introduire directement dans un ovule un seul spermatozoïde afin de former un embryon

-Il y'a plusieurs étapes qui sont nécessaires :

#### **La stimulation ovarienne :**

Actuellement, la grande majorité des FIV sont réalisées sur cycle stimulé. Cette étape a pour but d'assurer le développement jusqu'à maturation de plusieurs follicules ovariens et de pouvoir ainsi, disposer de plusieurs ovocytes. En effet, tous les ovocytes ne seront pas fécondés et tous les embryons ne se développeront pas.

Les patientes ont subi le traitement hormonal suivant :

Les sécrétions hormonales des patientes ont été bloquées par un analogue agoniste de GnRH (Decapeptyl) selon un protocole court ou long.

Si le protocole est long l'injection de Decapeptyl se fait soit à raison de 3.75 mg le 21<sup>ème</sup> jour du cycle précédent soit à raison de 0.1 mg pendant 14 jours à partir de 21<sup>ème</sup> jour du cycle.

Si le protocole est court l'injection (0.1mg) se fait à partir du 2ème jour du cycle.

La stimulation ovarienne est réalisée par FSH recombinant (Puregon 100 UI ou gonalf 75 UI) 15 jours après l'injection de Decapeptyl à raison de 200 mg/j si puregon ou 225 UI/J si gonalf dans le protocole long, et dans le 3ème jour du cycle dans le protocole court (200mg)

### **Le recueil des gamètes**

#### **La ponction des ovocytes**

Le recueil des ovocytes doit se faire 36 à 38 heures après l'injection d'hCG. Le médecin dirige une aiguille creuse au fond du vagin et traverse la paroi en direction des ovaires sous écho guidage. Le contenu des follicules (ovocytes entouré de quelques cellules et le liquide folliculaire) est aspiré. Ceci se passe habituellement sous anesthésie locale (ou générale).

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.

#### **Le recueil des spermatozoïdes**

Chez l'homme, le matin de la ponction, un échantillon de sperme du conjoint est collecté. Le recueil des spermatozoïdes se fait par masturbation en laboratoire spécialisé. Le sperme est ensuite préparé selon différentes techniques afin de sélectionner les spermatozoïdes mobiles ayant le meilleur potentiel de fécondation.

Dans certains cas, les spermatozoïdes doivent être prélevés par ponction ou directement par biopsie dans les testicules le jour même.

#### **La fécondation par ICSI**

Après ponction, les ovocytes sont préparés. Ils sont débarrassés de la couronne de cellules folliculaires qui les entoure. Puis, ils sont observés au microscope et seuls les ovocytes ayant repris leur maturation et qui ont un globule polaire visible pourront être micro-injectés.

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, l'ovocyte est maintenu grâce à une pipette pendant qu'un spermatozoïde est injecté dedans. Cette injection est faite sous microscope avec un grossissement de l'ordre de x200 à x400.

Ensuite, l'ovocyte, placé dans une boîte de culture, est immédiatement remis dans un incubateur. Après l'injection de spermatozoïdes.

### **Transfert des embryons dans l'utérus**

Le lendemain de la ponction et de l'injection, les ovocytes sont examinés pour savoir s'ils ont été fécondés. Les embryons commencent alors à se diviser de 2 à 4 cellules (J2), puis 4 à 8 (J3). Généralement les embryons peuvent être transférés dans l'utérus de la mère à ce moment-là mais, de plus en plus fréquemment, leur culture est poursuivie in vitro durant un à quatre jours supplémentaires, c'est la culture prolongée. Ceci permet une meilleure sélection des embryons qui favorise les chances de grossesse. Vers J5-J6, les embryons forment une cavité : c'est le blastocyste.

La qualité morphologique des embryons est évaluée 24 heures après la fécondation.

Un maximum de 3 embryons est transféré 2 à 3 jours après l'ICSI.

Les embryons surnuméraires y compris les blastocystes qui présentent critères de développement seront congelés.

### **5.2 Technique de la vitrification (la cryoconservation)**

La vitrification est une technique moderne de cryoconservation qui consiste à congeler les embryons très rapidement : la température de  $-196^{\circ}\text{C}$  dans l'azote liquide.

Lorsque le transfert embryonnaire de FIV (ou ICSI) est terminé, les spécialistes procèdent à la Cryo préservation des embryons dits « surnuméraires » de bonne qualité qui n'ont pas été transférés. Ce procédé consiste à plonger les embryons dans l'azote liquide à  $-196^{\circ}\text{C}$  afin de les conserver en toute sécurité dans les systèmes fermés, pour effectuer un nouveau transfert embryonnaire. Lorsque le transfert en frais aura échoué, ou aura été différé ou en cas de succès de celle-ci. La vitrification donne la possibilité de mettre en route un nouveau transfert sans repasser par l'étape stimulation –ponction,

Une patiente dont des embryons sont conservés ne peut pas bénéficier d'une nouvelle tentative de FIV avant leur transfert, sauf si un problème de qualité affecte ces embryons.

### **La décongélation des embryons**

Le processus de congélation et de décongélation n'est pas adapté à tous les embryons, Il peut arriver que l'embryon ne survive pas à la décongélation. S'il n'est pas viable, il ne permettra pas une fécondation. On dit alors qu'il est totalement ou partiellement lysé (observation des dommages au niveau cellulaire). Le taux de réussite de transfert d'embryon dépend en grande partie du pourcentage de lyse de l'embryon. Lorsqu'on observe que plus de 50 % des cellules de l'embryon sont lysées, ils n'ont pas fait le transfert, et un embryon qui dispose d'au moins 50 % de ses blastomères est considéré comme transférable après décongélation.

### **Tentatives de transfert d'embryon(s) congelé(s)**

En vue du TEC, chaque patiente bénéficiait d'un traitement hormonal substitutif par l'administration d'œstrogènes associé à une surveillance échographique. Lorsqu'une épaisseur de l'endomètre acceptable (8 mm) était atteinte, un traitement par progestérone était ajouté par voie vaginale. Le transfert avait lieu le deuxième ou troisième jour de l'administration de progestérone selon le stade des embryons à transférer. Les embryons étaient décongelés le jour du transfert et n'étaient pas sélectionnés, la décongélation des paillettes s'effectuant au hasard jusqu'à obtenir le nombre d'embryons transférables requis pour la tentative de TEC. Les embryons étaient transférés dans la cavité utérine à l'aide d'un cathéter.

- Le nombre d'embryons transférés par cycle de TEC variait de 1 à 3 en fonction de l'âge, le résultat précédent et le taux de survie
  - Si la femme à moins de 30 ans, ils transfèrent 2 embryons
  - Si la femme est âgée entre 30 ans et 35 ans ils transfèrent 2 ou 3 embryons
  - Si la femme a plus de 35 ans, ils transfèrent 3 embryons
- La décongélation se fait avec un dosage de la progestérone ( $\geq 7$ ng)
- Les embryons sont considérés vivants s'ils ont  $\geq 50\%$  de leurs blastomères intacts.
- Le transfert a eu lieu le jour même de la décongélation.

Dosage de (HCG ou  $\beta$ -HCG) Hormone Chronique gonadotrophine se fait 15 jours après.

## **6. Etude statistique:**

Les données ont été collectées à partir des dossiers des patientes recrutées. Ces derniers sont saisis et codés sur un fichier Excel 2010, pour être par la suite traités puis analysés à l'aide d'un logiciel SPSS version 23 en fonction des paramètres étudiés, à savoir l'âge, le type de protocole utilisé, le taux de progestérone et nombre d'embryons transférés, résultat du TEC.

Nous avons appliqué le test de khi 2 pour établir le lien entre les différents paramètres et les résultats positifs et négatifs du TEC. Et l'odds ratio.

La comparaison des variables quantitatives utilise le test de Student et (Anova à un facteur) et

La présence ou l'absence de lien est déterminée par la valeur de P si :

**P ≤ 0.05** la différence est significative.

**P ≤ 0.01** la différence est très significative.

**P ≤ 0.001** la différence est hautement significative.

# **RESULTATS**

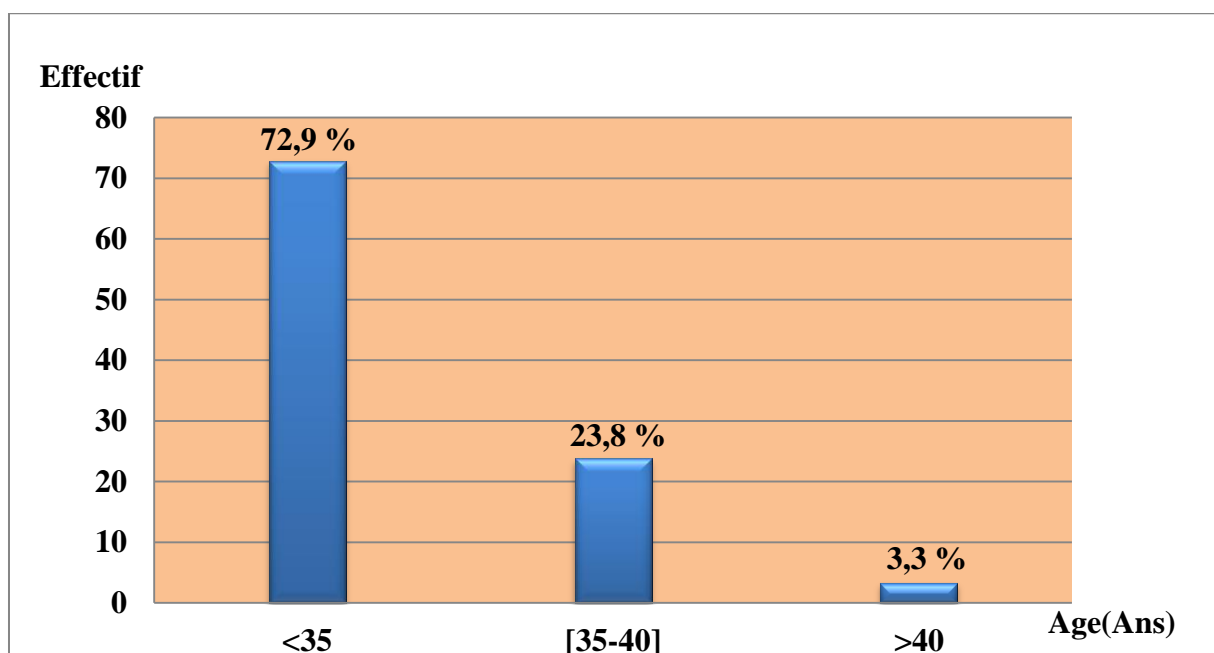


➤ **Description de la population d'étude**

Notre étude épidémiologique a porté sur un échantillon de 181 patientes ayant subi un transfert d'embryons congelés/décongelés.

**1. Répartition des cas en fonction de l'âge**

La moyenne d'âge des patientes est de  $31 \pm 4,5$  ans avec un âge minimum de 20 ans, et un maximum de 44 ans. La figure.1 montre que la tranche d'âge inférieure à 35 ans représente le pourcentage le plus élevé avec 72,9%, suivie par la tranche d'âge de 35 à 40 ans avec un taux de 23,8 % et l'âge supérieur à 40 ans représente le pourcentage le moins élevé soit 3,3%.



**Figure. 6 :** Répartition des cas en fonction de l'âge.

**2. Résultats du TEC :**

Parmi les patientes destinés à faire un TEC, nous avons étudié les résultats de 181 patientes. Parmi les 2321 ovocytes collectés, 1408 ovocytes matures ont été obtenus, 608 embryons ont été congelés, 455 embryons ont été décongelés, 382 embryons ont été transférés, 73 embryons lysés et 153 embryons ont resté congelés (Tableau.2).

**Tableau. 2 :** Paramètres biologiques

<b>Paramètres</b>	<b>Nombre</b>	<b>Moyenne ± Ecart type</b>
<b>Ovocytes</b>	2178	12,5 ±5,6
<b>Ovocytes matures</b>	1280	7±3,3
<b>Embryons congelés</b>	608	3,4 ± 1,9
<b>Embryons décongelés</b>	455	2,5 ± 0,8
<b>Embryons lysés</b>	71	0,4± 0,7
<b>Embryons transférés</b>	382	2,1 ± 0,6
<b>Embryons restant congelés</b>	153	0,8 ± 1,6

### **3. Répartition des patientes en fonction du type de protocole utilisé**

La répartition des patientes en fonction du type de protocole utilisé, consignée dans le tableau.2 montre une prédominance du cycle substitué avec un pourcentage de 88,4 %, suivie du cycle naturel avec 11,6 %.

**Tableau. 3 :** Répartition des patientes en fonction du type de protocole utilisé

<b>Protocole</b>	<b>Fréquence</b>	<b>Pourcentage(%)</b>
<b>Cycle substitué</b>	160	88,4
<b>Cycle naturel</b>	21	11,6
<b>Total</b>	181	100

#### 4. Répartition des patientes selon la durée de congélation

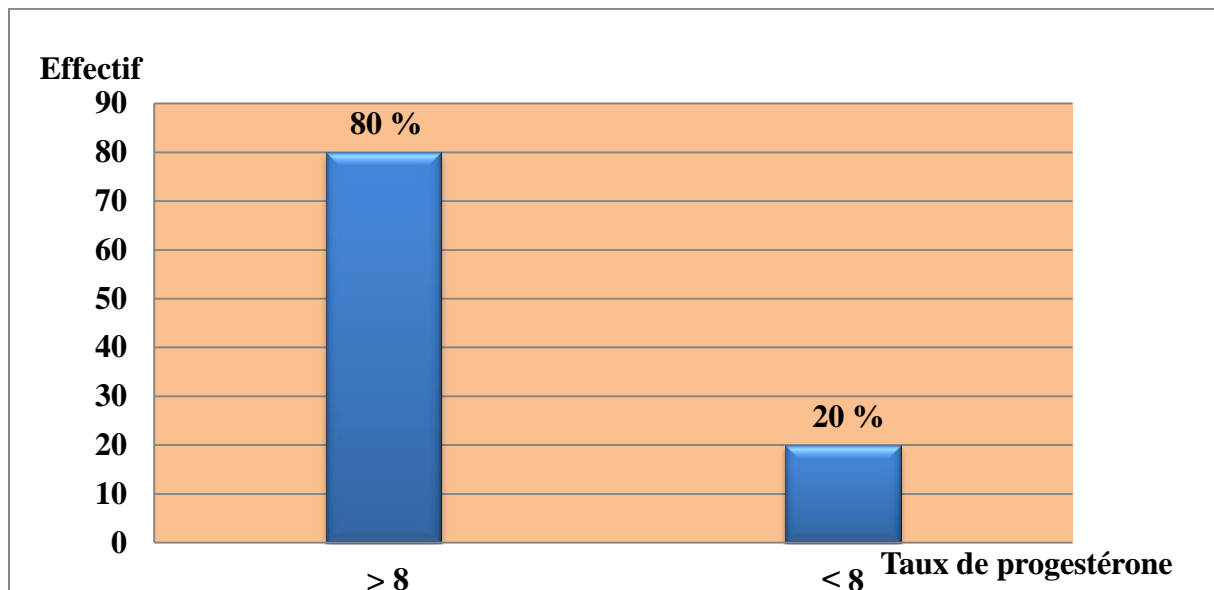
Le tableau .3 montre que la durée de congélation et de décongélation des embryons entre 3 et 6 mois représente le pourcentage le plus élevé dans notre échantillon avec 33,1 %, suivie par la durée de 6 à 12 mois avec un pourcentage de 29,3%, puis inférieur à 3 mois avec 18,8 % et celle de 13-19 mois représente le pourcentage le moins élevé soit 4.4%.

**Tableau. 4 :** Distribution des patientes selon la durée de congélation

La durée (Mois)	Fréquence	Pourcentage(%)
< 3	34	18,8
3-6	60	33,1
6-12	53	29,3
13-19	8	4,4
>19	26	14,4
<b>Total</b>	181	100

#### 5. Répartition des patientes en fonction du taux de progestérone le jour du transfert

Le tableau.4 montre que 104 patientes soit 80 % représentent le pourcentage le plus élevé avec un taux de progestérone supérieur à 8 ng/ml, contre 26 patientes soit 32,6 % avec un taux de progestérone inférieur ou égale 8 à ng/ml.



**Figure. 7 :** Répartition des patientes en fonction du taux de progestérone le jour du transfert

### 6. Répartition des patientes selon le nombre de blastomères lysés par embryons clivés et les résultats du TEC

Le tableau.7 montre que 117 cas avec embryons entièrement intacts (un taux de survie de 100%) représentent le pourcentage le plus élevé avec (72,7 %) après décongélation, suivis de 29 et 15 cas ayant des blastomères lysés (un , deux ou trois blastomères en lyse) soit 18 % , suivis par 15 cas avec la perte de moitié des blastomères soit 9,3%.

**Tableau. 5 :** Distribution des patientes selon le nombre de blastomères lysés par embryons clivés

Le nombre de blastomères lysés par embryons clivés (%)	Fréquence	Pourcentage (%)
0	117	72,7
25	29	18
50	15	9,3
<b>Total</b>	161	100

### 7. Répartition des patientes en fonction des résultats avant congélation (frais)

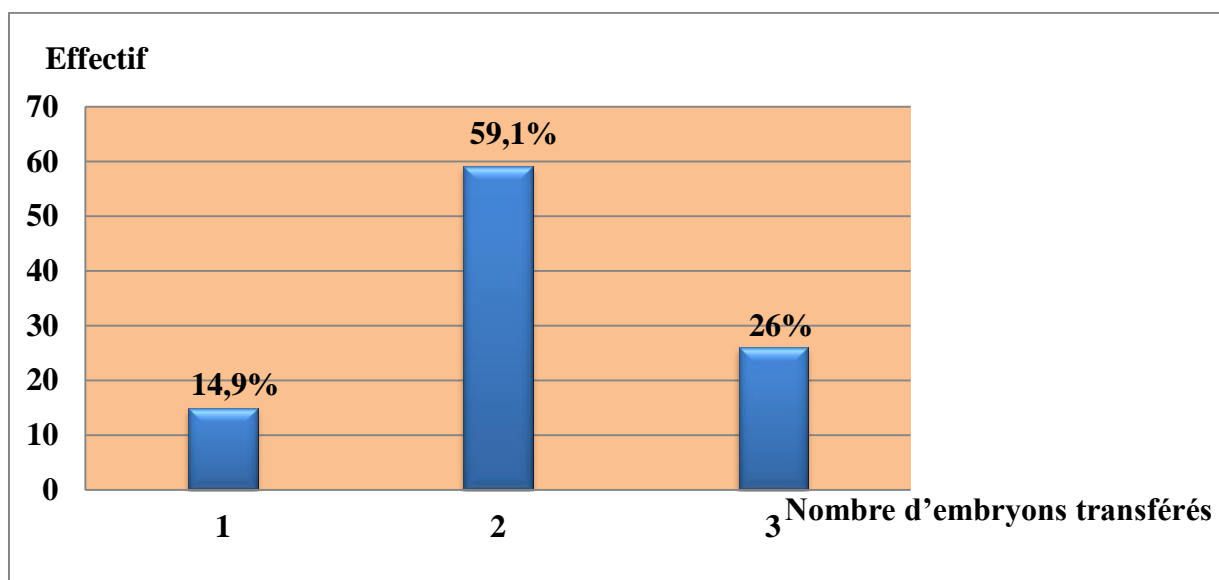
Parmi les 181 cycles de tentative FIV-ICSI, 38 cycles soit 21 % représentent des résultats positifs et 142 cycles soit 78,4 % représentent des résultats négatifs et un cas n'avait pas de transfert soit 0,6 %.

**Tableau. 6 :** Répartition des patientes en fonction des résultats avant congélation

Résultat	Fréquence	Pourcentage(%)
Négatif	142	78,4
Positif	38	21
Sans transfert	1	0,6
Total	181	100

### 8. Distribution des patientes selon le nombre d'embryons transférés

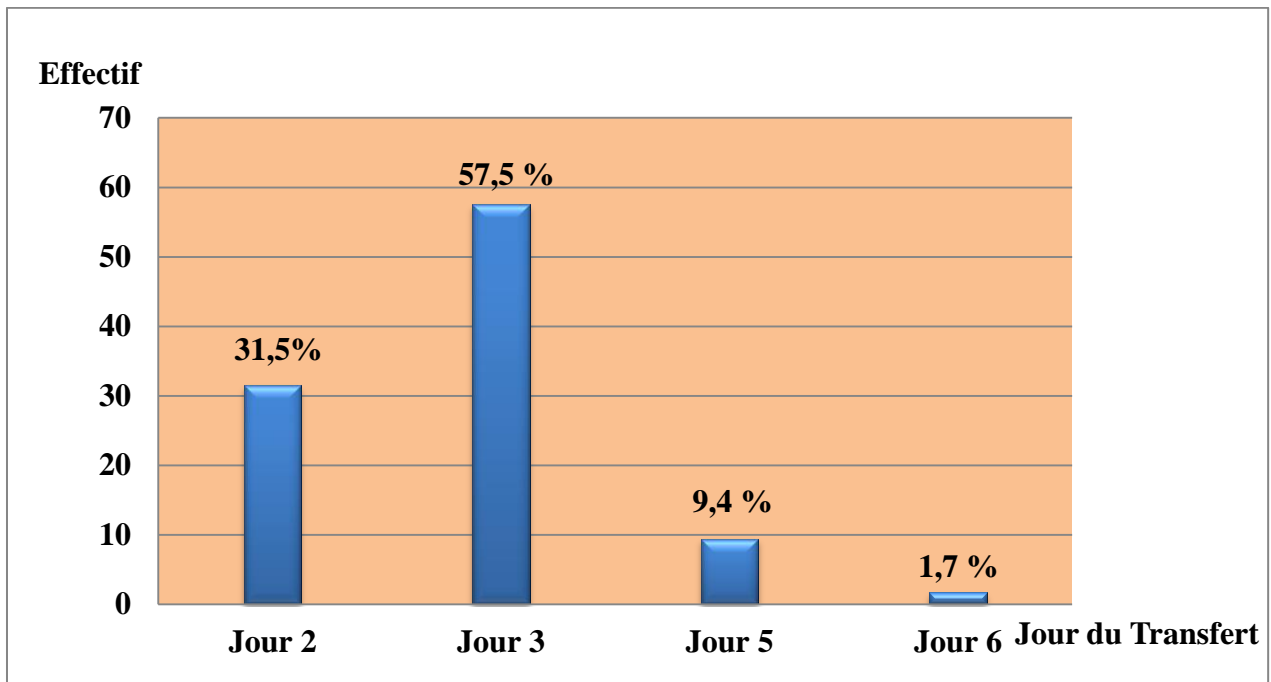
Le transfert de 2 embryons représente le taux le plus élevé avec 107 cas soit 59,1 %, suivi du transfert de 3 embryons avec 47 cas soit 26 %, ainsi que le transfert d'un seul embryon représente le taux le plus bas avec 27 cas soit 14,9 % (Figure.8).



**Figure. 8 :** Distribution des patientes selon le nombre d'embryons transférés

**9. Distribution des patientes selon le jour du transfert après décongélation**

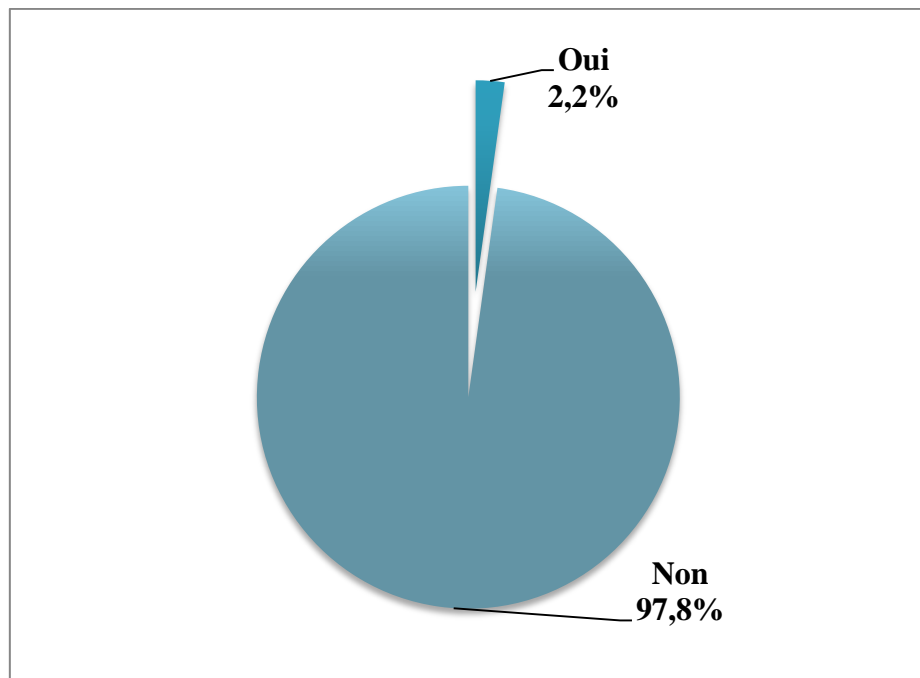
Concernant le jour du transfert d'embryons après décongélation, 104 patientes ont eu un transfert d'embryons le troisième jour (57,5%), suivies de 57 patientes ont subi un transfert des embryons le deuxième jour (31,5%), 17 patientes ont eu un transfert le cinquième jour et seulement 3 patientes le sixième jour (1,7%).



**Figure. 9 :** Distribution des patientes selon le jour du transfert

**10. Distribution des patientes selon la culture 24 heure (h)**

Le tableau.10 montre que 177 patientes soit 97,8% n'ont pas eu une culture de 24 heures, contre 4 cas soit 2,2% ont eu une culture de 24 h.



**Figure. 10 :** Distribution des patientes selon la culture 24 h

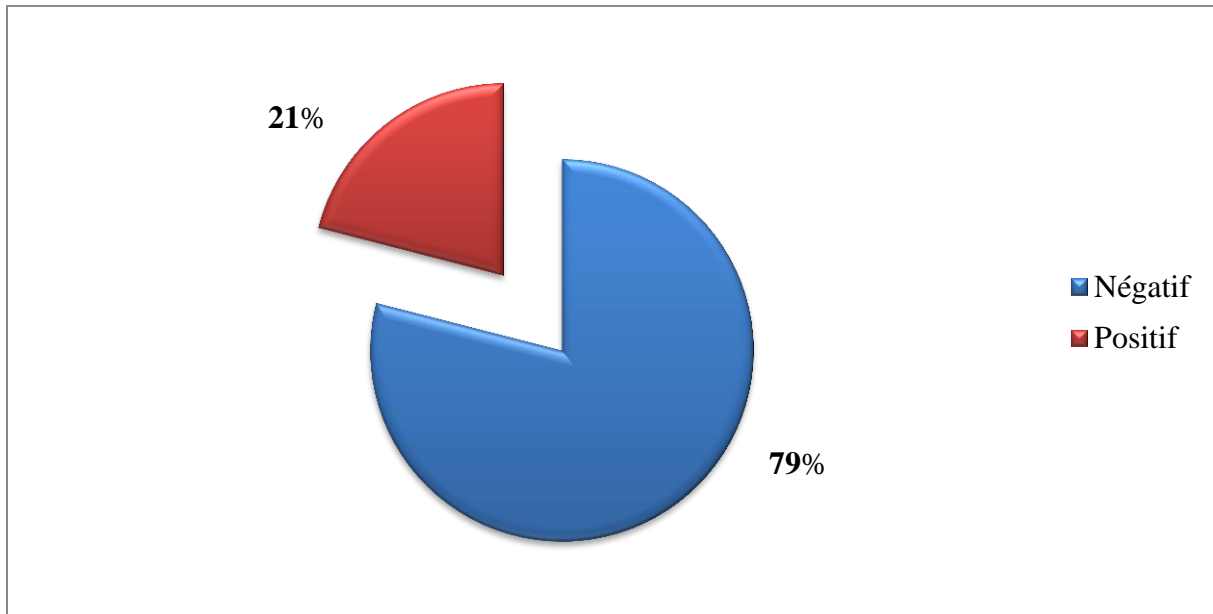
### 11. Répartition des patientes selon les résultats du transfert d'embryons congelés (TEC)

Parmi les 181 cycles du TEC, 38 cycles soit 21 % représentent des résultats positifs et 143 cycles soit 79 % représentent des résultats négatifs.

- Le taux cumulatif de grossesse c'est de 42,1%

**Tableau. 7 :** Répartition des cas en fonction des résultats TEC

Résultats TEC	Fréquence	Pourcentage(%)
Négatif	143	79
Positif	38	21
<b>Total</b>	181	100

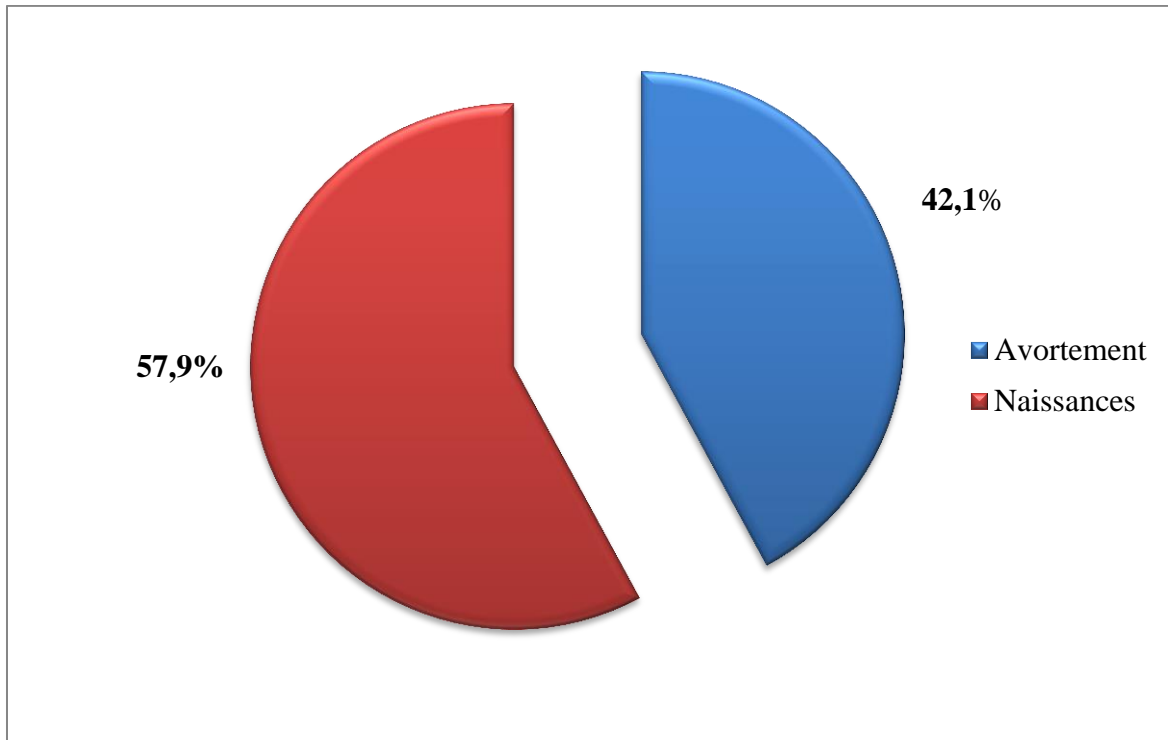


**Figure. 11 :** Répartition des cas en fonction des résultats du TEC

## 12. Répartition des résultats positifs en fonction du développement de grossesse

Parmi les 38 cycles du TEC, dont le résultat est positif, 22 naissances ont été obtenues soit 57,9 % ,16 ont subi des avortements soit 42,1 %.

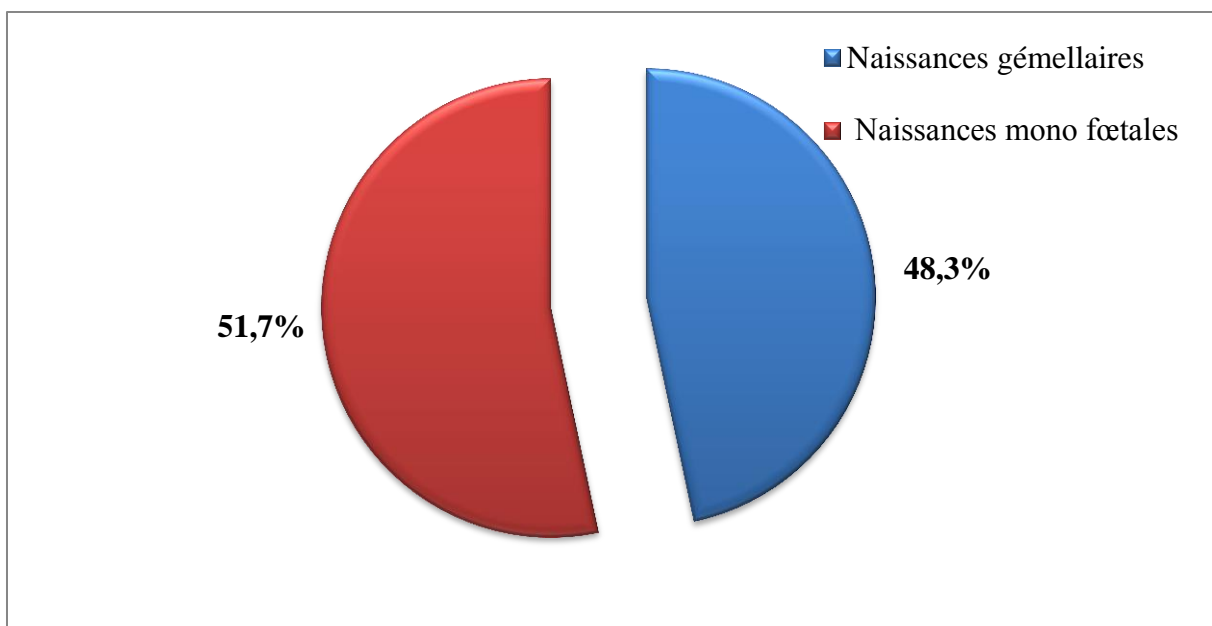




**Figure. 12 :** Répartition des résultats positifs en fonction du développement de grossesse

### 13. Répartition des naissances en fonction du nombre d'enfants

Sur les 29 naissances obtenues, 14 naissances sont issues de grossesses gémellaires (48,3%) et 15 naissances mono fœtales (51,7%).



**Figure. 13 :** Répartition des naissances en fonction du nombre d'enfants

### 14. Lien entre l'âge et les résultats du TEC

Les résultats du TEC liés à l'âge de la population étudiée indiquent que les patientes inférieure à 35 ans ont un taux de grossesse du TEC soit 26,6%, les patientes qui ont un âge entre 35 et 40 ans ont un taux de grossesse soit 10,6% du TEC, et les patientes qui ont un âge supérieur à 40 ans ont un taux (0%) de réussite du TEC.

Le tableau montre une différence très significative entre les tranches d'âge et les résultats du TEC P= 0,01.

**Tableau. 8 :** Lien entre l'âge et les résultats du TEC

les tranches d'âge et les résultats du TEC	<35	[35-40]	>40	Valeur de P
	Fréquence (Pourcentage%)	Fréquence(%)	Fréquence(%)	
Négatif	91 (73,4)	42 (89,4)	10 (100)	0,01
Positif	33 (26,6)	5 (10,6)	0 (0)	
Total	124 (100)	47 (100)	10 (100)	

## 15. Distribution des résultats des paramètres biologiques par tranche d'âge

Le tableau. 9 montre une prédominance du nombre d'ovocytes récupérés, matures, nombre d'embryons congelés, décongelés, transférés dans la tranche d'âge inférieur à 35 ans en comparaison avec les autres tranches d'âge.

Une diminution a été observée du nombre d'ovocytes récupérés, d'ovocytes matures, du nombre d'embryons congelés, décongelés, transférés, et taux de grossesse chimique avec l'augmentation de l'âge.

Il existe une différence très hautement significative entre les tranches d'âges, nombre d'ovocytes récupérés, et le taux de grossesse chimique,  $p < 0,005$ .

Il n'y avait pas de différence significative entre les groupes d'âge avec le nombre d'embryons congelés, décongelés,  $p > 0,05$ .

**Tableau. 9** : Distribution des résultats des paramètres biologiques par tranche d'âge

Les caractéristiques		<35 N = 124	[35-40] N = 47	>40 N =10	P- value
Nombre d'ovocytes récupérés N=2178		1605 13,669±5,5123	503 10,702±5,4570	70 7±2,5820	A**, B**, C*, D**
Nombre d'ovocytes matures N=1280		918 7,403±3,2207	309 6,574±3,7460	53 5,300±2,4060	A, B*, C, D
Nombre d'embryons congelés N = 608		459	120	29	A*, B, C, D*
Nombre d'embryons décongelés N = 455		326	109	20	A*, B, C, D
Nombre d'embryons viables après décongélation (transférés) N =382		267	98	17	A, B*, C, D
Nombre d'embryons transférés	1	16 p - 16 Emb	7p - 7Emb	4 p - 4 Emb	
	2	73 p - 146 Emb	29p -58Emb	5 p - 10 Emb	
	3	35p -105Emb	11p - 33Embr	1 p - 3 Embr	
Taux de grossesse biochimique		26,61% (33/124)	10,63% (5/47)	0% (0/10)	A*, B*, C, D**

- A = <35 v [35-40]
  - B = <35 v >40
  - C = [35-40] v >40
  - D = <35 v [35-40] v >40
- \*<0,05  
\*\*<0,05  
P : patiente  
Emb : Embryon

### 16. Lien entre les 2 protocoles et les résultats du TEC

Les résultats du TEC liés au protocole de préparation de l'endomètre indiquent que les patientes ayant un cycle naturel ont un taux de grossesse soit 33,3 % et les patientes qui ont subi un cycle substitué ont un taux de grossesse de 19,4%.

Le tableau montre qu'il n'existe aucune différence significative entre les 2 protocoles et les résultats du TEC, P = 0,1.

**Tableau. 10 :** Lien entre les 2 protocoles et les résultats du TEC

les 2 protocoles et les résultats du TEC	Cycle naturel	Cycle substitué	Valeur de P
	Fréquence(%)	Fréquence (%)	
Négatif	14 (66,67)	128 (80,6)	0,1
Positif	7 (33,33)	31 (19,4)	
Total	21 (100)	159 (100)	

Odds ratio	0.4844
95 % CI:	0.1803 to 1.3016
z statistic	1.437
Significance level	P = 0.1506

(OR-0,48, CI95 % 0,18 - 1,30 ; p value = 0,15)

### 17. Lien entre la durée de congélation et les résultats du TEC

Les résultats du TEC liés à la durée de congélation de la population étudiée indiquent que la durée entre 13 et 19 mois représente un taux de grossesse de 25 %, les patientes ayant une durée de congélation inférieure à 3mois ont un taux de grossesse de 23,5%.

Le tableau montre qu'il n'existe aucune différence significative entre la durée de congélation et les résultats du TEC, P = 0,9.

**Tableau. 11 :** Lien entre la durée de congélation et les résultats du TEC

la durée de congélation et les résultats du TEC	<3 mois	3-6 mois	6-12 mois	13-19 mois	>19 mois	Valeur de P
	Fréquence (%)	Fréquence (%)	Fréquence (%)	Fréquence (%)	Fréquence (%)	
<b>Négatif</b>	26 (76,5)	47 (78,3)	42 (79,2)	6 (75)	22 (84,6)	0,9
<b>Positif</b>	8 (23,5)	13 (21,7)	11 (20,8)	2 (25)	4 (15,4)	
<b>Total</b>	34 (100)	60 (100)	53 (100)	8 (100)	26 (100)	

**18. Lien entre le taux de progestérone le jour du transfert et les résultats du TEC**

Le tableau.16 montre que les patientes avec un taux de progestérone le jour du transfert inférieur ou égal à 8ng/ml représente 11,5% de résultats positifs du TEC, et 18,3% de résultats positifs chez les patientes ayant un taux de progestérone supérieur à 8 ng/ml.

Il n'existe pas une différence significative entre le taux de progestérone le jour du transfert et le résultat du TEC, P = 0,07.

**Tableau. 12 :** Lien entre le taux de progestérone le jour du transfert et les résultats du TEC

Taux de progestérone et les résultats du TEC	≤ 8	> 8	Valeur de P
	Fréquence(%)	Fréquence(%)	
Négatif	23 (88,5)	85 (81,7)	0,07
Positif	3 (11,5)	19 (18,3)	
Total	26 (100)	104 (100)	

### 19. Lien entre le nombre d'embryons transférés et les résultats du TEC

Les chances de grossesses de résultats du TEC augmentent significativement avec le nombre d'embryons transférés allant de 7,4% avec un seul embryon jusqu'à 19,6% avec 2 embryons, et 31,9% chez les patientes ayant subi un transfert de 3 embryons.

Le tableau montre une différence significative entre le nombre d'embryons transférés et les résultats du TEC, P = 0,03.

**Tableau. 13 :** Lien entre le nombre d'embryons transférés et les résultats du TEC

Nombre d'embryons transférés et les résultats du TEC	1 embryon	2 embryons	3 embryons	Valeur de P
	Fréquence(%)	Fréquence(%)	Fréquence(%)	
<b>Négatif</b>	25 (92,6)	86 (80,4)	32 (68,1)	0,03
<b>Positif</b>	2 (7,40)	21 (19,6)	15 (31,9)	
<b>Total</b>	27 (100)	107 (100)	47 (100)	

## 20. Lien entre le jour du transfert et les résultats du TEC

Les résultats liés au jour du transfert d'embryons de la population étudiée indiquent que le jour 5 représente le pourcentage le plus élevé de résultats positifs avec 23,5%, le jour 3 représente 20,8% de résultats positifs et le jour 2 représente 22,8 % de résultats positifs.

Il n'existe aucune différence significative entre le jour du transfert et résultats du TEC  $P = 0,9$ .



**Tableau. 14 :** Lien entre le jour du transfert et les résultats du TEC

<b>Jour du transfert</b>	<b>Embryons décongelés</b>	<b>Embryons lysés</b>	<b>La lyse (%)</b>	<b>Taux de survie (%)</b>
<b>J2</b>	150	28	18,42	81,58
<b>J3</b>	264	35	13,20	86,80
<b>J5</b>	34	6	17,64	82,36
<b>J6</b>	7	2	28,57	71,43
<b>Total</b>	455	71	15,50	84,50

<b>le jour du transfert et les résultats du TEC</b>	<b>Jour 2</b>	<b>Jour 3</b>	<b>Jour 5</b>	<b>Jour 6</b>	<b>Valeur de P</b>
	<b>Fréquence(%)</b>	<b>Fréquence(%)</b>	<b>Fréquence(%)</b>	<b>Fréquence(%)</b>	
<b>Négatif</b>	44 (77,2)	83 (79,8)	13 (76,5)	3 (100)	0,7
<b>Positif</b>	13 (22,8)	21 (20,2)	4 (23,5)	0 (0)	
<b>Total</b>	57 (100)	104 (100)	17 (100)	3 (100)	

**21. Lien entre la culture 24 heure et les résultats du TEC**

Le tableau montre que les 4 patientes ayant subi une culture 24 h présentent un taux de réussite (100%) contre (19,2%) qui n'ont pas fait de culture.

Il existe différence hautement significative entre la culture 24 h et les résultats du TEC, P = 0,000.

**Tableau. 15 :** Lien entre la culture 24 h et les résultats du TEC

Culture 24 h et les résultats du TEC	Non	Oui	Valeur de P
	Fréquence(%)	Fréquence(%)	
Négatif	143 (80,8)	0 (0)	0.000
Positif	34 (19,2)	4 (100)	
Total	177 (100)	4 (100)	

Odds ratio	37.4348
95 % CI:	1.9685 to 711.8999
z statistic	2.411
Significance level	P = 0.000

(OR-37,43, CI95 % 1,9 - 1,8 ; p value = 0,000)

**22. Lien entre le nombre de blastomères lysés par embryons clivés et les résultats du TEC**

Le taux de grossesse est élevé chez les patientes qui ont eu 0 blastomère en lyse après décongélation avec un pourcentage de 24,8%, par rapport aux patientes qui ont eu 1, 2 ou la moitié des blastomères lysés soit 13,8% et 6,7 % respectivement.

Le tableau montre qu'il existe une différence significative entre le nombre de blastomères lysés par embryon et les résultats du TEC,  $P = 0,05$ .

**Tableau. 16 :** Lien entre le nombre de blastomères lysés par embryons clivés et les résultats du TEC

Le nombre de blastomère lysés par embryons clivés et les résultats du TEC	0 %	25%	50%	Valeur de P
	Fréquence(%)	Fréquence(%)	Fréquence(%)	
Négatif	88 (75,2)	25 (86,2)	14 (93,3)	0,05
Positif	29 (24,8)	4 (13,8)	1 (6,7)	
Total	117 (100)	29 (100)	15 (100)	

# **DISCUSSION**

Au terme de cette étude, nous avons tenté d'élucider les facteurs influençant la réussite du transfert d'embryons congelés (TEC), obtenus par FIV-ICSI et qui ont été congelés par la technique de vitrification, cette dernière est réalisée par une manipulation très précise, pour congeler les éventuels embryons surnuméraires issues de la FIV-ICSI, pour augmenter les chances de procréation des couples infertiles. Au total 181 dossiers de patientes infertiles ont été explorés, les embryons utilisés ont été congelés (vitrifiés) et réchauffés entre 2015 et 2020.

La congélation lente était la première technique utilisée pour congeler les embryons dans la clinique de chirurgie et des sciences de la reproduction Ibn rochd (CCSR) Constantine. Une étude menée au centre de CCSR Ibn rochd en 2014 essayant de comparer entre la technique de la vitrification et la congélation lente, montrent un taux élevé de grossesse, taux d'implantation et taux de survie de la vitrification avec (22% vs 14,28%), taux d'implantation (13,79%vs 8,43%). A partir de cette étude, ils ont adopté la technique de vitrification en 2013 et arrêter la congélation lente. La clinique déclare la première naissance en Algérie par la congélation lente et la vitrification en 21 Aout 2006 et le 05 Septembre 2013 respectivement (Annexe.1).

Les résultats en termes de taux de survie, de développement embryonnaire, de grossesse et d'accouchement par la congélation lente sont satisfaisants mais restent significativement inférieurs à ceux obtenus en vitrification (AbdelHafez et al., 2010).

Avec l'utilisation de la congélation ultra rapide (vitrification), la congélation lente n'est pratiquement plus utilisée en AMP(Anav et al., 2018) car elle est lente nécessitant beaucoup de temps environ 3 heures de préparation pour congeler les embryons, nécessite une machine coûteuse et conduit à la formation de cristaux de glace qui peuvent être délétère pour l'embryon en comparaison avec la vitrification( refroidissement extrêmement rapide après l'exposition à l'azote liquide -196 °C entraînant un état amorphe évitant la formation de cristaux de glace ) qui ne dure que 15 minute.

L'âge de la femme au moment de la ponction ovocytaire est un paramètre majeur influençant les résultats en FIV mais également lors des transferts d'embryons congelés. Selon Salumets et al., 2006 l'âge de la femme est un facteur clinique déterminant lors d'une tentative de TEC. Avec l'âge une diminution du taux de grossesse par transfert est observée.

Lors de la réalisation de ce travail, nous avons observé une fréquence élevée de transfert d'embryons congelés (TEC) dans la tranche d'âge inférieure à 35 ans de 72,9 %, ce qui révèle une importante fréquence de cette dernière dans le TEC. Car c'est la catégorie qui se dirige le plus souvent vers les techniques de PMA et qui ont une meilleure réserve ovarienne avec une bonne qualité, suivie par la tranche d'âge de 35 à 40 ans et supérieure à 40 ans avec un pourcentage de 23,8 % et 3,3% respectivement, cela était expliqué par la diminution du taux d'ovocytes et d'embryons chez les patientes supérieures à 40 ans. Nos résultats concordent avec ceux de la littérature (Lin et al., 2020).

Parmi les 181 cycles du TEC étudiés, 38 grossesses ont été obtenues, dont 22 naissances vivantes, 16 avortements. L'âge de ces patientes est compris entre 20 et 44 ans. Nos résultats ont montré qu'avec l'augmentation de l'âge, le taux de grossesse diminuait significativement  $P = 0,01$ .

Nos résultats rejoignent ceux de Wirleitner et al., 2016 qui montre que chez les patientes réparties en 3 groupes selon l'âge féminin : 18-35, 36-39 et 40-44 ans, les taux de natalités vivantes (TNV) les plus faibles ont été observés chez les femmes âgées de 40 à 44 ans.

Nos résultats sont en accord avec l'étude de Lin et al., avec des valeurs supérieures aux nôtres à des taux de 51,15%, 43,86%, 41,64%, 25,67% et 15,58 % chez les femmes âgées de (<30), (30 -34), (35-37), (38-40) et (41-43) ans, respectivement, malgré des taux comparables de transfert d'embryons morphologiquement de bonne qualité dans tous les groupes d'âge de l'étude. Leurs résultats suggèrent que la stratégie de congélation complète peut être une approche viable pour les femmes souffrant d'infertilité quel que soit leur âge (Lin et al., 2020). Certains émettent l'hypothèse que le processus de congélation peut servir à filtrer les embryons de mauvaise qualité incapables de survivre au processus de décongélation (Shih et al., 2008).

L'étude de Pan, Hao et al., 2020 montre que toutes les femmes incluses étaient âgées de moins de 35 ans. Ils ont encore évalué l'effet du jeune âge sur le TNV, dans le but d'éliminer l'effet de l'âge sur l'issue de la grossesse des femmes de moins de 35 ans. Les résultats de cette étude n'ont montré aucune corrélation entre l'âge et TNV chez les patientes de moins de 35 ans. L'âge de la femme était un facteur critique dans la prédiction du TNV après TEC. Une étude a montré que la qualité des ovocytes est médiocre chez les femmes de

plus de 35 ans et que ce groupe d'âge a des taux de grossesse en cours et de grossesse clinique inférieurs à ceux des femmes plus jeunes.

Nos résultats montre que plus la femme est jeune, plus il y a d'ovocytes récupérés, d'ovocytes matures, d'embryons obtenus (congelés/décongelés) et plus le taux de grossesse est élevé.

Le taux de grossesse global était de 21% dans notre échantillon, nos résultats rejoignent ceux de la littérature (Liu et al., 2019), (Van Landuyt et al., 2013) qui indiquent un taux de grossesse clinique de 22,95% et un taux d'implantation de 20,7% respectivement, et le taux cumulatif de grossesse (taux de grossesse avant congélation et après la décongélation) est de 42, 1%.

Pour les TEC, la préparation de l'endomètre pouvait se faire par soit un cycle naturel soit par un cycle stimulé (Gonal, menopur, decapeptyl, ovitrelle), soit par un traitement hormonal substitutif (cycle substitué : progynova 2 mg et utrogestan 200 mg). Presque 87,8 % de nos patientes ont subi un traitement par cycle substitué, ce taux plus élevé peut s'expliquer par la facilité de son utilisation, le cout qui n'est pas cher (économique) et dans le but de synchroniser la fenêtre d'implantation avec l'embryon, contre 11,6 % de cycle naturel. Nos résultats ne sont pas concordant avec l'étude de Pan , Li et al., 2020 qu'indiquent que les patientes ont subi 75,2 % de cycle naturel et 25,8 % de cycle substitué. Le cycle naturel a été considéré comme le choix optimal. Si le cycle naturel ne permettait pas une bonne préparation, un cycle artificiel était utilisé lors du cycle menstruel suivant.

Une étude faite en chine chez les patientes dont l'âge maternel est avancé (AMA) montre que 78 ,33% des patientes ont subi un cycle substitué, 17 % pour un cycle naturel et 8,31 % pour le cycle stimulé. Ce qui rejoint nos résultats. Le choix entre les 3 protocoles se fait essentiellement en fonction de la qualité de l'ovulation de la patiente (Liu et al., 2019).

Nos résultats ont montré qu'il n'y a aucune différence significative entre les deux protocoles en termes de taux de grossesse, mais nous constatons un taux de grossesse plus élevé chez les patientes ayant un cycle naturel. Nos résultats sont en accord avec l'étude de Pan, Li, et al 2020 qui ont montré que le protocole du cycle naturel a donné des endomètres plus épais, un taux d'implantation plus élevé que le THS. Le protocole du cycle naturel était le meilleur protocole de préparation de l'endomètre pour le transfert d'embryons congelés.

Levron et al., 2014 ont effectué une analyse rétrospective portant sur 1 235 cycles du TEC au stade de clivage et ont constaté que le cycle naturel produisait une épaisseur endométriale, un taux d'implantation et un taux de grossesse clinique plus élevés que le cycle THS. D'autres études ont constaté que par rapport au cycle THS, le cycle naturel a montré une tendance à des taux de naissances vivantes plus élevés, mais la différence entre les deux groupes n'était pas statistiquement significative (Kawamura et al., 2007), (Hancke et al., 2012). L'étude de Pan, Hao et al., 2020 a montré que le TNV des cycles naturels était plus élevé que celui des cycles artificiels, et que la différence était statistiquement significative (54,9 vs 47,4% P = 0,048).

Une autre analyse rétrospective a montré que le cycle naturel de l'embryon congelé au stade du clivage était associé à un TNV plus élevé que le cycle avec traitement hormonal substitutif (Guan et al., 2016).

De plus, la plupart des études disponibles à l'heure actuelle documentent qu'il existe un manque de preuves pour soutenir qu'une méthode de préparation de l'endomètre est supérieure aux autres. Une récente étude a également révélé que chez les femmes âgées de 38 ans ou plus, le choix des protocoles de préparation de l'endomètre peut dépendre sur les conditions spécifiques individuelles parce que les protocoles de préparation de l'endomètre n'affectent pas les résultats du TEC (Liu et al., 2019). En revanche, certaines études publiées présentent des résultats différents, Saito et al., 2019 ont constaté que le taux de grossesse et le taux de naissances vivantes dans les cycles de THS étaient significativement supérieurs à ceux des cycles naturels. L'étude de Zheng et al., 2014 ont démontré que les patientes subissant un cycle de THS obtenaient un taux d'implantation et un taux de grossesse clinique plus élevés que les patientes subissant le cycle naturel.

La préparation de l'endomètre est l'une des étapes les plus importantes pour assurer le succès du TEC. Plusieurs études ont démontré que les taux sériques élevés de l'œstradiol (E2) pouvaient endommager l'endomètre et raccourcir la fenêtre d'implantation disponible et inhiber l'implantation d'embryons dans l'endomètre (Ma et al., 2003). L'œstradiol exogène a été utilisé dans les cycles THS, et les niveaux d'E2 de l'endomètre exposé dans les cycles de THS étaient plus élevés qu'ils ne l'étaient dans le cycle naturel (Fritz et al., 2017). Cette différence a indiqué que le taux d'implantation des embryons congelés a été influencé dans le cycle THS.



Le taux de progestérone est mesuré chez 130 patientes le jour du transfert. Nous avons remarqué une fréquence élevée de transfert d'embryons congelés (TEC) dans les patientes ayant un taux de progestérone supérieur à 8 soit 80%, car la progestérone est un indicateur sur la fenêtre d'implantation et des issues de grossesse plus défavorables ont déjà été associées à des niveaux de P4 plus faibles le jour du TEC (Labarta et al., 2017).

Nos résultats montrent que les patientes avec un taux de progestérone le jour du transfert inférieur ou égal à 8ng/ml représente 11,5% de résultats positifs du TEC, et 18,3% de résultats positifs chez les patientes ayant un taux de progestérone supérieur à 8 ng/ml. Récemment, une étude prospective a montré que les patientes avec une P4 sérique < 9,2 ng/ml le jour du transfert avaient un taux de grossesse en cours significativement plus faible dans les cycles de préparation d'endomètre artificiel, avec un seuil optimal de 11 ng/mL. (Labarta et al., 2017), ce qui rejoignent nos résultats.

Ces résultats indiquent que la progestérone sérique, mesurée le jour du transfert d'embryons, pourrait être utilisée pour la prédiction d'une implantation réussie.

Les études de Basnayake et al., 2018 et Gaggiotti et al., 2019 ont montré que le TNV diminuent pour des valeurs de progestéronémie inférieures respectivement à 15 ng/mL et à 10,64 ng/mL ainsi que l'étude de Alsberg et al., 2018 a suggéré aussi ce seuil à 11 ng/mL.

La vitrification nous a permis de préserver les embryons et de les rendre disponibles à l'avenir. Les embryons évolutifs "restants" après un transfert suite à une FIV peuvent être congelés décongelés dès leur deuxième jour à leur sixième jour de développement, dans notre échantillon les embryons sont congelés dans le stade de clivage (le 2<sup>ème</sup> ou au 3<sup>ème</sup> jour), et le stade blastocyste (au 5<sup>ème</sup> ou 6<sup>ème</sup> jour).

Nous avons observé une fréquence élevée de transfert d'embryons congelés (TEC) au stade précoce clivé avec un pourcentage de 57,5 % et 31,5 % le jour 3 et jour 2 respectivement au centre Ibn rochd indiquant l'activité de laboratoire, contre 9,4 % au stade blastocyste, car l'embryon se développe mieux dans l'utérus par rapport à la culture de laboratoire. Nos résultats sont cohérents avec l'étude de lieu et al., 2019 qui indique que 68,9 % des patientes ont fait le transfert dans le stade de clivage versus 31 % qui ont fait le transfert dans le stade blastocyste, ainsi que l'étude de wang et al., 2021 qui montre un taux de (63,48% en = j3), (10,49 % = j5) et (26 % = j6).

Le taux de survie des embryons était de 84,5 % (382 embryons intacts sur 455 embryons décongelés). Les 181 cycles du transfert d'embryons ont été effectués (nombre d'embryons transférés = 382), de légères différences dans le taux de survie ont été trouvées 81,5 % pour le jour 2, 86,8 % pour le jour 3, 82,3 % pour le jour 5 et 71,4 % pour le jour 6. Ces résultats sont en accord avec l'étude de Cobo et al., 2012. Cependant, il convient de souligner que nous avons observé des différences dans les taux de survie liés au stade de développement des embryons. Selon nos données, les embryons au stade clivé ont atteint le taux de survie le plus élevé et le taux de grossesse par cycle de réchauffement était de 22,8 %, 20,2%, 23,5 % et 0 % respectivement. Ce résultat contraste avec les rapports de l'étude de Cobo et al., 2012 qui ont révélé que les blastocystes expansés au jour 5 ou au jour 6 ont atteint le taux de survie le plus élevé avec 94,9% le jour 2, 94,2% le jour 3, 95,7% le jour 5, 97,6% le jour 6. Ces résultats peuvent être dues au fait que ce dernier groupe est composé principalement de receveurs d'ovocytes de donneuses et le taux de grossesse est de (J2= 35,5 %, J3= 41,7 %, J5= 32,6%. J6 =38,1%).

Le taux de grossesse est plus élevé au stade du blastocyste qu'au stade clivé, nos résultats sont en accords avec l'étude de glujovsky et al., 2013 qui ont suggéré que le transfert des embryons au stade des blastocystes est le meilleur stade au plan biologique pour que les embryons soient placés dans l'utérus, car les stades antérieures se situent naturellement dans les trompes de Fallope et une culture plus longue en laboratoire peut donner au embryologiste une meilleure capacité à sélectionner le (s) embryon(s) de meilleure qualité pour le transfert.

Le transfert de deux embryons est plus fréquent dans notre échantillon 59,1 %, comparant au transfert de 3 embryons soit 26 % et 14,9 % pour le transfert d'un seul embryon. Nos résultats sont en accord avec l'étude de Pan et Hao et al., 2020 avec une prédominance du transfert de 2 embryons, soit 96,6%. Une autre étude a montré que le nombre d'embryons transférés n'était pas supérieur à 2 chez tous les patientes (Liu et al., 2019). Nos résultats ne concordent pas avec l'étude de Maris et al., 2019 qui montrent que dans le groupe « embryons vitrifiés » 52% des transferts ont concerné un seul embryon et 48% pour deux embryons.

Faire transférer deux embryons augmentera les chances de devenir enceinte, par rapport aux 3 embryons en raison des risques de grossesses multiples. Le choix du nombre

d'embryons à transférer est donc une décision partagée entre le couple et le spécialiste en médecine de la reproduction.

Nos résultats montrent que les chances de grossesse de résultats du TEC augmentent significativement avec le nombre d'embryons transférés allant de (7,4 %) avec un seul embryon jusqu'à (19,6 %) avec 2 embryons, et (31,9 %) chez les patientes ayant subi un transfert de 3 embryons, il existe une différence significative entre le nombre d'embryons transférés et les résultats du TEC,  $P = 0,03$  ce qui rejoint l'étude de Pan et Hao et al., 2020 qui ont observé une différence statistiquement significative dans le taux de natalités vivantes entre le TEC avec un embryon congelé transféré et TEC avec deux embryons (53,3 vs 32,3%  $P = 0,015$ ).

Nos résultats montrent que 117 cas avec embryons entièrement intacts (un taux de survie de 100%) représentent le pourcentage le plus élevé avec (72,7 %) après décongélation. Ce qui concorde avec l'étude de Van Landuyt et al., 2013 qui donne un pourcentage d'embryons entièrement intacts de 77,5% au jour 3 et qui révèle que l'obtention d'embryons entièrement intacts est une condition préalable à un programme de cryoconservation optimal, qui est plus susceptible de se produire après la vitrification.

Le taux de grossesse est élevé chez les patientes qui ont eu 0 blastomère en lyse après décongélation avec un pourcentage de 24,8%, par rapport aux patientes qui ont des embryons avec des blastomères lysés 1, 2 soit (25%) ou la moitié soit (50%) des blastomères lysés soit 13,8% et 6,7 % respectivement. il existe une différence significative entre le nombre de blastomères lysés par embryons clivés et les résultats du TEC,  $P = 0,05$ .

Les patientes qui ont des embryons avec une perte de blastomère possèdent un taux de grossesse chimique inférieur à celui des patientes qui ont des embryons entièrement intacts. Nos résultats concordent avec l'étude de wu et al., 2018.

Dans la même étude portant sur 12 105 cycles de transfert d'embryons congelés au stade du clivage, ils ont constaté que le transfert d'embryons avec des embryons endommagés était associé à des taux inférieurs d'implantation, de grossesse clinique, de grossesse en cours et de naissance vivante par rapport au transfert d'embryon intact. Le taux d'implantation était significativement plus élevé dans le groupe d'embryons intacts que dans le groupe avec des blastomères lysés (21,8 % vs 12,7 %,  $p < 0,001$ ). De plus, le groupe d'embryons intacts présentait des taux plus élevés de grossesses chimiques (42,0 % contre 25,5 %,  $p < 0,001$ ), de

grossesses cliniques (36,7 % contre 21,9 %,  $p < 0,001$ ), de grossesses en cours (31,6 % contre 18,7 %,  $p < 0,001$ ) et naissances vivantes (30,1 % contre 18,0 %,  $p < 0,001$ ) par cycle de transfert que le groupe avec perte de blastomère (Wu et al., 2018).

Nos résultats ne concordent pas avec l'étude de Van Landuyt et al., 2013 qui montre que le nombre de cellules perdues n'a aucun impact sur son potentiel d'implantation. Les taux d'implantation d'embryons avec 0, 1 ou 2 cellules endommagées étaient respectivement de 20 % ( $n = 50$ ), 21 % ( $n = 5$ ) et 27 % ( $n = 4$ ) après vitrification. Cette étude a également montré qu'une fois qu'un embryon survivant présente une reprise de la mitose après décongélation, il n'y avait ni impact du stade cellulaire à la cryoconservation, ni des dommages cellulaires sur sa capacité d'implantation.

Cependant, Une autre étude n'a rapporté aucune différence significative dans l'issue clinique de la grossesse entre la transplantation d'embryons avec 1 à 2 cellules altérées ou endommagées et la transplantation d'embryons avec des cellules intactes (Zheng et al., 2008).

Selon wang et al., 2021 les embryons endommagés ont réduit le nombre de blastomères et le taux de croissance, ce qui peut avoir un « effet toxique ». L'effet toxique a causé des dommages à la structure interne des embryons et a affecté le développement, l'éclosion et l'implantation.

Dans notre centre, les embryons vitrifiés-réchauffés ont été principalement transférés le jour même du réchauffement soit 97,8% ( $N=177$  cas) en raison des taux de progestérone le jour du transfert. Seul un petit nombre d'embryons soit 2,2 % ( $n =4$  cas) ont été transférés après 24 heures de culture ce qui est conforme avec l'étude de zhu et al., 2020 qui ont révélé que la culture pendant 48 h à 72 heures représente un pourcentage de (9,5 %), le transfert le jour de décongélation est de (87,5%) . Nos résultats montrent une différence très hautement significative entre la culture de 24 heures et le taux de grossesse  $P = 0,000$ . Nos résultats concordent avec l'étude de Zhu et al., 2020 qui ont révélé que le taux de grossesse est positivement associé à la durée de culture après décongélation. La probabilité de grossesse augmente avec une plus longue durée de culture après décongélation. Car la culture prolongée permet d'éliminer un embryon non développé et de permettre l'auto sélection d'embryons viables, ce qui peut réduire le nombre d'embryons transférés ou annuler le transfert d'embryons, et aboutit à des taux de grossesses plus élevés.

Nos résultats ne concordent pas avec l'étude de Guo et al., 2013 qui ont rapporté que le TEC avec culture courte et culture longue après décongélation n'avait pas un taux de grossesse différent.

L'augmentation progressive du nombre et de la durée des embryons Cryo conservés avec vitrification était bien signaler, nos résultats montrent que la durée de congélation la plus élevée pour les patientes qui ont fait le TEC dans notre échantillon est entre 3 et 6 mois, 6 et 12 mois avec un pourcentage de 33,1% et 29,3 % respectivement, sachant que la durée de congélation la plus longues dans notre échantillon était jusqu' à 3 ans. Nos résultats sont en accord avec l'étude de Lee et al., 2021 avec 57,4 % entre 0 et 6 mois et 18,3 % entre 7 et 12 mois dans le système ouvert. Nos résultats concordent avec une autre étude qui a montré que la durée de congélation la plus élevée est moins de 3 mois soit 45,8% suivie de la durée entre 3 et 6 mois soit 38,9 % (Li et al., 2020).

Nos résultats ont montré que la durée de conservation n'avait pas un effet négatif sur les résultats de la grossesse, ce qui était cohérent avec d'autres études qui ont révélé que la conservation des embryons dans l'azote liquide peut durer des mois, voire des années sans altérer des embryons (Lee et al., 2021),(Aflatoonian et., 2013).

Ashrafi et al., 2011 dans leur étude ont évalué les facteurs qui influencent le résultat du cycle de transfert d'embryons congelés décongelés, ils ont constaté qu'il n'y avait pas une différence significative dans le taux de grossesse lorsque la durée de conservation de la cryoconservation était inférieure ou supérieure à 180 jours.

Lors de la durée de congélation et de décongélation des embryons, nous avons constaté que la période la plus longue dans CCSR Ibn Rochd est de 6 ans (congelés en janvier 2008 et décongelés en décembre 2013) avec naissance.

Peu de cas ont été rapportés d'accouchements réussis de bébés en bonne santé à partir d'embryons humains décongelés après cryoconservation pendant une période prolongée. L'étude de (Teijon et al., 2006) ont signalé la naissance réussie d'un enfant en bonne santé à partir d'embryons nucléaires qui avaient été conservés pendant 13 ans.

La plus longue période de congélation de l'embryon conduisant à une naissance vivante est de 27 ans. Née fin octobre, en 2020, Molly Gibson est issue d'un embryon prélevé en 1992. Selon le centre national de don d'embryons de Knoxville (Tennessee).

Une autre longue période de congélation de l'embryon a conduit à une naissance vivante signalée par Dowling et al., en 2010 à partir d'un embryon au stade pro nucléaire congelé et décongelé près de 20 ans après sa cryoconservation.

Cependant, une autre étude a rapporté qu'avec l'augmentation de la durée de la cryoconservation des embryons vitrifiés avaient un impact négatif sur les résultats de la grossesse et des naissances vivantes (Li et al., 2020).

Il y a quelques inquiétudes dans ce contexte, ils ont pensé qu'il existe quelques mécanismes possibles comme, les radicaux libres et les effets toxiques liés aux Cryo protecteurs ( le formaldéhyde est une substance chimique cytotoxique et mutagène, est utilisé dans les solutions Cryo protectrices et la toxicité de certains Cryo protecteurs, comme le diméthylsulfoxyde (DMSO), sur le génome ) pourraient entraîner une augmentation de la fragmentation de l'ADN (Kopeika., et al 2015).

# **CONCLUSION**

## CONCLUSION

---

Au cours des dernières années, la stratégie de congélation « vitrification » est devenue une alternative acceptée et précieuse au transfert d'embryons frais, grâce à la demande croissante de traitements de fertilité et aux améliorations des techniques de cryoconservation. Il est avantageux de préserver les ovocytes ou les embryons et de reporter le transfert d'embryons à une date ultérieure. Dans les transferts d'embryons frais et congelés, plusieurs facteurs influencent le succès des techniques de PMA. Pour certains de ces facteurs, il peut être possible d'optimiser avant de commencer le traitement, cependant, l'âge de la mère reste le facteur le plus important influençant les résultats de la reproduction dans le transfert d'embryons congelés et frais, comme attendu l'âge est un principal facteur de succès en PMA, qui était significativement associé au taux de grossesse.

Nos résultats montrent que plus la femme est jeune, plus il y a d'ovocytes récupérés, d'ovocytes matures, d'embryons obtenus (congelés/décongelés) et plus le taux de grossesse est élevé.

Le protocole optimal de préparation endométriale n'est pas déterminé, Il n'y avait pas de différence significative dans le taux de grossesse. Cependant le cycle naturel a donné des résultats positifs plus élevés par rapport au cycle THS dans le TEC. Ce résultat ajoute des preuves soutenant que le cycle naturel est le premier choix chez les femmes ovulatoires avec transferts d'embryons congelés.

Nos résultats montrent que la progestérone sérique, mesurée le jour du transfert d'embryons, peut être utilisée pour prédire la fenêtre d'implantation d'embryons et donc une implantation réussie, si elle est inférieure ou égale au seuil de 8 ng/ml, il est préférable d'annuler le cycle de transfert. Les protocoles de préparation de l'endomètre améliorent les résultats des cycles de TEC, en particulièrement le protocole THS, qui devient donc crucial pour les centres d'AMP.

Sans aucun doute, le transfert de blastocyste restera toujours une option favorable et prometteuse pour les techniques de PMA. Afin d'augmenter les chances de grossesse (conception) pour les couples infertiles, lorsqu'ils sont disponibles, les blastocystes se développant à J5 doivent être préférés aux embryons clivés, dans les cycles vitrifiés/réchauffés dans tous les centres en PMA.

Le transfert de deux embryons ou 3 embryons était associé à un meilleur taux de grossesse que le transfert mono-embryonnaire avec risque de grossesse multiples.



## CONCLUSION

---

Des embryons vitrifiés peuvent être conservés plusieurs années dans l'azote liquide par cryoconservation sans conséquence sur leur taux de survie et leur taux de grossesse future.

Nos données ont confirmé que le taux de grossesse diminue avec le nombre de blastomères perdus en comparaison avec les embryons à 0 blastomères en lyse (les embryons intacts), il faut mieux transférer les embryons entièrement intacts ainsi que over night culture afin de transférer que les embryons qui ont repris leur cinétique de segmentation.

La vitrification permet aujourd'hui d'avoir des résultats voisins de ceux obtenus en transfert frais, l'augmentation de l'échantillonnage restera le meilleur moyen pour confirmer l'influence de ces facteurs sur le résultat du TEC avec l'utilisation de la nouvelle technique le hatchnig.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

AbdelHafez F., Desai N. Abou Setta A M. Falcone T. Goldfarb J. 2010. «Slow freezing, vitrification and ultra-rapid freezing of human embryos: a systematic review and meta-analysis". *Reprod. Biomed. Online* 20: 209 – 222.

Acosta A A., Elberger L. Borghi M. Calamera JC. Chemes H. Doncel G F. Kliman H. Lema B. Lustig L. Papier S. 2000. « Endometrial dating and determination of the window of implantation in healthy fertile women». *Fertil. Steril.* 73 : 788 -798.

Aflatoonian N., Eftekhar M . 2013. « Duration of Storage Does Not Influence Pregnancy Outcome in Cryopreserved Human Embryos ». *P11 (10):* 4.

Al-Hasani S., Ozmen B. Koutlaki N. Schoepper B. Diedrich K. Schultze-Mosgau A. 2007. Three years of routine vitrification of human zygotes: is it still fair to advocate slow-rate freezing? » *Reprod. Biomed. Online* 14, 288 – 293.

Allard M A., Séjourné N. Chabrol H. 2007. «Vécu des différentes étapes d'un processus de fécondation in vitro (FIV) ». *Gynécologie Obstétrique Fertil.* 35: 1009 –1014.

Alsbjerg B., Thomsen L. Elbaek HO. Laursen R. Povlsen BB. Haahr T. 2018. «Progesterone levels on pregnancy test day after hormone replacement ther apycryopreserved embryo transfer cycles and related reproductive outcomes». *Reprod Biomed Online* 37 :641-7.

Anav M., Ferrières Hoa A. Gala A. Fournier A. Zaragoza S. Vintejoux E. Vincens C. Hamamah S. 2018. «Poids de naissance et transfert d'embryon congelé : état de l'art». *Gynécologie Obstétrique Fertil. Sénologie* 46: 489- 496.

Arav A., Natan Y. 2019. « The Near Future of Vitrification of Oocytes and Embryos: Looking into Past Experience and Planning into the Future». *Transfus. Med. Hemotherapy* 46:182-187.

Arav A., Patrizio P. 2019. «Techniques of Cryopreservation for Ovarian Tissue and Whole Ovary ». *Reproductive Health* 13:1-5.

Ashrafi Mahnaz., Nadia Jahangiri. Fatemeh Hassani. Mohammad Reza Akhoond. Tahereh Madani. 2011. «The Factors Affecting the Outcome of Frozen–Thawed Embryo Transfer Cycle ». *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology* 50: 159-64.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

Basnayake SK., Volovsky M. Rombauts L. Osianlis T. Vollenhoven B. Healey M. 2018. « Progesterone concentrations and dosage with frozen embryo transfers - What's best? » *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 58:533- 8.

Ben Rhouma M., Okutman O. Muller J. Benkhalifa M. Bahri H. Ben Rhouma K. Tebourbi O. Viville S. 2019. «Aspect génétique de l'infertilité masculine : de la recherche à la clinique». *Gynécologie Obstétrique Fertil. Sénologie* 47: 54 - 62.

BeBrás de Guimarães B., Martins L. Metello J L. Ferreira F L. Ferreira P. Fonseca J M. 2020. «Application of Artificial Intelligence Algorithms to Estimate the Success Rate in Medically Assisted Procreation. *Reprod. Med.* 1: 181-194.

Burns W N., Gaudet TW. Martin M B. Leal YR. Schoen H. Eddy C A. Schenken R S. 1999. « Survival of cryopreservation and thawing with all blastomeres intact identifies multicell embryos with superior frozen embryo transfer outcome». *Fertil. Steril.* 72: 527-532.

Bunge RG., Sherman JK. 1953. « Fertilizing capacity of frozen human spermatozoa». *Nature.* 172(4382): 767-8.

Calhaz Jorge C., C De Geyter. M S Kupka. J de Mouzon. K Erb. E Mocanu. T Motrenko. G Scaravelli. C Wyns. et V Goossens s.d.2013. « Assisted Reproductive Technology in Europe, 2013: Results Generated from European Registers by ESHRE ». *Human Reproduction.* 32: 1957-1973.

Charlotte Mauroy. 2017. « Culture embryonnaire prolongée : 2006-2016 ». Thèse de doctorat en médecine. Option : Biologie et médecine du développement et de la reproduction. Université François Rabelais Tours.

Check JH, Horwath D. Summers Chase D.2009. «The effect of blastomere number on embryo survival upon freezing/thawing». *Clin Exp Obstet Gynecol* 36: 209.

Cédrin Durnerin I., Isnard T. Mahdjoub S. Sonigo C. Seroka A. Comtet M. Herbemont C. Sifer C. Grynberg M. 2019« Serum progesterone concentration and live birth rate in frozen-thawed embryo transfers with hormonally prepared endometrium ». *Reprod. Biomed. Online* 38: 472- 480.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

Chapuis A., Gala A. Ferrières Hoa A. Mullet T. Bringer Deutsch S. Vintejoux E. Torre A. Hamamah S. 2017. «Sperm quality and paternal age: effect on blastocyst formation and pregnancy rates». *Basic and Clinical Andrology*. 27: 2.

Conservation des paillettes de spermatozoïdes et d'embryons congelés dans l'azote liquide. CECOS (centre d'étude et de conservation des œufs et du sperme) du CHU de Bordeaux (cité le 28-mai-2013). Disponible sur : <http://www.phanie.com/index.php?idPageWeb=78>.

Cobo Ana., María José de los Santos. Damià Castellò. Pilar Gámiz. Pilar Campos. José Remohí. 2012. « Outcomes of Vitrified Early Cleavage-Stage and Blastocyst-Stage Embryos in a Cryopreservation Program: Evaluation of 3,150 Warming Cycles ». *Fertility and Sterility* 98: 1138-1146.

Donna Dowling., 2011. « Live birth from a frozen–thawed pronuclear stage embryo almost 20 years after its cryopreservation ».

El Toukhy T., 2003. « Effect of blastomere loss on the outcome of frozen embryo replacement cycles ». *Fertil. Steril.* 79:1106 -1111.

Fritz Rani., Sangita Jindal. Heather Feil. Erkan Buyuk. 2017. « Elevated Serum Estradiol Levels in Artificial Autologous Frozen Embryo Transfer Cycles Negatively Impact Ongoing Pregnancy and Live Birth Rates ». *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 34 (12): 1633-38.

Gaggiotti Marre S., Martinez F. Coll L. Garcia S. Alvarez M. Parriego M. Barri PN. Polyzos N. Coroleu B. 2019. «Low serum progesterone the day prior to frozen embryo transfer of euploid embryos is associated with significant reduction in live birth rates». *Gynecol Endocrinol*; 35 :439 - 42.

Jang T H., Park S C. Yang J H. Kim J Y. Seok J H. Park U S. Choi CW. Lee S R. Han J. 2017. « Cryopreservation and its clinical applications ». *Integr. Med. Res.* 6: 12–18.

Glujevsky D., Blake D. Baradach A. Farquhar C. 2013. «Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology (Review) ». *The Cochrane Library*. 113.

Guan Yichun., Hongfang Fan. Aaron K Styer. Zhiying Xiao. Zhen Li. Jianrui Zhang. Lijun Sun. Xingling Wang. Zhan Zhang. 2016. « A Modified Natural Cycle Results in Higher Live Birth Rate in Vitrified-Thawed Embryo Transfer for Women with Regular Menstruation ». *Systems Biology in Reproductive Medicine* 62 (5): 335-42.

Guo L., Luo C. Quan S .2013. « The outcome of different post-thawed culture period in frozen-thawed embryo transfer cycle». *J Assist Reprod* 30: 1589 – 1594.

Gullo G., Petousis S. Papatheodorou A. Panagiotidis Y. Margioulas-Siarkou C. Prapas N. D'Anna R. Perino A. Cucinella G. Prapas Y. 2020. «Closed vs. Open Oocyte Vitrification Methods Are Equally Effective for Blastocyst Embryo Transfers: Prospective Study from a Sibling Oocyte Donation Program». *Gynecol. Obstet. Invest.* 85: 206 - 212.

Hancke Katharina., Sabine More. Rolf Kreienberg. Jürgen M Weiss. 2012. « Patients Undergoing Frozen-Thawed Embryo Transfer Have Similar Live Birth Rates in Spontaneous and Artificial Cycles ». *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 29 (5): 403-7.

Hartshorne G M., K Wick K Elder. H Dyson. 1990 « Effect of Cell Number at Freezing upon Survival and Viability of Cleaving Embryos Generated from Stimulated FVF Cycles ». *5: 857-861.*

Kawamura Toshihiro., Hiroshi Motoyama. Atsushi Yanaiharu. Takeshi Yorimitsu. Akane Arichi. Yasuhiro Karasawa. Kahori Suga. 2007. « Clinical Outcomes of Two Different Endometrial Preparation Methods for Cryopreserved-Thawed Embryo Transfer in Patients with a Normal Menstrual Cycle: Natural vs HR Cycle Cryopreserved Embryo Transfer ». *Reproductive Medicine and Biology* 6 (1): 53-57.

Koch J., Rowan K. Rombauts L. Yazdani A. Chapman M. Johnson N. 2012. «Endometriosis and Infertility - a consensus statement from ACCEPT (Australasian CREI Consensus Expert Panel on Trial evidence) ». *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology* .52: 513–522.

Kofinas J D., Blakemore J. McCulloh D H. Grifo J. 2015. «Serum progesterone levels greater than 20 ng/dl on day of embryo transfer are associated with lower live birth and higher pregnancy loss rates». *J. Assist. Reprod. Genet.* 32:1395–1399.

Kopeika Julia., Alan Thornhill. Yacoub Khalaf. 2015. « The Effect of Cryopreservation on the Genome of Gametes and Embryos: Principles of Cryobiology and Critical Appraisal of the Evidence ». *Human Reproduction Update* 21 (2): 209-27.

Kupka M.S., D'Hooghe T. Ferraretti A P. Bacus J. Erb K. Castilla J A. Blockeel C. De Geyter Ch. Goossens V. 2016. «Assisted reproductive technology in Europe, 2011: results generated from European registers by ESHRE». *Hum. Reprod. dev*319.

Labarta E., Mariani G. Holtmann N. Celada P. Remohí J. Bosch E. 2017. «Low serum progesterone on the day of embryo transfer is associated with a diminished ongoing pregnancy rate in oocyte donation cycles after artificial endometrial preparation: a prospective study». *Hum. Reprod.* 32: 2437–2442.

Lawrenz B., Fatemi H. 2017. «Effect of progesterone elevation in follicular phase of IVF-cycles on the endometrial receptivity. *Reprod. Biomed. Online* 34: 422 - 428.

Lee H N., Park J K. Paek S K. Byun J H. Song H. Lee H J. Chang E M. Kim J W. Lee W S. Lyu S W. 2021. «Does duration of cryostorage affect survival rate, pregnancy, and neonatal outcomes? Large-scale single-center study of slush nitrogen (SN<sub>2</sub>) vitrified-warmed blastocysts». *Int. J. Gynecol. Obstet.* 152: 351–357.

Levron Jacob., Gil M. Yerushalmi Masha Brengauz. Itai Gat. Eldad Katorza. 2014. « Comparison between Two Protocols for Thawed Embryo Transfer: Natural Cycle versus Exogenous Hormone Replacement ». *Gynecological Endocrinology* 30 (7): 494-97.

Lévy-dutel L D., Berthaut I. Brunet L. Dudkiewicz sibony C. Minker C. Pfeffer J. 2015. « Le grand livre de la fertilité».

Lin Jiaying., Jialyu Huang. Qianqian Zhu. Yanping Kuang. Renfei Cai. Yun Wang. 2020. « Effect of Maternal Age on Pregnancy or Neonatal Outcomes among 4,958 Infertile Women Using a Freeze-All Strategy ». *Frontiers in Medicine* 6 : 316.

Li Z., Wang Y A. Ledger W. Edgar D.H. Sullivan E A. 2014. «Clinical outcomes following cryopreservation of blastocysts by vitrification or slow freezing: a population-based cohort study». *Hum. Reprod.* 29: 2794 - 2801.

Li Jianghui., Mingru Yin. Bian Wang. Jiaying Lin. Qiuju Chen. Ningling Wang. Qifeng Lyu. Yun Wang. Yanping Kuang. Qianqian Zhu. 2020. « The Effect of Storage Time after

Vitrification on Pregnancy and Neonatal Outcomes among 24 698 Patients Following the First Embryo Transfer Cycles ». *Human Reproduction* 35 (7): 1675-84.

Liu J., Zheng J. Ya lan Lei. Xiao feng Wen.2019« Effects of endometrial preparations and transferred embryo types on pregnancy outcome from patients with advanced maternal age». *Systems Biology in Reproductive Medicine*.

Loutradi K E., Kolibianakis E M. Venetis C A. Papanikolaou E G. Pados G. Bontis I. Tarlatzis BC. 2008. «Cryopreservation of human embryos by vitrification or slow freezing: a systematic review and meta-analysis». *Fertil. Steril.* 90: 186–193.

Luyet B J., Hodapp E L. 1938. « Revival of Frogs Spermatozoa Vitrified in Liquid Air». *Exp. Biol. Med.* 39: 433–434.

Ma W g., H Song S. C. Paria. S. K. Dey. 2003. « Estrogen Is a Critical Determinant That Specifies the Duration of the Window of Uterine Receptivity for Implantation ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100 (5): 2963-68

Maris E., Ferrieres-Hoa A. Gala A. Coffy A. Vintejou E. Ranisavljevic N. Hamamah S. 2019. «Embryons vitrifiés, embryons frais: comparaison des poids de naissance». *Gynécologie Obstétrique Fertil. Sénologie* 47: 305–310.

Mazur P., 1970. «Cryobiology: The Freezing of Biological Systems». *Science* 168: 939–949.

Mollard Christel. 2017. « Les techniques biomédicales en matière d’assistance médicale à la procréation conçues dans l’objectif de pallier l’infertilité médicale peuvent-elles évoluer de manière à être utilisées pour remédier à l’infertilité sociale ? » *Médecine & Droit* 2017 (142): 1-10.

Nagy Zsolt Peter., Daniel Shapiro. Ching Chien Chang. 2020. « Vitrification of the Human Embryo: A More Efficient and Safer in Vitro Fertilization Treatment ». *Fertility and Sterility* 113 (2): 241-47.

Oehninger S., Mayer J. Muasher S. 2000. « Impact of different clinical variables on pregnancy outcome following embryo cryopreservation». *Mol. Cell. Endocrinol.* 169: 73-77.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

Pan, Ye, Bo Li, Ze Wang, Ying Wang, Xiaoshu Gong, Wenqing Zhou, et Yuhua Shi. 2020. «Hormone Replacement Versus Natural Cycle Protocols of Endometrial Preparation for Frozen Embryo Transfer ». *Frontiers in Endocrinology* 11: 546532.

Pan Ye., Guimin Hao. Qiumin Wang. Hong Liu. Ze Wang. Qi Jiang. Yuhua Shi. Zi-Jiang Chen. 2020. «Major Factors Affecting the Live Birth Rate After Frozen Embryo Transfer Among Young Women ». *Frontiers in Medicine* 7 : 94.

Papanikolaou E G., Kolibianakis E M. Steirteghem AV. 2006. « In Vitro Fertilization with Single Blastocyst-Stage versus Single Cleavage-Stage Embryos». *N. Engl. J. Med.* 54:1139-46.

Paulson, R J., 2011. «Hormonal induction of endometrial receptivity ». *Fertil. Steril.* 96: 530-535.

Pegg DE., 2005. « The role of vitrification techniques of cryopreservation in reproductive medicine». *Hum. Fertil.* 8: 231–239.

Polge C., Smith AU. Parkes AS. 1949 «Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures». *Nature.* 164 : 666.

Rall WF., Fahy GM. 1985. «Ice-free cryopreservation of mouse embryos at -196 degrees C by vitrification». *Nature.* 313(6003): 573–5.

Rienzi L., Gracia C. Maggiulli R. LaBarbera A R. Kaser D J. Ubaldi F.M. Vanderpoel S. Racowsky C. 2016. «Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance». *Hum. Reprod. Update* .33:1–17.

Rienzi L., Ubaldi F. Iacobelli M. 2005 «Developmental potential of fully intact and partially damaged cryopreserved embryos after laser-assisted removal of necrotic blastomeres and post-thaw culture selection». *Fertil Steril* 84:888–94.

Roque M., Lattes K. Serra S. Sola I. Geber S. Carreras R. Checa MA. 2013. «Fresh embryo transfer versus frozen embryo transfer in in vitro fertilization cycles: a systematic review and meta-analysis». *Fertil. Steril.* 99:156–162.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

Royère D., Leridon H. Mandelbaum J. Rochebrochard É. Bailly E. Guibert J. Bouyer J. Jaoul M. Lenfant D. Esper C.B. 2011. «Dossier coordonné par Françoise Merlet et Bénédicte Vincent, Agence de la biomédecine 59».

Salumets A., Maria Suikkari A. Mäkinen S. Karro H. Roos A. Tuuri T. 2006. «Frozen embryo transfers: implications of clinical and embryological factors on the pregnancy outcome». *Hum. Reprod.* 21: 2368–2374.

Saragusty J., Arav A. 2011. «Current progress in oocyte and embryo cryopreservation by slow freezing and vitrification». *Reproduction.* 141: 1–19.

Sarandi S., Herbemont C. Sermondade N. Benoit A. Sonigo C. Poncelet C. Benard J. Gronier H. Boujenah J. Grynberg M. Sifer C. 2016. «Étude prospective comparant l'efficacité de la vitrification ovocytaire en système fermé ou en système ouvert». *Gynécologie Obstétrique Fertil.* 44: 280–284.

Saito Kazuki., Akira Kuwahara. Tomonori Ishikawa. Naho Morisaki. Mami Miyado. Kenji Miyado. Maki Fukami. 2019. «Endometrial Preparation Methods for Frozen-Thawed Embryo Transfer Are Associated with Altered Risks of Hypertensive Disorders of Pregnancy, Placenta Accreta, and Gestational Diabetes Mellitus ». *Human Reproduction* 34 (8): 1567-75.

Shih W., D Rushford. H Bourne. C. Garrett. J C McBain. D L Healy. H W G Baker. 2008. « Factors Affecting Low Birthweight after Assisted Reproduction Technology: Difference between Transfer of Fresh and Cryopreserved Embryos Suggests an Adverse Effect of Oocyte Collection ». *Human Reproduction* 23 (7): 1644-53.

Sifer C., 2014. «L'apport de la vitrification dans l'efficience de la fécondation in vitro». *Gynécologie Obstétrique Fertil.* 42: 721–724.

Sifer C ., N Sermondade, C Dupont. C Poncelet. I Cédrin-Durnerin. J N Hugues. B Benzacken. R Levy. 2012. «Issue de la vitrification des embryons précoces versus congélation lente». *Gynécologie obstétrique et fertilité.* 140: 158-161.

SonW Y., Chung J T. Gidoni Y. Holzer H. Levin D. Chian R C. Tan S L 2009. «Comparison of survival rate of cleavage stage embryos produced from in vitro maturation cycles after slow freezing and after vitrification». *Fertil. Steril.* 92: 956–958.

Step toe P C., Edwards R G. 1978. «BIRTH AFTER THE REIMPLANTATION OF A HUMAN EMBRYO». The Lancet 312, 366.

Teixeira D M., Miyague A H. Barbosa M A. Navarro P A. Raine-Fenning N. Natri C O. Martins W P. 2020. «Regular (ICSI) versus ultra-high magnification (IMSI) sperm selection for assisted reproduction». Cochrane database Syst. Rev.

Tihomirova, T., Parvanov, D. Stamenov, G. Chaushev, T. 2018. «MEASUREMENT OF SERUM PROGESTERONE LEVELS ON 9».

Teijón M López., O Serra R Olivares. M Moragas. C Castello. Jg Alvarez. 2006. « Delivery of a Healthy Baby Following the Transfer of Embryos Cryopreserved for 13 Years ». Reproductive BioMedicine Online 13 (6): 821-22.

Trounson A., Mohr linda. 1983. «Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo». Nature 305:760-769.

vander Linden M., Buckingham K. Farquhar C. Kremer JA. Metwally M. 2015. «Luteal phase support for assisted reproduction cycles». Cochrane Database Syst. Rev.

Vanderzwalmen P., Zech N. Greindl A J. Ectors F. Lejeune B. 2006. «Cryopréservation des embryons humains par vitrification». Gynécologie Obstétrique Fertil. 34:760–769.

Van Landuyt, L., H. Van de Velde, A. De Vos, P. Haentjens, C. Blockeel, H. Tournaye, et G. Verheyen. 2013. « Influence of Cell Loss after Vitrification or Slow-Freezing on Further in Vitro Development and Implantation of Human Day 3 Embryos ». Human Reproduction 28 (11): 2943-49.

Wang J X., Yap Y.Y. Matthews C.D. 2001. «Frozen-thawed embryo transfer: influence of clinical factors on implantation rate and risk of multiple conception». Hum. Reprod. 16: 2316–2319.

Wang Ningling., Xinxi Zhao. Meng Ma. Qianqian Zhu. Yao Wang. 2021. « Effect of Day 3 and Day 5/6 Embryo Quality on the Reproductive Outcomes in the Single Vitrified Embryo Transfer Cycles ». Frontiers in Endocrinology 12 (avril): 641623.

Wirleitner B., Schuff M . A Stecher. M Murtinger. P. Vanderzwalmen. 2016. « Pregnancy and birth outcomes following fresh or vitrified embryo transfer according

to blastocyst morphology and expansion stage, and culturing strategy for delayed development». *Human Reproduction*, 0 : 1–11.

Whittingham DG., Leibo SP. Mazur P. 1972 . « Survival of mouse embryos frozen to -196 degrees and -269 degrees C». *Science*. 178(4059): 411–4.

Wu Yan-Ting., Li C. Zhu Yi-Min. Zou Shu-Hua. Wu Qiong-Fang. Wang Li-Ping. Wu Yan. Yin Rong. Shi Chao-Yi. Jing Lin. Zi-Ru Jiang. Xu Yi-Jing. Su Yun-Fei. Zhang Jian. Sheng Jian-Zhong. 2018. «Outcomes of neonates born following transfers of frozen-thawed cleavage-stage embryos with blastomere loss: a prospective, multicenter, cohort study » *BMC Medicine*.

Yarali H., Polat M. Mumusoglu S. Yarali I. Bozdog G. 2016. «Preparation of endometrium for frozen embryo replacement cycles: a systematic review and meta-analysis». *J. Assist. Reprod. Genet.* 33: 1287–1304.

Yovich J L., Conceicao J L. Stanger J D. Hinchliffe PM. Keane K N. 2015. «Mid-luteal serum progesterone concentrations govern implantation rates for cryopreserved embryo transfers conducted under hormone replacement». *Reprod. Biomed. Online* 31: 180–191.

Zegers-Hochschild F., G D Adamson. J de Mouzon O. Ishihara R. Mansour K. Nygren E. Sullivan S. van der Poel et on behalf of ICMART and WHO. 2009. « The International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) Revised Glossary on ART Terminology, 2009 ». *Human Reproduction* 24 (11): 2683-87.

Zhang S., Lu C. Lin G. Gong F. Lu G. 2009. « The number of blastomeres in post-thawing embryos affects the rates of pregnancy and delivery in freeze-embryo-transfer cycles». *J. Assist. Reprod. Genet.* 26: 569–573.

Zheng X., Liu P. Chen G. Qiao J. Wu Y. Fan M. 2008. « Viability of frozen-thawed human embryos with one–two blastomeres lysis ». *J Assist Reprod Genet* 25:281-285.

Zheng Yu., Zhou Li. Min Xiong. Ting Luo. Xiyuan Dong. Bo Huang. Hanwang Zhang . Jihui Ai. 2014. « Hormonal Replacement Treatment Improves Clinical Pregnancy in Frozen-Thawed Embryos Transfer Cycles: A Retrospective Cohort Study » 6.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

Zhu Haiyan., Wen Xu. Xiaoying Jin. Yamei Xue. Xiaomei Tong. Songying Zhang.2020  
« Association of the duration of post-thaw culture with clinical outcome after vitrified  
warmed day 3 embryo transfer in 10,464 cycles : A retrospective cohort study» .Medicine  
99:33.

# **ANNEXES**

(Annexe. 1) Les résultats de la CCSR Ibn Rochd : Comparaison entre la vitrification et la Congélation lente

**Tab. 1: Données biologiques**

	Congélation lente (77)	Vitrification (50)	P
Age	31.94±4.44	31.42±4.70	N.S
Ovo.MII	11.51±4.64	10.64±3.49	N.S
Nb emb	8.68±3.28	8.06±2.84	N.S
Nb Emb Cong	290	154	N.S
Nb Emb déc.	3.76±2.45	3.08±1.20	N.S
Nb Emb transf.	235	133	N.S
	3.05±1.89	2.66±0.55	
	166	116	N.S
	2.15±0.65	2.32±0.68	
Nb Emb lysés	68 (28,93%)	16 (12%)	S
Nb Emb 100% intactes	148 (62,97%)	103 (77,44%)	S
Taux de Survie (>50%)	169/235 (71.91%)	116/133 (87.21%)	S

**Tab. 2 :Taux de grossesses**

	Congélation lentes (77)	Vitrification (50)	P
BHCG (+)	11/77 (14.28%)	11/50 (22%)	N.S
Taux de naissance	6/11 07;79%	6/11 12%	NS
ABRT	05/11 (45.45%)	05/11 (45.45%)	N.S
Grossesse multiples	3/11 (27.27%)	3/11 (27.27%)	NS
Sexe	05 Filles 01 Garçon	05 Filles 01 Garçons	
Taux d'implantation	14/166 (08.43%)	16/116 (13.79)	N.S

## Résumé :

**Contexte et objectif :** La cryoconservation d'embryons avec transfert d'embryons congelés-décongelés (TEC) après l'utilisation de la technique de vitrification, est devenu un élément essentiel des techniques de PMA, l'objectif de notre travail est d'étudier les facteurs de réussite du TEC.

**Matériel et méthodes :** Il s'agit d'une étude rétrospective menée sur 181 patientes qui ont fait un TEC après vitrification entre 2015 et 2020 dans le centre de PMA la clinique Ibn Rochd Constantine. Les critères étudiés sont : l'âge, le taux de progestérone, la culture 24 h, la préparation de l'endomètre, le jour du transfert, le nombre d'embryons transférés, la durée de cryoconservation, le nombre de blastomères lysés par embryons clivés.

**Résultats :** Nos résultats montrent que les facteurs ayant un impact sur les résultats du TEC sont l'âge, la culture 24 h, le nombre d'embryons transférés, le nombre de blastomères lysés par embryons clivés. Les grossesses chez les femmes ayant un âge inférieur à 35 ans dépassent significativement les autres catégories ( $p < 0,05$ ). L'âge est un facteur décisif lors d'un transfert d'embryon frais et congelés. Le protocole optimal de préparation endométriale n'est pas déterminé, il n'y avait pas de différence significative dans le taux de grossesse. Cependant le cycle naturel a donné des résultats positifs plus élevés par rapport au cycle de THS dans le TEC (33,3% vs 19,4%). Le transfert de deux embryons ou 3 embryons était associé à un meilleur taux de grossesse que le transfert mono-embryonnaire ( $p < 0,05$ ), et le transfert de blastocyste restera toujours une option favorable et prometteuse en TEC en comparaison avec le stade clivé (23,5% vs 21,5) et si le taux de progestérone le jour du transfert est inférieur ou égale au seuil de 8 ng/ml, il est préférable d'annuler le cycle de transfert. Le transfert d'embryons avec des blastomères entièrement intacts est associé à des taux de conception plus élevés que les embryons avec des blastomères lysés ( $p \leq 0,05$ ). Ainsi que les embryons qui ont fait over night culture donnent un taux de grossesse plus élevé que les embryons qui n'ont pas fait (100% vs 19,2%) ( $p < 0,001$ ), et la durée de cryoconservation n'influence pas sur le taux de grossesse.

**Conclusion :** Les résultats trouvés témoignent le succès des résultats après TEC. La vitrification permet aujourd'hui d'avoir des résultats voisins de ceux obtenus en transfert frais.

**Mots clés :** L'infertilité, PMA, la vitrification, transfert d'embryons congelés, la progestérone, la lyse.