



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de
la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biochimie et Biologie Moléculaire et Cellulaire البيوكيمياء والبيولوجيا الجزيئية والخلوية

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)

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

L'impact de la culture embryonnaire groupée sur les résultats de
la FIV/ICSI en termes de blastulation, d'implantation et de grossesse

Présenté par : BENNIA Maria

Le :12/06/2024

GHANEM Meriem Manar

Jury d'évaluation :

Présidente : ROUABAH Leila (Pr – Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadrante : OUNIS Leyla (MCA – Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Co- encadrant : ZOGHMAR. A (MA- Clinique Ibn Rochd- Constantine).

Examinatrice : ZEGHDAR Moufida (MCB – Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire
2023 – 2024

REMERCIEMENTS

En préambule à ce mémoire, Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères à Dieu qui nous aide et nous donne la patience et le courage durant ces années d'étude. C'est pour nous un réel plaisir de remercier toutes les personnes qui nous ont, de près ou de loin, participé à la réalisation de ce travail.

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères à notre encadreur Madame OUNIS Leyla on est fières et très reconnaissantes du grand honneur que vous nous faites en acceptant de nous encadrer. Votre compétence, vos précieux conseils et votre aide durant toute la période du travail et vos qualités humaines suscitent notre grande admiration. Merci d'avoir partagé vos connaissances, de nous avoir accordé votre temps, d'avoir toujours été à l'écoute.

On voudrait exprimer nos remerciements ainsi que notre profonde gratitude au Docteur A.Zoghmar médecin biologiste de la clinique IBN ROCHD Constantine d'avoir co-dirigé le travail et de nous avoir accordé sa confiance en nous permettant d'entreprendre nos recherches dans son service. Sa compétence et ses connaissances et sa grande maîtrise du domaine de la PMA nous ont été d'une grande utilité tout au long de ce travail.

On tient aussi à remercier tous les membres de jury qui ont accepté d'évaluer et de juger le présent travail.

Pr ROUABAH Leila, c'est avec grand plaisir que nous vous remercions et exprimons notre gratitude sincère pour l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de présider notre jury de thèse. Nous souhaitons également témoigner notre appréciation pour le temps que vous passez au service des étudiants, pour nous apporter une formation de qualité, pour vos précieux conseils, votre bienveillance, ainsi que votre disponibilité, nous vous exprimons notre respect et notre affection.

On adresse nos vifs remerciements à Dr. ZEGHDAR Moufida d'avoir accepté d'examiner notre travaille et pour nous avoir permis de tirer la meilleure partie de vos connaissances et de votre travail acharné au cours des dernières années, en espèrent que notre travail sera à la hauteur de ses attentes.

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce à l'aide de plusieurs personnes à qui nous voudrions exprimer notre profonde gratitude :

À « Milat Housseem Eddine », merci pour votre accueil chaleureux, pour nous avoir aidés et conseillés, pour avoir fourni tout le nécessaire pendant toute cette période. Nous vous sommes très reconnaissants.

À « NOURINE Besma Hibat Allah » merci pour toutes les connaissances que vous nous avez fournies, conseils, encouragements et orientation pour nous aider à trouver des moyens d'aller de l'avant.

Ainsi que tout le personnel de la clinique IBN Rochd pour leur orientation et accueil Sympathique et chaleureux lors des jours des stage.

Dédicace

À moi-même « Maria » Pour avoir surmonté les défis et les obstacles rencontrés tout au long de ce parcours académique, et pour avoir cru en mes capacités tout en persévérant malgré les difficultés. Ce mémoire est le fruit de ma détermination, de mon désir d'apprendre et de progresser, je suis fière de moi.

Ce mémoire est dédié à mes parents. À mon père « Rachid » pour son soutien constant, ses conseils avisés et son amour inébranlable. Il m'a enseigné la valeur du travail acharné et de la persévérance, et son encouragement sans faille m'a permis de surmonter chaque obstacle. À ma mère « Djahida » pour sa tendresse infinie, son amour inconditionnel et son appui indéfectible. Sa présence aimante, ses encouragements constants et sa bienveillance ont été mes piliers tout au long de mon parcours académique. Je leur suis profondément reconnaissante pour tout ce qu'ils ont fait pour moi et pour avoir été mes sources d'inspiration et de courage.

À ma sœur adorée, « Asma » Tu as toujours été là pour moi, dans les moments de doute comme dans les moments de réussite. Ton rire, tes conseils avisés et ta bienveillance ont été des sources inestimables de réconfort et de motivation. Merci d'avoir cru en moi et de m'avoir inspiré à donner le meilleur de moi-même.

À mon frère « Mohamed Ali » et sa chère femme « Yousra » à mon frère « Abd Aljalil » et sa chère femme « Amira » ainsi qu'à mon frère « Mouatez Billah » Merci de croire en moi et de m'inspirer chaque jour. Ce travail est le reflet de votre présence et de votre influence positive dans ma vie.

À ma meilleure amie et binôme « Manar » Travailler à tes côtés a été une expérience inoubliable. Je suis profondément reconnaissante pour tout ce que nous avons accompli ensemble. Nous avons surmonté les obstacles et célébré les réussites, rendant ce voyage bien plus enrichissant. Ce mémoire est le reflet de notre travail d'équipe et de notre amitié.

À ma chère amie « Yasmina » Ta présence dans ma vie est un cadeau précieux que je chéris chaque jour. Merci infiniment d'être toujours là pour moi, de partager mes joies et mes peines, Puissions-nous continuer à partager de merveilleux souvenirs.

À « Manar » « Salsabil » « Chams » Tes encouragements et ton soutien ont été un phare dans les moments sombres et une source de motivation constante, merci pour tout.

Maria ♥

Dédicace

Tout d'abord, je remercie Allah qui m'a guidé et aidé, qui m'a donné la force, le courage et la volonté d'aller au bout de ce chemin et de ce travail que je dédie à ma personne après tous ces durs moments de fatigue que j'ai surmonté grâce à son aide.

Celle qui a été là depuis le début, qui m'a accompagné jusqu'au bout, m'a mise au monde, m'a bien élevée et m'a appris mes premiers mots que j'ai prononcés, je lui dédie cet ouvrage en signe de reconnaissance. Elle a été patiente avec moi, m'a donné de l'espoir et a toujours été à mes côtés en tout moment. Merci d'avoir dû supporter mes sautes d'humeur et mes incompréhensions. Merci, tout simplement parce que tu existes, car si j'ai de la force et du courage, c'est parce que je suis ta fille. Je t'aime maman « Fadila ».

Je te dédie ce travail, cher Papa « Aziz », toi qui m'as toujours encouragé dans mes études et poussé à aller le plus loin possible. Merci de veiller sur moi, comme tu l'as toujours fait.

À ma chère tante « Akila » qui m'a soutenu et prié pour moi avec amour et sincérité. Elle a été pour moi une main secourable et une source de force en tout temps. Je suis reconnaissant pour tout ton soutien et ta tendresse.

À mon frère unique, « Aimen », qui a toujours été tendre et aimant. Tu as été une source d'inspiration et un soutien inestimable tout au long de ma vie.

Je dédie ce travail à mes familles « Ghanem » et « Sattouf », et spécialement aux petits « Abderrahmane », « Abdullahi » et « Djawad, Merci pour votre amour et votre soutien incomparables.

À ma meilleure amie et binôme "Maria", nous avons partagé beaucoup de choses, et nous avons parcouru ce voyage ensemble avec tous ses détails, et maintenant que nous sommes arrivés... Pour terminer, je tiens à te remercier d'avoir été là tout au long du voyage. Je présente également mes salutations à votre mère, merci pour votre gentillesse et d'avoir donné naissance à mon amie.

Avec tout mon amour et ma gratitude, j'adresse mes remerciements à mes amis et à tous ceux qui m'ont soutenu, m'ont encouragé à persévérer et ont prié Dieu pour moi. Je ne peux que vous remercier tous pour l'amour et le soutien que vous m'avez apporté. J'espère avoir répondu à la confiance que vous m'avez accordée.

Meriem Manar ♥

Résumé

Contexte et objectif : La phase de culture embryonnaire in vitro revêt une importance cruciale dans le cadre des traitements de procréation médicalement assistée pour le succès de la FIV/ICSI. En effet, dès le début de la PMA, les embryologistes optent pour la culture embryonnaire individuelle. Récemment, une stratégie prometteuse pour améliorer les résultats de cette culture a émergé : la culture embryonnaire groupée. Notre étude vise à évaluer l'impact de cette dernière sur le succès de la FIV/ICSI, par rapport à la culture embryonnaire individuelle.

Matériel et méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective et prospective portée sur 180 dossiers de patientes ayant consultés entre 2023 et 2024 au centre de PMA de la clinique IBN ROCHD, Constantine. Parmi les dossiers étudiés, 80 patientes ont fait une culture d'embryons en groupe, tandis que 100 patientes ont fait une culture d'embryons individuelle. Les paramètres étudiés sont : l'âge des patientes, le nombre d'ovocytes recueillis, le nombre d'embryons obtenus, le taux de blastulation, le jour du transfert, le taux de grossesse et le taux d'implantation.

Résultats : Les résultats obtenus montrent que l'âge des femmes, le nombre d'ovocytes recueillis et le nombre d'ovocytes matures ont un impact significatif sur le choix de type de culture avec ($P=0,001$, $P=0,000$, $P=0,000$ respectivement). La sensibilité entre les ovocytes recueillis et les types de culture est de 85 %, et la spécificité est de 79 %, avec une valeur seuil de 8 ovocytes. En revanche, le taux de fécondation n'a pas d'effet sur les types de culture ($P>0,05$).

Dans la culture embryonnaire groupée, nous avons trouvé un taux de blastulation très élevé (40%) chez les patientes âgées de moins de 36 ans. En outre, nous avons constaté que la culture en groupe avait un impact significatif sur le nombre d'embryons obtenus ($P = 0,000$). La sensibilité entre les embryons obtenus et les deux types de culture est de 72 % et la spécificité est de 79 %, avec une valeur seuil de 4 embryons. Nous avons trouvé que la culture embryonnaire de type groupé a un impact significatif sur le choix du jour de transfert ($P = 0,000$), qui dépend du seuil de 5 ovocytes matures ou de 3 embryons. Au-delà de ces valeurs, les embryons atteignent le stade de blastocyste, donc le transfert se fait le cinquième jour. Nous avons constaté que la culture embryonnaire en groupe présentait un effet significatif sur le taux d'implantation ($P = 0,041$) et le taux de grossesse ($P = 0,04$), surtout pour les femmes âgées de moins de 36 ans, avec 2,2 fois plus de chances de grossesse par rapport à la culture individuelle.

Cependant, cette influence significative n'était pas observée sur le taux de segmentation et les embryons transférés ($P > 0,05$), que ce soit dans le cadre d'un transfert d'un, deux ou trois embryons, dans les deux types de culture embryonnaire.

Conclusion : Ce travail permet de démontrer que la culture groupée a un impact sur les résultats de la FIV/ICSI et donne de meilleurs taux de blastulation, d'implantation et de grossesse que la culture individuelle.

Mots clés : Culture embryonnaire, Culture groupée, Culture individuelle, PMA, FIV, ICSI.

Summary

Background and purpose: The in vitro embryonic culture phase plays a crucial role in assisted reproductive treatments for the success of IVF/ICSI. Indeed, from the beginning of ART, embryologists opt for individual embryonic culture. Recently, a promising strategy to improve the outcomes of this culture has emerged: group embryonic culture. Our study aims to assess the impact of the latter on the success of IVF/ICSI, compared to individual embryonic culture

Material and methods: this is a retrospective and prospective study conducted on 180 patient files from consultations at the Assisted Reproductive Technology (ART) center of IBN ROCHD Clinic, Constantine, between 2023 and 2024. Among the analyzed files, 80 patients underwent group embryo culture, while 100 patients underwent individual embryo culture. The studied parameters are: the age of the patients, the number of oocytes retrieved, the number of embryos obtained, the blastulation rate, the day of transfer, the pregnancy rate, and the implantation rate.

Results: The results show that the age of the women, the number of oocytes retrieved, and the number of mature oocytes have a significant impact on the choice of culture type (with $P=0.001$, $P=0.000$, $P=0.000$, respectively). The sensitivity between collected oocytes and culture types is 85%, and the specificity is 79%, with a threshold value of 8 oocytes. Conversely, the fertilization rate does not affect the type of culture ($P>0.05$).

In group embryo culture, we found a very high blastulation rate (40%) in patients under the age of 36. Furthermore, we observed that group culture had a significant impact on the number of embryos obtained ($P = 0.000$). The sensitivity between obtained embryos and the two culture types is 72%, and the specificity is 79%, with a threshold value of 4 embryos. We found that group embryo culture had a significant impact on the choice of transfer day ($P = 0.000$), depending on the threshold of 5 mature oocytes or 3 embryos. Beyond these values, embryos reach the blastocyst stage, so transfer occurs on the fifth day. We observed that group embryo culture had a significant effect on implantation rate ($P = 0.041$) and pregnancy rate ($P = 0.04$), especially for women under the age of 36, with 2.2 times higher chances of pregnancy compared to individual culture

However, this significant influence was not observed on the segmentation rate and the embryos transferred ($P > 0.05$), whether in the context of transferring one, two, or three embryos, in both types of embryo culture.

Conclusion: This study demonstrates that group culture has an impact on the outcomes of IVF/ICSI and yields better rates of blastulation, implantation, and pregnancy compared to individual culture.

Key words: Embryo culture, Group culture, Individual culture, ART, IVF, ICSI.

المخلص

المقدمة: تعتبر مرحلة زراعة الأجنة في المختبر ذات أهمية حاسمة في سياق علاجات الإنجاب بمساعدة طبية لنجاح التلقيح الاصطناعي/الحقن المجهري. في الواقع، منذ بداية الإنجاب بمساعدة طبية، يختار علماء الأجنة زراعة الأجنة الفردية. في الآونة الأخيرة، ظهرت استراتيجيات واعدة لتحسين نتائج هذه الثقافة: زراعة الأجنة المجمعة. تهدف دراستنا إلى تقييم تأثير هذه الأخيرة على نجاح التلقيح الاصطناعي/الحقن المجهري، مقارنة بزراعة الأجنة الفردية.

عينة الدراسة: هذه دراسة بأثر رجعي ومستقبلي أجريت لـ 180 مريضة تمت استشارتهن بين عامي 2023 و2024 في مركز الانجاب بمساعدة طبية التابع لعيادة ابن رشد، قسنطينة. من بين الملفات التي تمت دراستها، قام 80 مريضاً بزراعة أجنة جماعية، بينما قام 100 مريضاً بزراعة أجنة فردية. العوامل التي تمت دراستها هي: عمر المرضى، عدد البويضات التي تم جمعها، عدد الأجنة التي تم الحصول عليها، معدل الانفجار، يوم النقل، معدل الحمل ومعدل الزرع.

النتائج: أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن عمر المرأة، عدد البويضات المجمعة، وعدد البويضات الناضجة لهم تأثير على اختيار نوع الثقافة (($P=0.001$), ($P=0.000$), ($P=0.000$) على التوالي). تبلغ الحساسية بين البويضات التي تم جمعها وأنواع الثقافة الجنينية 85%، والنوعية 79%، مع قيمة عتبة تبلغ 8 بويضات. من ناحية أخرى، لم يكن لمعدل الإخصاب أي تأثير على نوع الثقافة ($P>0,05$).

في زراعة الأجنة المجمعة، وجدنا معدل انفجار مرتفع جداً (40%) لدى المرضى الذين تقل أعمارهم عن 36 عامًا. علاوة على ذلك، وجدنا أن ثقافة المجموعة كان لها تأثير كبير على عدد الأجنة التي تم الحصول عليها ($P=0.000$). تبلغ الحساسية بين الأجنة التي تم الحصول عليها ونوعي الثقافة الجنينية 72% والنوعية 79%، مع قيمة عتبة 4 أجنة. لقد وجدنا أن زراعة الأجنة المجمعة لها تأثير على اختبار يوم النقل ($P=0.000$)، والذي يعتمد على عتبة 5 بويضات ناضجة أو 3 أجنة. وبعد هذه القيم تصل الأجنة إلى مرحلة الكيسة الأريمية، فتتم عملية النقل في اليوم الخامس. لقد وجدنا أن زراعة الأجنة الجماعية أظهرت تأثيراً على معدل الزرع ($P=0.041$) ومعدل الحمل ($P=0.04$)، خاصة بالنسبة للنساء الأصغر من 36 عامًا، مع زيادة فرصة الحمل بمقدار 2.2 مرة مقارنة بالثقافة الفردية.

ومع ذلك، لم يلاحظ هذا التأثير الكبير على معدل التجزئة والأجنة المنقولة، سواء في سياق نقل واحد أو اثنين أو ثلاثة أجنة، في كلا النوعين من الثقافة الجنينية ($P>0,05$).

الخلاصة: يوضح هذا العمل أن الثقافة الجماعية لها تأثير على نتائج التلقيح الاصطناعي/الحقن المجهري وتعطي معدلات تفجير وزرع وحمل أفضل من الثقافة الفردية.

الكلمات المفتاحية: الثقافة الجنينية، الثقافة الجماعية، الثقافة الفردية، الإنجاب بمساعدة طبية، التلقيح الاصطناعي، الحقن المجهري.

Liste des abréviations

- ADN :** Acide Désoxyribonucléique.
- AKT :** Sérine thréonine kinase.
- AMH :** Hormone anti-müllérienne.
- AMPc :** Adénosine Monophosphate cyclique.
- ARNm :** Acide Ribonucléique messenger.
- ARNr :** Acide Ribonucléique ribosomal.
- ATP :** Adénosine Triphosphate.
- BAD :** Promoteur de la mort associé à Bcl-2.
- BAX :** Bcl-2 associé X.
- BCL2 :** Lymphome des cellules B 2.
- CAC :** Contaminants chimiques aéroportés.
- COV :** Composés organiques volatils.
- CREB :** Protéine de liaison aux éléments de réponse à l'AMPc.
- CSF-1 :** Facteur de stimulation des colonies-1.
- DGP :** Dépistage génétique préimplantatoire.
- DPI :** Diagnostic Pré-implantatoire.
- FIV:** Fécondation in vitro.
- FSH:** Hormone folliculo-stimulante.
- GCPR :** Récepteur de protéine couplé au protéine G.
- GIFT :** Transfert intra-fallopéen de gamètes.
- HA :** Acide hyaluronique.
- HSA :** Albumine sérique humaine.
- ICM :** Masse cellulaire interne.
- ICSI :** Injection intracytoplasmique de spermatozoïdes.
- IGF2R :** Récepteur du facteur de croissance 2 analogue à l'insuline.
- IGF-I :** Facteur de croissance analogue à l'insuline I.
- IU :** Insémination intra-utérine.
- IL-1 :** Interleukine-1.
- IL-6 :** Interleukine-6.

IMC : Indice de masse corporelle.

JNK: c-Jun N-terminal kinase.

LH : Hormone lutéinisante.

LPA : Acide lysophosphatidique.

MAPK : Protéine kinase activée par un mitogène.

MDM2 : Protéine murine double minute 2.

microARN : micro-Ribonucléique Acide.

MIP : Maladie inflammatoire pelvienne.

ng/ml : Nanogrammes par millilitre.

O2 : Oxygène.

PAF : Facteur d'activation plaquettaire.

PDK1 : Protéine kinase 1 dépendante du 3-phosphoinositide.

PG : Prostaglandine.

pg/ml : Picogrammes par millilitre.

pH : Potentiel hydrogène.

PI3K: Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase.

PIF : Facteur peptidique préimplantatoire.

PIP3: Phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate.

PIV: Production d'embryons in vitro.

PMA : Procréation médicalement assistée.

POI : Insuffisance ovarienne primaire.

PPAR : Récepteurs activés par les peroxysomes-proliférateurs.

RTK : Récepteurs à tyrosine kinase.

RXR : Récepteur rétinol- α .

SOPK : Syndrome des ovaires polykystiques.

SSS : Substitut de sérum synthétique.

TGF : Facteur de croissance transformant.

UI/l : Unité internationale par litre.

ZIFT : Transfert intra-fallopéen de zygote.

Liste des figures

Figure. 01: Schéma explicatif des étapes de la technique d'Insémination intra-utérine	9
Figure. 02: Schéma explicatif des étapes de la technique de la FIV	9
Figure. 03: Schéma explicatif de la technique d'ICSI	10
Figure. 04: Exemple représentant l'accumulation d'ammonium en présence d'oxygène atmosphérique	13
Figure. 05: Schéma représentatif des différences spécifiques au stade dans la réponse de l'embryon au stress iatrogène	16
Figure. 06: Illustration schématique de la présence d'embryotropines autocrines lors de cultures individuelles	17
Figure. 07: Illustration schématique de la présence d'embryotropines paracrines lors d'une culture de groupe	19
Figure. 08: Schéma explicatif de stade zygote	21
Figure. 09: Embryon de 2-4 cellules	22
Figure. 10: Embryon de 6-8 cellules	22
Figure. 11: Schéma explicatif de stade morula	23
Figure. 12: Schéma explicatif de stade blastocyste	23
Figure. 13: Schéma explicatif des voies de sécrétion des agents de signalisation	25
Figure. 14: Schéma explicatif des voies de signalisation des agents embryotropines	30
Figure. 15: Schéma explicatif de communication entre l'embryon et le tractus maternel in vivo impliquant des facteurs paracrines, autocrines et endocriniens	31
Figure. 16: Répartition des patientes selon les types de culture.	38
Figure. 17: Répartition des ovocytes recueillis selon les types de culture.	38
Figure. 18: Répartition des patientes en fonction de l'âge de la femme.	39
Figure. 19: Répartition des patientes en fonction du jour de transfert.	40
Figure. 20: Répartition des patientes selon le nombre d'embryons transférés.	41
Figure. 21: Répartition des patientes selon le nombre de sacs implantés.	41
Figure. 22: Répartition des patientes selon l'implantation des sacs.	42
Figure. 23: Lien entre les types de culture et le taux de maturation.	47
Figure. 24: Lien entre les types de culture et le taux de fécondation.	47
Figure. 25: Lien entre les types de culture et le taux de segmentation.	48
Figure. 26: Lien entre les types de culture et le nombre d'embryons transférés.	51
Figure. 27: Lien entre les types de culture et le taux de l'implantation.	52

Figure. 28: Lien entre les types de culture et le taux de grossesse.....	53
Figure. 29: La courbe ROC du nombre d'ovocytes recueillis, déterminant la valeur seuil entre les deux types de la culture embryonnaire groupée ou individuelle.	54
Figure. 30: La courbe ROC du nombre d'embryons obtenus, déterminant la valeur seuil entre les deux types de la culture embryonnaire groupée ou individuelle.	56

Liste des tableaux

Tableau. 01: Les avantages et les inconvénients de la culture embryonnaire individuelle. ...	18
Tableau. 02: Les avantages et les inconvénients de la culture embryonnaire groupée.....	20
Tableau. 03: Lien entre les types de culture et l'âge de la femme.....	43
Tableau. 04: Lien entre les types de culture et le taux d'AMH.....	43
Tableau. 05: Lien entre les types de culture et le bilan hormonal de stimulation.....	45
Tableau. 06: Lien entre les types de culture et le nombre des ovocytes recueillis.	45
Tableau. 07: Lien entre les types de culture et le nombre d'ovocytes matures.	46
Tableau. 08: Lien entre les types de culture et le nombre d'embryons obtenus.....	49
Tableau. 09: Les calculs de la valeur seuil des embryons obtenus et des ovocytes matures..	49
Tableau. 10: Lien entre les types de culture et le jour de transfert.	50
Tableau. 11: Les coordonnées de la courbe ROC du nombre d'ovocytes recueillis.	55
Tableau. 12: Les coordonnées de la courbe ROC du nombre d'embryons obtenus.....	57

Table des matières

REMERCIEMENTS

Résumé

Summary

الملخص

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE..... 3

I. Notions et concepts 4

I.1. Infertilité 4

I.1.1. Infertilité féminine 4

I.1.1.1. Infertilité féminine primaire..... 4

I.1.1.2. Infertilité féminine secondaire 4

II. Les causes d'infertilité féminine 4

II.1. Les anomalies anatomiques 4

II.1.1. Trompes de Fallope 4

II.1.2. Infertilité utérine 5

II.1.3. Endométriose 5

II.2. Les anomalies hormonales 6

II.2.1. Syndrome des ovaires polykystiques (SOPK)..... 6

II.2.2. Insuffisance ovarienne primaire (POI) 6

III. Les facteurs de risques d'infertilité féminine 6

III.1. Facteurs biologiques 6

III.1.1. Âge..... 6

III.2. Facteurs liés au mode de vie 7

III.2.1. Changements de poids 7

III.2.2. Alcool et tabac 7

III.3. Facteurs environnementaux 7

III.4. Facteurs psychologiques 8

IV. La Procréation Médicalement Assistée (PMA)..... 8

IV.1. Les techniques de PMA 8

IV.1.1. Insémination intra-utérine (IIU) 8

IV.1.2.	Fécondation in vitro (FIV).....	9
IV.1.3.	Injection intracytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI)	10
IV.1.4.	Transfert intra-fallopien de zygote (ZIFT)	10
IV.1.5.	Transfert intra-fallopien de gamètes (GIFT)	10
V.	La culture embryonnaire	10
VI.	Les conditions de la culture embryonnaire	11
VI.1.	Les conditions chimiques.....	11
VI.1.1.	Oxygène.....	11
VI.1.2.	Ammonium.....	12
VI.1.3.	Matières organiques volatiles	13
VI.1.4.	Albumine	13
VI.2.	Les conditions physiques	14
VI.2.1.	Température.....	14
VI.2.2.	Superposition d'huile	14
VI.2.3.	Volume d'incubation/densité d'embryons.....	14
VI.2.4.	Lumière.....	15
VI.2.5.	Le pH.....	15
VI.2.6.	Humidité	16
VII.	Les types de culture	17
VII.1.	La culture individuelle.....	17
VII.1.1.	Les avantages et les inconvénients de la culture individuelle.....	18
VII.2.	La culture embryonnaire groupée.....	19
VII.2.1.	Les avantages et les inconvénients de la culture embryonnaire groupée....	20
VIII.	Développement préimplantatoire des embryons in vitro.....	21
IX.	L'embryon préimplantatoire comme origine des agents de signalisation	23
IX.1.	Les voies de sécrétion des agents de signalisation.....	24
IX.1.1.	Sécrétion active.....	24
IX.1.2.	Sécrétion passive	24
IX.1.3.	Facteur lié à une protéine porteuse	24
IX.1.4.	Vésicules extracellulaires	24
X.	Caractéristiques des agents de signalisation.....	25
X.1.	Protéines/peptides	26
X.2.	Lipides.....	26
X.2.1.	Phospholipides.....	26
X.2.2.	Acides gras	27

X.3.	microARNs	27
X.4.	Autres molécules.....	27
X.4.1.	Acide hyaluronique.....	27
X.4.2.	Amines biogènes.....	28
XI.	Les agents de signalisation agissent par différentes voies	28
XI.1.	Voie PI3K	28
XI.1.1.	Voie de signalisation dépendante de l'AKT	29
XI.1.2.	Signalisation calcique dépendante de PI3K.....	29
XI.2.	Voie MAPK	29
XI.3.	Voie PPAR.....	29
XII.	Comparaison entre le développement préimplantatoire des embryons dans leur milieu naturel et in vitro	30
	MATERIEL ET METHODES.....	32
I.	Type d'étude	33
II.	Critères d'inclusion.....	33
III.	Critères d'exclusion.....	33
IV.	Les paramètres étudiés	33
V.	Méthodes	34
V.1.	Préparation des ovules et du sperme.....	34
V.2.	Les techniques de Procréation Médicalement Assistée	34
V.2.1.	Technique de la FIV	34
V.2.1.1.	Principe	34
V.2.2.	Technique de l'ICSI.....	35
V.2.2.1.	Principe	35
V.3.	La culture embryonnaire	35
V.3.1.	La culture embryonnaire de type individuel	35
V.3.1.1.	Principe	35
V.3.2.	La culture embryonnaire de type groupé.....	36
V.3.2.1.	Principe	36
VI.	Etude statistique	36
	RESULTATS.....	37
1.	Répartition des patientes et des ovocytes recueillis selon les types de culture ..	38
2.	Répartition des patientes en fonction de l'âge de la femme.....	38
3.	Calcul des paramètres biologiques.....	39
4.	Répartition des patientes en fonction de jour de transfert.....	40

5.	Répartition des patientes selon le nombre d'embryons transférés	40
6.	Répartition des patientes selon l'implantation des sacs	41
7.	Lien entre les types de culture et l'âge de la femme	42
8.	Lien entre les types de culture et le taux d'AMH	43
9.	Lien entre les types de culture et le bilan hormonal de stimulation	43
10.	Lien entre les types de culture et le nombre des ovocytes recueillis.....	45
11.	Lien entre les types de culture et le nombre d'ovocytes matures	46
12.	Lien entre les types de culture et le taux de maturation	46
13.	Lien entre les types de culture et le taux de fécondation.....	47
14.	Lien entre les types de culture et le taux de segmentation	48
15.	Lien entre les types de culture et le nombre d'embryons obtenus	48
16.	Taux de blastulation chez la culture groupée	49
17.	Lien entre les types de culture et le jour de transfert	49
18.	Lien entre les types de culture et le nombre d'embryons transférés.....	50
19.	Lien entre les types de culture et le taux d'implantation.....	51
20.	Lien entre les types de culture et le taux de grossesse	52
21.	Détermination de la valeur seuil des ovocytes recueillis et des embryons obtenus chez les patientes de la population par les courbes ROC	53
	DISCUSSION	58
	CONCLUSION.....	66
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	69
	ANNEXES.....	84

INTRODUCTION

La reproduction est une fonction biologique vitale de tout être vivant. Pour la majorité des couples, la paternité et la maternité semblent être des aspirations fondamentales, et l'infertilité est souvent perçue comme une expérience dévastatrice, cette épreuve peut détruire les relations conjugales et finir par le divorce (Neog, 2020).

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a identifié l'infertilité comme un obstacle universel qui touche les personnes du monde entier (Moridi et al., 2019) et ses causes et son importance peuvent varier selon la situation géographique et être influencées par des facteurs socio-économiques, démographiques et anthropométriques. L'infertilité est une maladie reproductrice, et s'explique par l'incapacité de parvenir à une grossesse après un an de rapports sexuels non protégés sans utilisation d'aucune méthode contraceptive, la prévalence de l'infertilité a considérablement augmenté ces dernières années, elle touche environ 60 à 168 millions de personnes et 13 à 15 % des couples dans le monde. Les taux d'infertilité varient selon les pays de moins de 5 % à plus de 30 % (Neog, 2020).

L'infertilité se classe en catégories primaires et secondaires, selon qu'une grossesse antérieure a eu lieu ou non. Les causes de l'infertilité sont variées, avec des facteurs féminins et masculins pouvant être impliqués. Les troubles menstruels, les problèmes d'ovulation et les anomalies utérines sont parmi les principales causes d'infertilité chez les femmes. Chez les hommes, des facteurs peuvent affecter la production de spermatozoïdes, notamment en réduisant leur morphologie normale et leur mobilité (Moridi et al., 2019).

Au cours de la dernière décennie, les avancées dans le domaine médical et technologique ont élargi les possibilités de traitement de l'infertilité. Les progrès dans le domaine de la Procréation Médicalement Assistée (PMA) ont conduit à des taux de grossesse améliorés et à une réduction des complications, ce qui a suscité une demande croissante de traitements contre l'infertilité. Ces améliorations découlent de progrès considérables dans la compréhension de la physiologie et du métabolisme embryonnaires, permettant ainsi le développement de conditions de culture embryonnaire nouvelles et améliorées (Sciorio & Rinaudo, 2023).

La phase de culture *in vitro* revêt une importance cruciale, non seulement pour le succès immédiat des traitements de FIV/ICSI, mais également pour la santé à long terme des nourrissons. En effet, les incubateurs servent de substituts à l'ovaire et à l'utérus, tandis que les conditions de culture visent à imiter l'environnement physiologique de l'appareil reproducteur féminin. La fonction principale de la culture embryonnaire est de fournir un environnement

favorable pour favoriser la santé et le développement optimal des embryons, tout en réduisant au minimum les éventuels stress iatrogènes (Sciorio & Rinaudo, 2023).

Depuis l'avènement de la fécondation in vitro dans les années 1970, plusieurs ajustements ont été apportés au système de culture afin d'accroître la disponibilité d'embryons de qualité optimale en vue du transfert. L'une des variables prises en compte par chaque laboratoire est la culture des embryons individuellement ou en groupe (Sciorio & Rinaudo, 2023).

Lorsque les embryons sont cultivés individuellement, le suivi de leur évolution se fait de manière distincte. Ils peuvent modifier leur environnement par la signalisation autocrine, mais la communication paracrine ne peut pas avoir lieu en raison de leur séparation. Lorsque les embryons sont cultivés en groupe, ils partagent la même gouttelette de milieu de culture et sont très proches les uns des autres. Cette proximité facilite la communication entre les embryons par le biais de la signalisation paracrine (Lehner et al., 2017).

Les choix que nous faisons dans le cadre du laboratoire de PMA peuvent avoir des répercussions importantes sur les résultats de développement embryonnaire. Des découvertes récentes ont également souligné que de simples changements dans le milieu de culture peuvent affecter le fœtus. Cela met en lumière l'importance potentielle d'une décision courante au sein du laboratoire (Herrerros et al., 2024).

Dans ce contexte, et pour la première fois dans une population de l'Est Algérien, cette étude vise à évaluer l'impact de la culture groupée des embryons sur les résultats de la FIV/ICSI, en termes de taux de blastulation, d'implantation et de grossesse. Ainsi, une question se pose : cultiver les embryons en groupe ou individuellement, l'ajustement de cette simple variable pourrait-il améliorer les résultats ?

SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. Notions et concepts

I.1. Infertilité

Cliniquement, l'infertilité est caractérisée par l'incapacité à concevoir après une période d'au moins 12 mois de rapports sexuels réguliers non protégés (Madziyire et al., 2021).

I.1.1. Infertilité féminine

Infertilité causée principalement par des facteurs féminins comprenant : des troubles ovulatoires, réserve ovarienne diminuée, anomalies anatomiques, génétiques, fonctionnelles de l'appareil reproducteur (Zegers-Hochschild et al., 2017), (Walker & Tobler, 2024).

I.1.1.1. Infertilité féminine primaire

Une femme qui n'a jamais été diagnostiquée avec une grossesse clinique et qui présente les critères d'infertilité (Zegers-Hochschild et al., 2017), (OMS, 2014).

I.1.1.2. Infertilité féminine secondaire

Une femme qui n'a pas réussi à établir une grossesse clinique mais qui a déjà reçu un diagnostic de grossesse clinique (Zegers-Hochschild et al., 2017).

II. Les causes d'infertilité féminine

II.1. Les anomalies anatomiques

II.1.1. Trompes de Fallope

La perméabilité des trompes de Fallope est cruciale pour la conception car c'est là que se produit la fécondation de l'ovule par le sperme, des trompes de Fallope endommagées ou obstruées peuvent causer de l'infertilité, également connue sous le nom d'infertilité tubaire. Elles entravent le cheminement des spermatozoïdes mâles vers l'ovule ou bloquent le déplacement de l'ovule fécondé vers l'utérus.

Les causes d'une trompe de Fallope endommagée ou bloquée incluent une maladie inflammatoire pelvienne (MIP), qui est une infection de l'utérus et des trompes de Fallope, due à la chlamydia et à la gonorrhée, sexuellement transmissible, une intervention chirurgicale pour une grossesse extra-utérine au cours de laquelle un ovule fécondé s'implante et se développe

dans une trompe de Fallope au lieu de l'utérus ,et de la tuberculose pelvienne (Gibson & Wilkerson, 2023), (Neog, 2020).

II.1.2. Infertilité utérine

Les anomalies utérines sont une cause peu commune d'infertilité, mais elles doivent tout de même être prises en compte lors de l'évaluation de l'infertilité. Les principales causes utérines d'infertilité sont les fibromes. Les fibromes volumineux peuvent conduire à l'infertilité en obstruant les trompes de Fallope, en altérant la forme de la cavité utérine ou en modifiant la position du col de l'utérus. Les polypes, les adhérences et les anomalies du développement, Toutes ces affections perturbent l'implantation et peuvent également accroître le risque de fausse couche (Eniola et al., 2012), (Gibson & Wilkerson, 2023).

II.1.3. Endométriose

L'endométriose est une maladie gynécologique chronique caractérisée par une implantation ectopique des glandes endométriales en dehors de l'utérus, principalement dans la région pelvienne. Ce tissu réagit de manière similaire au tissu endométrial normal en répondant aux changements hormonaux du cycle, elle affecte 10 à 15 % des femmes en âge de procréer. Parmi les femmes atteintes d'endométriose, 40 à 50 % connaîtront l'infertilité.

Il est connu que l'endométriose peut entraîner l'infertilité, mais il est également suggéré que la physiopathologie peut varier en fonction du stade de la maladie.

L'endométriose est classée en quatre stades :

- Les stades I et II, il est supposé que l'infertilité soit liée à une inflammation qui perturbe le fonctionnement ovarien et tubaire normal, entraînant une malformation des follicules, la fécondation et l'implantation, ce qui peut compromettre la fertilité.
- Les stades III et IV sont caractérisés par la présence d'adhérences pelviennes qui altèrent l'anatomie pelvienne. Cela peut intrinsèquement affecter la mobilité des trompes, la libération des ovocytes et la mobilité des spermatozoïdes. Il est supposé que l'endométriose avancée perturbe la folliculogénèse, ce qui peut réduire le potentiel de fécondation (Gibson & Wilkerson, 2023), (Walker & Tobler, 2024).

II.2. Les anomalies hormonales

II.2.1. Syndrome des ovaires polykystiques (SOPK)

Le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) est un trouble gynécologique héréditaire et est l'une des causes les plus fréquentes d'infertilité féminine, dans ce syndrome les ovaires produisent des quantités importantes d'androgènes, notamment de la testostérone.

La surproduction d'androgènes provoque une augmentation des niveaux d'hormone lutéinisante (LH) et une diminution des niveaux d'hormone folliculo-stimulante (FSH), ce qui empêche les follicules de produire un ovule mature.

L'hyperandrogénie est liée à la présence de kystes ovariens remplis de liquide, ce qui conduit souvent à l'aménorrhée ou à l'oligoménorrhée. Cette condition est également associée à l'infertilité et à d'autres symptômes tels que l'obésité, la pilosité faciale, l'acné et un risque accru de résistance à l'insuline (Eniola et al., 2012), (Neog, 2020), (Brassard et al., 2008).

II.2.2. Insuffisance ovarienne primaire (POI)

L'insuffisance ovarienne primaire (POI), aussi connue sous le nom d'insuffisance ovarienne prématurée, cela se manifeste lorsque les ovaires d'une femme arrêtent de fonctionner d'une manière normale avant ses 40 ans, cette pathologie se définit par une déficience de la folliculogénèse, une baisse des taux d'œstrogènes, une diminution des réserves d'ovocytes et une infertilité (Neog, 2020), (Walker & Tobler, 2024).

III. Les facteurs de risques d'infertilité féminine

III.1. Facteurs biologiques

III.1.1. Âge

La fertilité d'une femme est fortement influencée par son âge, elle atteint son pic entre 18 et 24 ans, puis commence à décliner après 27 ans, avec une baisse plus prononcée après 35 ans.

Plus une femme vieillit, moins ses chances de concevoir sont élevées, cette réduction due au stock limité d'ovules chez les femmes à la naissance. De plus, la qualité des œufs se détériore aussi avec l'âge, ils deviennent plus enclins à développer des anomalies chromosomiques, l'ovule peut échouer à achever normalement la première division méiotique et peut avoir des difficultés à entamer la deuxième méiose de manière appropriée. Par la suite, le nombre de

chromosomes demeurant dans le pronoyau féminin après la fin de la deuxième méiose suivant la fécondation est défectueux. Ceci conduit à la formation d'embryons présentant un déséquilibre chromosomique si sévère qu'il entrave le déroulement de la grossesse.

En outre, Le risque de fausse couche s'accroît avec l'âge, en raison de son impact sur d'autres fonctions reproductives comme l'ovulation et les niveaux hormonaux (Sharma et al., 2011), (Brugo-Olmedo et al., 2000).

III.2. Facteurs liés au mode de vie

III.2.1. Changements de poids

Une perte de poids significative ou une prise de poids excessive avec un indice de masse corporelle (IMC) supérieur à 27 kg/m² peut provoquer un dysfonctionnement ovarien. Les cellules adipeuses et les organes sexuels primaires produisent les œstrogènes. Par conséquent, un surplus de graisse corporelle ou l'obésité peut entraîner une augmentation de la production d'œstrogènes. Cela peut être interprété par le corps comme une forme de contrôle des naissances, ce qui peut réduire les chances de conception. En outre, un faible pourcentage de graisse corporelle entraîne une production inadéquate d'œstrogènes, ce qui peut provoquer des irrégularités menstruelles, notamment des cycles anovulatoires (Eniola et al., 2012), (Direkvand-Moghadam et al., 2013).

III.2.2. Alcool et tabac

Fumer et consommer de l'alcool peuvent causer des problèmes d'infertilité. Le tabagisme perturbe la folliculogénèse en raison des effets de la nicotine et d'autres produits chimiques nuisibles présents dans les cigarettes, qui interfèrent avec la synthèse des œstrogènes. De plus, il affecte le transport des embryons, l'angiogénèse de l'endomètre, le flux sanguin utérin et le myomètre utérin. En revanche, la consommation d'alcool est liée à une augmentation des niveaux d'œstrogènes. Ces niveaux élevés d'œstrogènes entraînent une diminution de la sécrétion de FSH, ce qui inhibe la folliculogénèse et peut conduire à une anovulation (Eniola et al., 2012).

III.3. Facteurs environnementaux

Les facteurs environnementaux, tels que les engrais, les pesticides, les plastiques, les silicones, les radiations et d'autres produits chimiques, peuvent jouer un rôle dans la diminution de la fertilité.

D'autres expositions environnementales professionnelles potentiellement nocives, telles que les hydrocarbures chlorés et les fongicides, ont également été liées à une augmentation du risque de fausses couches spontanées chez les femmes. Ainsi, les femmes exposées à ces produits chimiques courent un risque accru d'infertilité, qu'elle soit primaire ou secondaire, selon le cas (Eniola et al., 2012) .

III.4. Facteurs psychologiques

Il existe une relation entre le stress et les chances de conception. L'enzyme alpha-amylase, présente dans la salive, a été liée à des niveaux accrus de stress. Une recherche indique que les femmes ayant des niveaux plus élevés d'alpha-amylase ont une probabilité de grossesse plus basse. De plus, des études ont démontré que l'anxiété et la dépression sont toutes deux des facteurs significatifs d'infertilité (Zegers-Hochschild et al., 2017), (Begum, 2010).

IV. La Procréation Médicalement Assistée (PMA)

La procréation médicalement assistée (PMA) regroupe l'ensemble des traitements et des techniques qui manipulent in vitro les ovocytes, les spermatozoïdes ou les embryons humains, afin de réaliser une grossesse (Matteo, 2023).

IV.1. Les techniques de PMA

IV.1.1. Insémination intra-utérine (IIU)

L'IIU, couramment appelée insémination artificielle, consiste en l'injection de sperme spécialement préparé dans l'utérus de la femme. Parfois, avant l'IIU, la femme reçoit également des médicaments pour stimuler l'ovulation (Figure. 01) (Sharma et al., 2011).

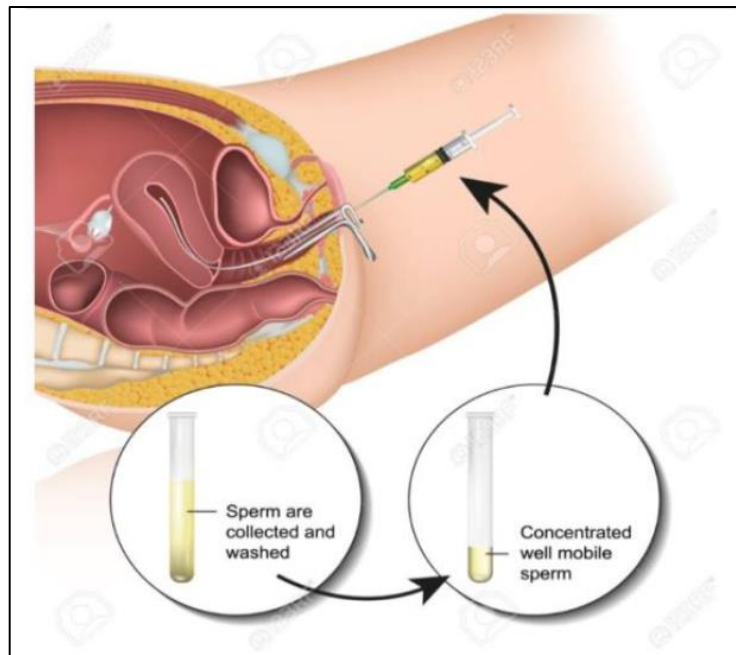


Figure. 01: Schéma explicatif des étapes de la technique d'Insémination intra-utérine (Osman, 2020).

IV.1.2. Fécondation in vitro (FIV)

Ensemble de procédures consistant à la co-incubation des ovocytes et des spermatozoïdes dans une boîte in vitro vise à réaliser une fécondation extracorporelle. Avec la fécondation in vitro, les ovules fécondés ont la possibilité de se développer en embryons avant d'être implantés dans l'utérus de la femme (Figure. 02) (Begum, 2010), (Kirti, 2014).

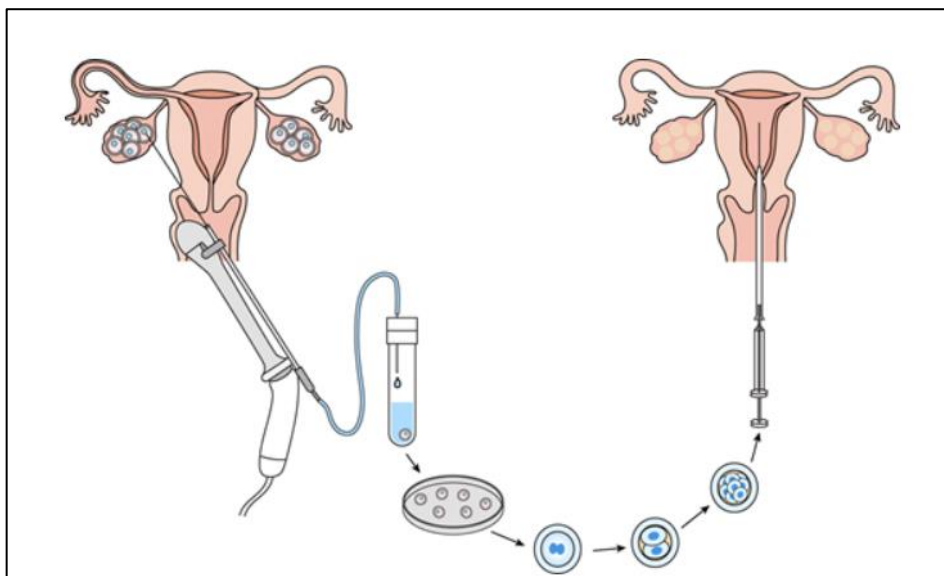


Figure. 02: Schéma explicatif des étapes de la technique de la FIV (Johnson, 2019).

IV.1.3. Injection intracytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI)

Elle est souvent utilisée pour les couples ayant de graves problèmes de spermatozoïdes, ainsi que pour les couples plus âgés ou ceux dont les tentatives de FIV ont échoué. En ICSI, un seul spermatozoïde est injecté directement dans un ovule mature (Figure. 03). Ensuite, l'embryon est transféré dans l'utérus ou dans la trompe de Fallope (Pereira & Palermo, 2018).



Figure. 03: Schéma explicatif de la technique d'ICSI (Osman, 2020).

IV.1.4. Transfert intra-fallopéen de zygote (ZIFT)

Le transfert d'embryons tubaires est similaire à la FIV, la fécondation a lieu en laboratoire, puis l'embryon très jeune est transféré dans la trompe de Fallope plutôt que dans l'utérus (Sharma et al., 2011).

IV.1.5. Transfert intra-fallopéen de gamètes (GIFT)

Cela consiste à transférer des ovules et des spermatozoïdes dans la trompe de Fallope de la femme, où la fécondation se déroule alors naturellement dans son corps (Sharma et al., 2011).

V. La culture embryonnaire

La culture embryonnaire est fondamentale dans le cadre des PMA.

Les embryons sont placés dans un milieu de culture de petit volume à l'intérieur d'une boîte en polystyrène, recouverte d'huile minérale, dans un incubateur pour maintenir des conditions optimales de température, de gaz et de pH, afin de fournir un environnement permissif qui augmente la santé et le potentiel de croissance des embryons tout en réduisant tout stress et impact négatif induit par les procédures médicales (Herrerros et al., 2024), (Kelley, 2018), (Sciorio & Rinaudo, 2023).

VI. Les conditions de la culture embryonnaire

La formulation des milieux de culture est l'un des facteurs les plus cruciaux pour le succès de la fécondation in vitro, et son impact sur le développement des embryons de mammifères a été largement étudié au cours des cinquante dernières années (Chronopoulou & Harper, 2015).

Les milieux de culture modernes diffèrent selon les fabricants, mais la plupart sont désormais constitués d'un mélange aqueux de sels, glucides, vitamines, acides aminés et albumine. Deux ajouts récents majeurs sont les acides aminés et les vitamines, tous deux présents dans les fluides reproducteurs (Kelley, 2018).

L'embryon préimplantatoire est adaptable et peut survivre dans diverses conditions. Cependant, des conditions en dehors de la plage optimale peuvent entraîner un stress iatrogène pour l'embryon. Ce stress, pendant la période préimplantatoire, peut potentiellement causer des dommages à long terme (Feuer & Rinaudo, 2016). Une réponse à un facteur de stress peut se manifester par une régulation positive de protéines spécifiques de réponse au stress, ou par des changements dans l'expression des gènes ou la fonction cellulaire, tels qu'une altération du métabolisme, un ralentissement des divisions cellulaires, une apoptose ou une perte de viabilité (Kelley, 2018), (Feuer & Rinaudo, 2012), (Puscheck et al., 2015).

Il existe plusieurs conditions de culture parmi lesquelles :

VI.1. Les conditions chimiques

VI.1.1. Oxygène

L'un des facteurs les plus cruciaux pour le développement embryonnaire in vitro est la concentration d'oxygène dans l'incubateur. Dans l'appareil reproducteur, les niveaux d'O₂ varient entre 2 % et 8 %, ce qui constitue la concentration d'oxygène la plus physiologique (Bolnick et al., 2017), (Wale & Gardner, 2016), (Cairo, 2020).

Les recherches indiquent que cultiver des embryons *in vitro* avec 5 % d'oxygène améliore les résultats en termes de grossesses cliniques, de naissances vivantes et de taux d'implantation. Par rapport à une culture à 5 % d'oxygène, un excès non physiologique d'oxygène (20% d'O₂) entraîne une multitude d'effets néfastes sur le développement embryonnaire, notamment des divisions plus lentes, des taux de blastocystes réduits, une moindre quantité de cellules par embryon, une augmentation de l'apoptose, de l'aneuploïdie et des dommages à l'ADN (Kelley, 2018), (Kirkegaard et al., 2013), (Wale & Gardner, 2010), (Kitagawa et al., 2004).

Environ 75 % des cliniques de FIV dans le monde cultivent des embryons dans des conditions d'oxygène atmosphérique. Cependant, cette méthode est considérée comme un stress iatrogène pouvant perturber le développement post-implantatoire, ce qui se traduit par des taux plus bas d'implantation, de grossesse et de naissance vivante chez l'homme (Cairo, 2020), (Christianson et al., 2014).

VI.1.2. Ammonium

Les fluides présents dans l'appareil reproducteur féminin sont riches d'acides aminés, les plaçant en tant qu'éléments cruciaux dans les milieux de culture des embryons mammifères. L'intégration de ces acides aminés dans les milieux de culture modernes a largement contribué à l'amélioration continue des taux de réussite de la FIV humaine au cours des vingt dernières années. Cependant, leur utilisation présente un inconvénient : leur labilité. Sous l'incubation à 37,8 °C, les acides aminés se dégradent progressivement, libérant de l'ammonium (Wale & Gardner, 2016).

Des études menées sur l'homme ont révélé que la présence d'ammonium avait un effet défavorable sur la formation des blastocystes, aussi sur le métabolisme et l'expression génique des embryons humains (Gardner et al., 2013).

- **Effets synergiques de deux stress iatrogènes**

Dans un système de culture d'embryons, la présence d'un seul stress iatrogène peut compromettre la physiologie de l'embryon. Lorsque deux stress se combinent dans le système, des effets négatifs supplémentaires, potentiellement synergiques, peuvent se manifester. L'exemple représenté est l'accumulation d'ammonium en présence d'oxygène atmosphérique (Figure. 04) (Gardner & Wale, 2013).

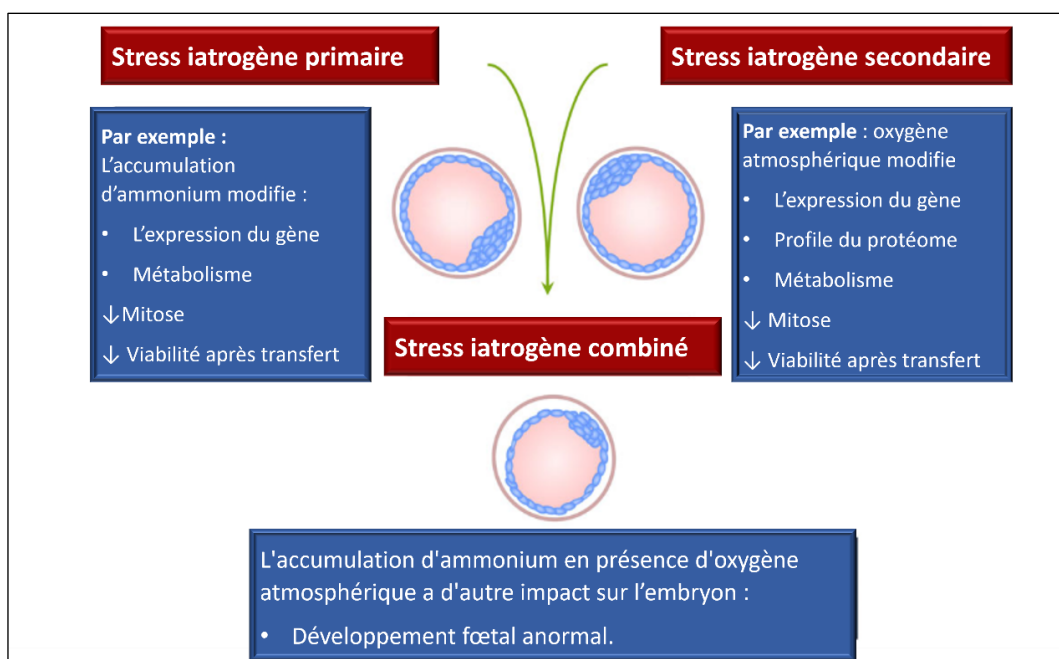


Figure. 04: Exemple représentant l'accumulation d'ammonium en présence d'oxygène atmosphérique (Wale & Gardner, 2016).

VI.1.3. Matières organiques volatiles

La mauvaise qualité de l'air des laboratoires constitue un danger reconnu pour la culture embryonnaire. Ainsi, les concentrations de contaminants, comme les composés organiques volatils (COV) et les contaminants chimiques aéroportés (CAC) entraînent un stress iatrogène et une toxicité pour les gamètes ou les embryons (Wale & Gardner, 2016), (Legro et al., 2010), (Marcelo Perin et al., 2010), (Inamdar et al., 2012).

VI.1.4. Albumine

Au cours des premières années de la FIV humaine, l'albumine sérique humaine était couramment utilisée dans les milieux de culture. Néanmoins, cette pratique présentait un risque limité de transmission de maladies associé aux produits sanguins dérivés (Meintjes et al., 2009).

Les embryologistes ont comparé l'utilisation de l'albumine sérique humaine (HSA) avec l'efficacité d'un substitut de sérum synthétique (SSS). Cette étude a mis en lumière une croissance accélérée des embryons humains 38 heures après l'insémination. Des études ultérieures ont révélé que certains composants présents dans ces préparations d'albumine peuvent avoir des effets trophiques sur les embryons (des protéines non déclarées et des métaux de transition) (Meintjes et al., 2009).

Avec les préoccupations grandissantes concernant la sécurité de la FIV humaine, il semble approprié d'envisager l'utilisation de l'albumine recombinante afin de réduire les risques et d'assurer une cohérence accrue des résultats (Wale & Gardner, 2016).

VI.2. Les conditions physiques

VI.2.1. Température

Maintenir une température constante peut sembler simple à première vue, mais minimiser les variations autour de la valeur souhaitée reste un défi technique exigeant.

Une légère augmentation au-dessus de 37,8 °C peut perturber le fuseau mitotique de l'ovocyte en métaphase II, et cette perturbation n'est pas réversible même après un retour à 37,8 °C. Cette altération du fuseau méiotique a été liée à une diminution des taux de fécondation, à un retard dans le développement embryonnaire et à une réduction des taux de grossesse clinique. En outre, l'exposition à la chaleur induit chez l'embryon l'expression de gènes associés à la réponse au stress iatrogène, ce qui peut entraîner une diminution de sa compétence développementale (Wale & Gardner, 2016), (Sun et al., 2004), (Wei-Hua et al., 2002).

Il est donc essentiel de prendre des mesures strictes pour assurer une surveillance quotidienne des changements de température (Cairo, 2020).

VI.2.2. Superposition d'huile

Les petits volumes de milieu souvent utilisés pour la culture des embryons (entre 20 et 250 µl) requièrent l'ajout d'une couche d'huile pour prévenir l'évaporation et ainsi éviter que le milieu ne devienne hyperosmotique et compromettant la survie des embryons. L'huile minérale, le paraffine, est généralement privilégiée pour la culture embryonnaire (Baltz, 2012).

Les huiles contiennent également diverses impuretés, certaines pouvant se révéler toxiques pour les embryons. Ainsi, des protocoles ont été élaborés pour nettoyer les huiles afin d'améliorer leur qualité dans le cadre du laboratoire de FIV (Wale & Gardner, 2016), (Morbeck & Leonard, 2012).

VI.2.3. Volume d'incubation/densité d'embryons

Les embryons humains sont souvent cultivés dans des volumes allant de quelques microlitres à 1 ml. Il est pertinent de souligner que des recherches ont prouvé qu'une culture

embryonnaire dans des volumes plus réduits entraîne une augmentation significative du nombre de cellules de blastocyste et améliore la viabilité embryonnaire (Bolton et al., 2014).

Des études prospectives plus approfondies comparant les cultures d'embryons individuels à celles en groupe ont révélé que la culture en groupe était supérieure à la fois en termes de compactage et de blastulation, ainsi que pour la qualité générale des blastocystes. Il est probable que cet effet bénéfique de la culture en groupe découle du fait que les embryons préimplantatoires produisent un ou plusieurs facteurs stimulant leur propre développement (Thouas et al., 2015).

Concluant que le volume de culture devrait être réduit et la densité embryonnaire augmentée (Wale & Gardner, 2016).

VI.2.4. Lumière

Dans l'appareil reproducteur féminin, la fécondation et le développement de l'embryon se déroulent dans l'obscurité totale. En revanche, en laboratoire dans des conditions conventionnelles, les gamètes et les embryons sont exposés à une lumière de diverses longueurs d'onde, intensités et sources, que ce soit l'éclairage ambiant ou lors de l'évaluation sous microscope (Gardner & Lane, 2014).

En se basant sur des modèles mammifères, la recherche a confirmé que la lumière peut influencer le développement embryonnaire de deux manières : directement, en réduisant la prolifération cellulaire, et indirectement, en provoquant la photooxydation des composants du milieu de culture. Il est donc essentiel de tenir compte du risque de contamination de ces composants lorsque exposés à la lumière (Wale & Gardner, 2016), (Jin Oh et al., 2007).

VI.2.5. Le pH

Pour réguler le pH des fluides dans la culture embryonnaire, un système tampon bicarbonate/dioxyde de carbone est couramment employé. En ajustant les concentrations de ces deux éléments, il est simple d'atteindre le pH désiré (Wale & Gardner, 2016).

L'augmentation du pH dans les milieux de culture peut avoir des conséquences néfastes sur la physiologie et le développement des ovocytes et des embryons. Il convient de noter qu'une exposition, même brève, à un milieu acidifié peut impacter le poids et la longueur du fœtus. Ainsi, bien que les embryons humains possèdent divers mécanismes intracellulaires pour

réguler leur pH interne, il est impératif de limiter les variations de pH afin de prévenir le stress iatrogène (Cairo, 2020), (Zander-Fox et al., 2010), (Phillips et al., 2000).

VI.2.6. Humidité

Deux études récentes ont suggéré qu'ajouter l'humidité à un incubateur normalement sec améliore le développement embryonnaire et accroît les taux de grossesse. Cependant, des inquiétudes ont été exprimées quant au risque accru de prolifération microbienne dans l'incubateur en raison de cet environnement humide, ce qui pourrait impacter négativement le développement embryonnaire (Albert et al., 2018), (Geraghty et al., 2014).

Le niveau optimal d'humidité de l'incubateur n'a pas encore été déterminé (Cairo, 2020).

- **Impact relatif du stress iatrogène chimique et physique sur l'embryon préimplantatoire.**

L'ovocyte fécondé est plus vulnérable que l'embryon au stade de division, qui lui-même est plus sensible au stress qu'un embryon au stade post-compactage. Parmi tous les stades, le blastocyste est le moins affecté par le stress iatrogène (Figure. 05) (Wale & Gardner, 2016).

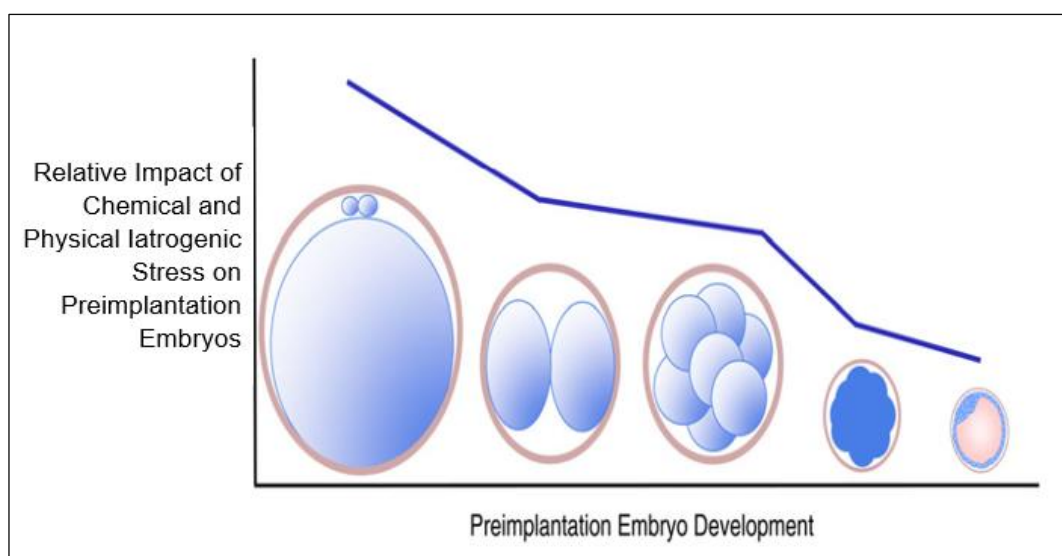


Figure. 05: Schéma représentatif des différences spécifiques au stade dans la réponse de l'embryon au stress iatrogène (Wale & Gardner, 2016).

VII. Les types de culture

VII.1. La culture individuelle

La culture individuelle signifie la culture des embryons séparément, chaque embryon est cultivé seul dans une gouttelette de milieu distincte (Girsh, 2021).

Les embryons ne communiquent pas entre eux par signalisation paracrine, en revanche, seules les embryotropines autocrines sécrétées par l'embryon influent sur lui (Figure. 06) (Herrerros et al., 2024).

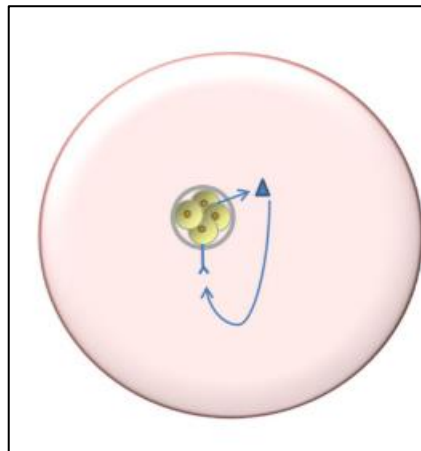


Figure. 06: Illustration schématique de la présence d'embryotropines autocrines lors de cultures individuelles (Wydooghe et al., 2017).

VII.1.1. Les avantages et les inconvénients de la culture individuelle

Tableau. 01: Les avantages et les inconvénients de la culture embryonnaire individuelle.

La culture embryonnaire individuelle	Les avantages	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Permettre l'identification et la sélection en procédant à une évaluation continue de la morphologie et du taux de développement de chaque embryon individuellement, afin de transférer ceux qui présentent un potentiel supérieur (Reed et al., 2011). ➤ Cette approche évite l'épuisement des substrats nécessaires (Reed et al., 2011). ➤ Permettre de garder les embryons séparés et bien numérotés pour la biopsie, leur diagnostic et leur transfert ultérieurs (Herrerros et al., 2024).
	Les inconvénients	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Les embryons ne communiquent pas entre eux par signalisation paracrine (Lehner et al., 2017). ➤ La culture d'embryons individuels peut être plus coûteuse car elle nécessite plus de milieu de culture et parfois plus de boîtes de culture. Chaque embryon doit avoir sa propre gouttelette de milieu de culture, ce qui entraîne une utilisation accrue de ressources matérielles (Herrerros et al., 2024).

VII.2. La culture embryonnaire groupée

La culture des embryons ensemble en petits groupes dans la même microgoutte de milieu.

Les embryons préimplantatoires peuvent communiquer entre eux, via une diversité de facteurs de signalisation autocrine et paracrine, produits et libérés par les embryons, agissant soit sur l'embryon lui-même, soit sur ses pairs voisins (Figure. 07) (Herreros et al., 2024).

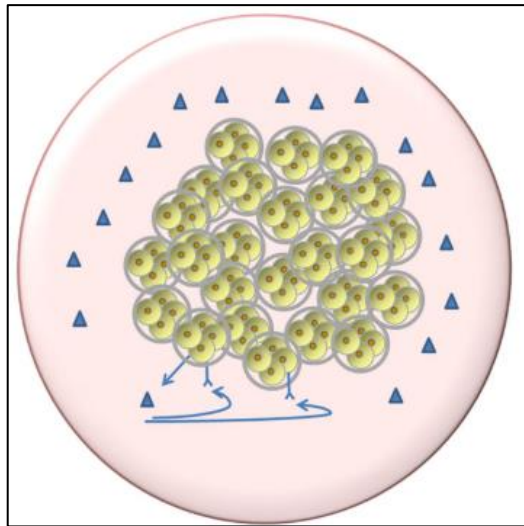


Figure. 07: Illustration schématique de la présence d'embryotropines paracrines lors d'une culture de groupe (Wydooghe et al., 2017).

VII.2.1. Les avantages et les inconvénients de la culture embryonnaire groupée

Tableau. 02: Les avantages et les inconvénients de la culture embryonnaire groupée.

La culture embryonnaire groupée	Les avantages	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Réduction du nombre de microgouttelettes nécessaires à l'installation et à l'observation (Reed et al., 2011). ➤ La communication coopérative entre les embryons préimplantatoires repose principalement sur les embryotropines paracrines, agissant comme des facteurs de signalisation, de croissance ou de survie, incluant les protéines, les lipides, les neurotransmetteurs, les saccharides et les microARN, échangeables entre les embryons cultivés en groupe. Cette approche pourrait permettre aux embryons de bénéficier de ces signaux pour améliorer leur qualité (Herreros et al., 2024), (Wydooghe et al., 2017).
	Les inconvénients	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Les facteurs sécrétés par les embryons de mauvaise qualité pourraient éventuellement avoir une influence néfaste sur le développement des embryons de bonne qualité au sein du même groupe de culture, l'accumulation de substances toxiques, comme l'ammonium et les radicaux libres dérivés de l'oxygène dans le milieu de culture, peut provoquer des anomalies tardives du développement (Girsh, 2021), (Tao et al., 2013). ➤ La culture de groupe peut entraîner l'épuisement de milieu en substrats essentiels à la croissance des embryons (Herreros et al., 2024). ➤ Absence de surveillance individualisée des embryons pour évaluer leur qualité, leur progression de développement, ainsi que leur profilage métabolique, ce qui restreint la capacité à effectuer une sélection plus précise (Reed et al., 2011). ➤ Il n'est pas possible de réaliser une biopsie sur des embryons cultivés en groupe pour le DPI/DGS (Reed et al., 2011).

VIII. Développement préimplantatoire des embryons in vitro

En laboratoire, soit après une FIV ou une ICSI, le développement de l'embryon depuis la collecte des ovocytes jusqu'à l'atteinte du stade blastocyste suit le processus suivant :

- **Jour 0** : L'extraction de l'ovocyte humain à partir du follicule (Mercader et al., 2006).
- **Jour 1** : Le jour de la fécondation, les corps polaires et les pronoyaux sont observés (Mercader et al., 2006).

Si on ne peut pas observer cette structure, cela signifie que la fécondation n'a pas eu lieu ou s'est produite anormalement (Mercader et al., 2006).

Les pronoyaux, qui correspondent respectivement aux noyaux maternel et paternel, fusionnent et donnent naissance à ce que l'on appelle zygote (Figure. 08) (Niakan et al., 2012).

C'est une cellule avec un seul noyau (Mercader et al., 2006).

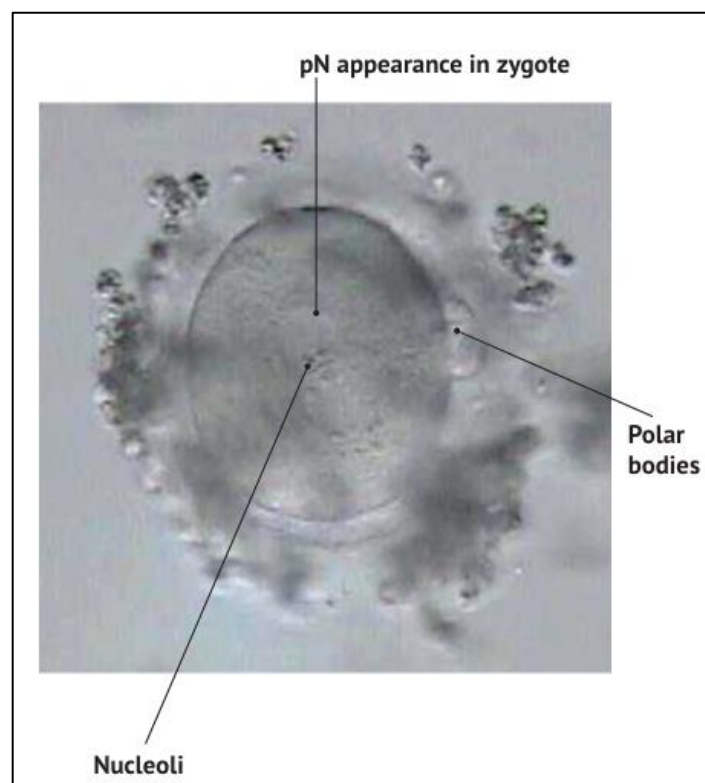


Figure. 08: Schéma explicatif de stade zygote (Girsh, 2021).

Jour 2 : première division cellulaire, embryon de 2-4 cellules (Niakan et al., 2012) (Figure. 09).



Figure. 09: Embryon de 2-4 cellules (Mercader et al., 2006).

Jour 3 : un embryon comporte 6-8 cellules (Niakan et al., 2012) (Figure. 10).



Figure. 10: Embryon de 6-8 cellules (Mercader et al., 2006).

Jour 4 : embryon au stade de morula (Figure. 11), avec environ 16-32 cellules groupées qui commencent à se compacter (Niakan et al., 2012).



Figure. 11: Schéma explicatif de stade morula (Girsh, 2021).

Jour 5 : A ce stade de développement, des espaces apparaissent entre les cellules qui se compactent, cela conduit à la création d'une couche externe de cellules appelée trophoblaste, et d'un groupe de cellules central connu sous le nom de masse cellulaire interne (ICM) (Niakan et al., 2012). L'embryon est appelé blastocyste (Figure. 12).

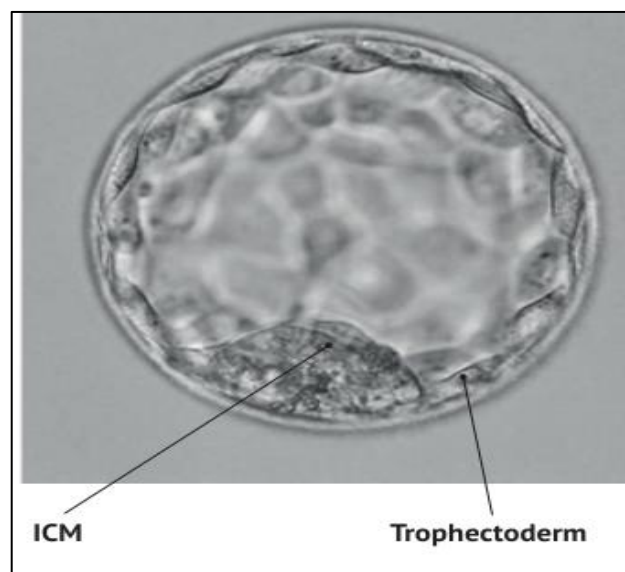


Figure. 12: Schéma explicatif de stade blastocyste (Girsh, 2021).

IX. L'embryon préimplantatoire comme origine des agents de signalisation

Contrairement aux cellules somatiques, les embryons de mammifères sont entourés jusqu'à l'éclosion par une structure acellulaire appelée zone pellucide. Des agents de signalisation sécrétés doivent traverser cette zone pour devenir disponibles dans le milieu de

culture des embryons cultivés. La zone pellucide est composée de quatre glycoprotéines (bZP1, bZP2, bZP3 et bZP4) et a l'apparence d'un réseau fibreux complexe lorsqu'elle est observée au microscope électronique, avec de nombreux pores dont le diamètre et la forme varient selon les espèces (Wydooghe et al., 2017), (Soom et al., 2010).

IX.1. Les voies de sécrétion des agents de signalisation

Les embryons préimplantatoires sont capables de produire et de sécréter des embryotropines autocrines/paracrines par plusieurs mécanismes : sécrétion active, sécrétion passif, liaison à une molécule porteuse ou transport au sein de vésicules extracellulaires (Figure. 13) (Wydooghe et al., 2017).

IX.1.1. Sécrétion active

Les protéines destinées à la sécrétion sont produites à l'intérieur de l'embryon. Elles sont ensuite transportées dans des granules sécrétoires jusqu'à la surface de la cellule, où elles fusionnent avec la membrane plasmique pour libérer leur contenu dans l'espace extracellulaire. Les biomolécules libérées, principalement hydrophiles, comprennent des protéines comme les facteurs de croissance, les cytokines et les hormones. Leur libération se fait indépendamment du stimulus (Wydooghe et al., 2017), (Rabouille, 2017), (Lodish et al., 2001).

IX.1.2. Sécrétion passive

Les protéines intracellulaires hydrophiles, formées par les ribosomes libres, peuvent être libérées passivement dans le milieu de culture suite à des dommages membranaires (Wydooghe et al., 2017), (Van Soom et al., 2011).

IX.1.3. Facteur lié à une protéine porteuse

Dans les milieux de culture, l'albumine est la protéine la plus abondante, agissant comme une molécule porteuse pour les facteurs hydrophobes autocrines/paracrines produits par les embryons, facilitant ainsi leur libération dans le milieu de culture. L'exemple le plus connu de cette interaction est la libération du facteur d'activation plaquettaire (PAF) lié à l'albumine (Wydooghe et al., 2017).

IX.1.4. Vésicules extracellulaires

Les molécules bioactives peuvent également être encapsulées dans des vésicules lipidiques sphériques à double couche pour être sécrétées. Ces vésicules renferment diverses

molécules bioactives, telles que des protéines (comprenant des protéines membranaires, cytosoliques et du cytosquelette), des lipides bioactifs (comme la sphingomyéline et les prostaglandines), ainsi que du matériel génétique (notamment l'ARNm, les microARN, l'ARNr et l'ADN mitochondrial). Sur la base de leur biogenèse, les vésicules extracellulaires peuvent être classées en microvésicules et en exosomes (Wydooghe et al., 2017), (Yoon et al., 2014), (Raposo & Stoorvogel, 2013), (Bobrie et al., 2011).

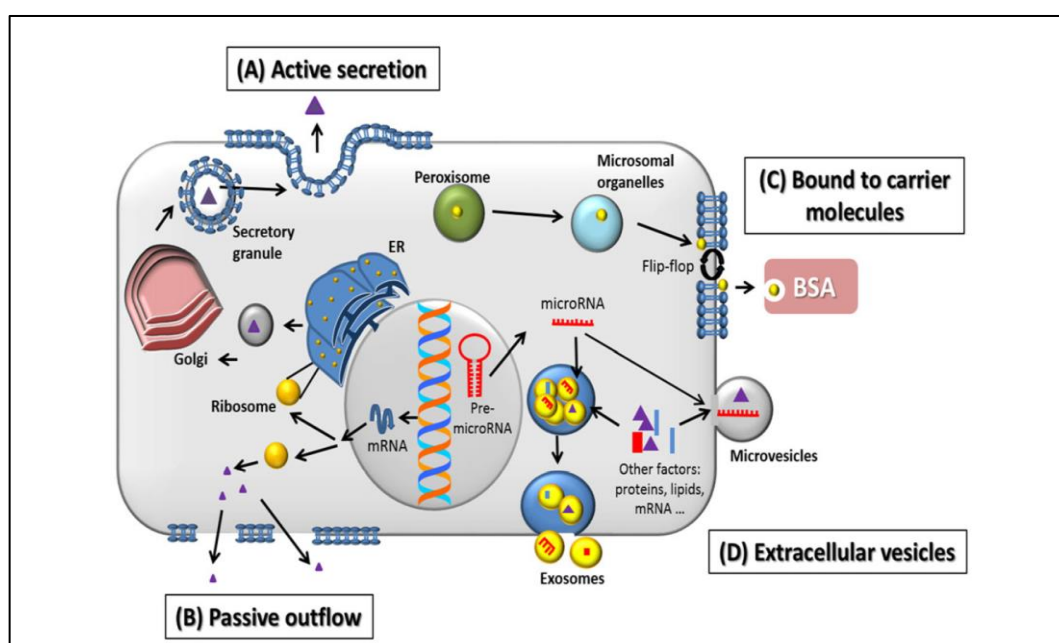


Figure. 13: Schéma explicatif des voies de sécrétion des agents de signalisation (Wydooghe et al., 2017).

X. Caractéristiques des agents de signalisation

Bien que l'environnement de culture *in vitro* semble contrôlé et stable, avec des composants de milieu définis ainsi que des conditions constantes de température et de gaz, les embryons créent en réalité un microenvironnement dynamique. Ils absorbent des nutriments du milieu et produisent une grande variété de métabolites et autres molécules bioactives, comme des protéines, des lipides, des neurotransmetteurs, des saccharides, des nucléotides et des microARN (Urbanski et al., 2008).

Parmi ces molécules identifiées, certaines se trouvent également dans les fluides de l'ovaire ou de l'endomètre. Ainsi, la culture d'embryons peut partiellement compenser l'absence de signaux paracrines provenant du tractus (Kelley, 2018).

X.1. Protéines/peptides

L'analyse du milieu de culture des embryons préimplantatoires a révélé la présence de diverses protéines sécrétées par les embryons, notamment des cytokines telles que l'interleukine (l'IL-1, l'IL-6), le facteur de stimulation des colonies-1 (CSF-1), le facteur de croissance transformant (TGF). La présence des récepteurs correspondants à ces protéines sur les embryons préimplantatoires suggère fortement un rôle autocrine et paracrine de ces molécules (Wydooghe et al., 2017).

Des recherches ont démontré que les embryons humains produisent la survivine, une protéine inhibant l'apoptose, ce qui régule la division cellulaire et prévient la mort cellulaire programmée. De plus, les embryons préimplantatoires sécrètent le facteur peptidique préimplantatoire (PIF), qui partage des similitudes fonctionnelles avec les cytokines (Balakier et al., 2013), (Stamatkin et al., 2011), (Barnea et al., 2014).

X.2. Lipides

Traditionnellement, les lipides sont considérés comme des composants constitutifs des membranes cellulaires, assurant principalement l'intégration des protéines dans ces membranes. Cependant, au cours des deux dernières décennies, il a été mis en évidence que de nombreux lipides jouent un rôle crucial dans la signalisation cellulaire, à la fois intra et intercellulaires, leur conférant ainsi le nom de "lipides bioactifs" (Wydooghe et al., 2017). Parmi ces lipides, on retrouve les phospholipides, les acides gras qui peuvent agir de manière autocrine et paracrine sur les embryons préimplantatoires (Barnea et al., 2014), (Spiegel & Milstien, 2003), (Hannun & Obeid, 2008).

X.2.1. Phospholipides

Les membranes cellulaires, riches en phospholipides et en cholestérol, sont essentielles au début de l'embryogenèse pour permettre une division cellulaire rapide. De plus, les phospholipides jouent un rôle crucial dans la signalisation cellulaire à deux niveaux : d'une part, à l'intérieur des cellules, où ils participent à la transmission des signaux intracellulaires, et d'autre part, à l'extérieur des cellules, en agissant comme facteurs autocrines/paracrines, tels que le PAF et l'acide lysophosphatidique (LPA) (Wydooghe., 2018).

Le PAF, ou Facteur d'Activation des Plaquettes, est reconnu pour favoriser la mitose, accroître la population cellulaire dans le blastocyste et améliorer le taux d'implantation post-

transfert d'embryons. De plus, il peut agir comme un agent de survie pour les embryons (Wydooghe., 2018).

En présence de LPA dans le milieu de culture, le développement des blastocystes embryonnaires a été stimulé, influençant certainement les niveaux de transcription des marqueurs de qualité des embryons. Par exemple, l'expression du gène BAX, associé à l'apoptose, a diminué, tandis que les niveaux de BCL2, un gène anti-apoptotique, et du récepteur du facteur de croissance 2 analogue à l'insuline (IGF2R), un marqueur de la croissance cellulaire, ont augmenté (Wydooghe., 2018), (Torres et al., 2014).

X.2.2. Acides gras

Durant la maturation *in vitro* des ovocytes, les acides gras s'accumulent dans des gouttelettes lipidiques, fournissant principalement de l'énergie sous forme d'ATP pour le développement embryonnaire précoce. En outre, ils jouent un rôle dans les interactions intercellulaires en étant transportés via des liaisons avec des protéines porteuses telles que l'albumine sérique et les lipoprotéines (Wydooghe et al., 2017), (Dunning et al., 2010).

X.3. microARNs

Les microARNs, des ARN courts non codants d'environ 17 à 25 nucléotides, exercent un rôle crucial dans la régulation génique et le développement préimplantatoire de l'embryon. Les chercheurs ont observé que ces microARNs modulent l'équilibre entre la pluripotence et la différenciation dans le trophoctoderme et la masse cellulaire interne, tout en participant à la communication intercellulaire. De plus, les microARNs sécrétés par les cellules donneuses ont été montrés pour influencer l'expression génique des cellules receveuses (Wydooghe., 2018), (Viswanathan et al., 2009), (Goossens et al., 2013), (Valadi et al., 2007).

X.4. Autres molécules

X.4.1. Acide hyaluronique

L'acide hyaluronique (HA), un polysaccharide de haut poids moléculaire, est l'un des glycosaminoglycanes les plus présents dans les fluides utérins, oviductaux et folliculaires chez l'humain. *In vitro*, les embryons préimplantatoires libèrent de l'HA dans le milieu de culture, et inhiber spécifiquement sa synthèse réduit la formation de blastocystes (Wydooghe et al., 2017), (Marei et al., 2013).

X.4.2. Amines biogènes

Les amines biogènes peuvent avoir un rôle crucial dans l'embryogenèse. Parmi celles associées à la reproduction, on compte les catécholamines, l'histamine et la sérotonine. En milieu naturel, une baisse des taux de sérotonine chez la mère entraîne une diminution de la prolifération cellulaire et des anomalies dans la formation des blastocystes (Wydooghe et al., 2017), (Cikos et al., 2011), (Basu et al., 2008), (Il'ková et al., 2004), (Veselá et al., 2003).

XI. Les agents de signalisation agissent par différentes voies

Les facteurs de signalisation autocrine/paracrine sécrétés par les embryons préimplantatoires pourraient favoriser la survie en activant la voie de la phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase (PI3K). Ils peuvent également fonctionner comme des facteurs de croissance en déclenchant la voie (MAPK). De plus, en activant la voie des récepteurs activés par les peroxydases-proliférateurs (PPAR), les embryotropines lipophiles jouent un rôle crucial à la fois dans la survie et dans les fonctions anti-apoptotiques (Figure. 14) (Wydooghe., 2018).

XI.1. Voie PI3K

La voie PI3K est une voie de survie activée par la liaison :

- De facteurs de croissance protéiques tels que le facteur de croissance analogue à l'insuline I (IGF-I) à leurs récepteurs à tyrosine kinase (RTK) comme l'IGF-IR (Navarrete Santos et al., 2004).
- Des lipides bioactifs comme le PAF à un récepteur de protéine couplé au G (GPCR) comme le PAF-R (O'Neill, 2005).
- De l'acide hyaluronique à son récepteur CD44 (Toole, 2001).

La liaison d'une embryotropine à son récepteur déclenche une voie de signalisation initiée par l'activation de PI3K. Cela conduit à la formation de phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate (PIP3) qui, à son tour, déclenche deux voies de signalisation différentes dans les embryons préimplantatoires, une voie dépendante de l'AKT et la voie de signalisation calcique dépendante de PI3K (Wydooghe et al., 2017), (O'Neill et al., 2015).

XI.1.1. Voie de signalisation dépendante de l'AKT

Une fonction essentielle du PIP3 est de faciliter le recrutement et l'activation de la protéine kinase 1 dépendante du 3-phosphoinositide (PDK1), qui à son tour active l'AKT, une sérine thréonine kinase. L'AKT active la protéine murine double minute 2 (MDM2), entraînant ainsi la dégradation et l'inhibition des médiateurs pro-apoptotiques tels que le promoteur de mort (BAD) associé à P53 et Bcl2. Cette voie est donc impliquée dans la survie de l'embryon préimplantatoire (Wydooghe et al., 2017), (O'Neill, 2008).

XI.1.2. Signalisation calcique dépendante de PI3K

La liaison du PAF à son récepteur couplé à une protéine G induit des transitoires de Ca^{2+} en libérant le calcium stocké dans les réserves intracellulaires et en favorisant l'entrée de calcium externe. Ces transitoires de Ca^{2+} activent la protéine de liaison aux éléments de réponse à l'AMPc (CREB), un facteur de transcription, ce qui entraîne la transcription de Fos et de Bcl2. Fos est impliqué dans la prolifération, la différenciation et la survie cellulaire, tandis que Bcl2 joue un rôle dans l'inhibition de la protéine pro-apoptotique BAX (Wydooghe et al., 2017), (Emerson et al., 2000).

XI.2. Voie MAPK

Les voies de la protéine kinase activée par un mitogène (MAPK) régulent la prolifération, la croissance, la différenciation et la mort des cellules, et sont présentes tout au long du développement préimplantatoire (Ono & Han, 2000), (Wang et al., 2004).

L'activation d'un récepteur tyrosine kinase (RTK) initie les cascades MAPK, comprenant la voie c-Jun N-terminal kinase (JNK) et la voie p38 MAPK. JNK active le facteur de transcription c Jun, essentiel à la progression dans la phase G1 du cycle cellulaire. L'inactivation de la p38 MAPK induit un arrêt du développement embryonnaire (Wydooghe., 2018), (Maekawa et al., 2005), (Natale et al., 2004).

XI.3. Voie PPAR

Les embryotropines lipophiles, par exemple les PG ou les acides gras, sont transportées par liaison à des protéines de transport présentes dans le milieu de culture ou à l'intérieur des exosomes. Ils sont capables de traverser la membrane cellulaire et de se lier à un récepteur nucléaire PPAR (Wydooghe et al., 2017).

Les PPAR forment des hétérodimères avec un autre type de récepteur nucléaire, le récepteur rétinoïde X (RXR), et leur activation conduit ainsi à l'expression de gènes. L'activation du récepteur nucléaire PPAR δ par la prostaglandine régule positivement la transcription génique de PDK-1, impliquée dans la protection des cellules contre l'apoptose, et de 14-3-3 ϵ , impliquée dans les points de contrôle du cycle cellulaire (Wydooghe et al., 2017), (Di-Poi et al., 2002).

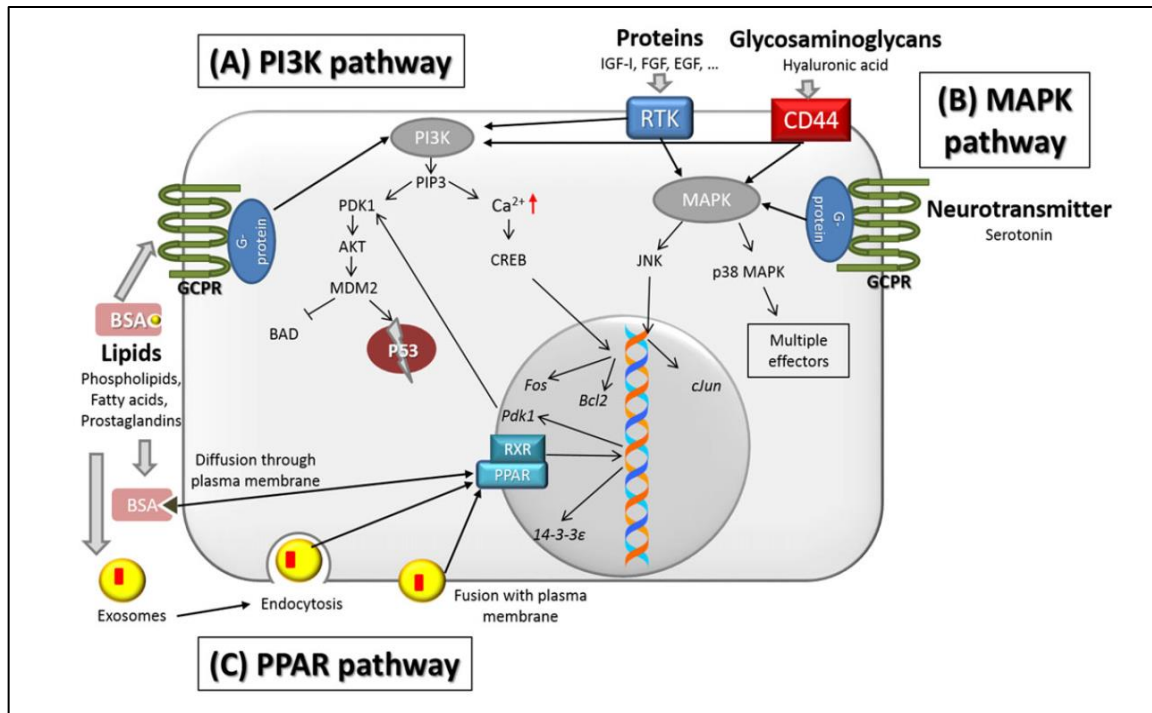


Figure. 14: Schéma explicatif des voies de signalisation des agents embryotropines (Wydooghe et al., 2017).

XII. Comparaison entre le développement préimplantatoire des embryons dans leur milieu naturel et in vitro

La production d'embryons in vitro (PIV) constitue un changement majeur dans l'environnement où débute le développement d'un nouvel organisme. Normalement, le développement embryonnaire se déroule dans le tractus génital féminin, avec la fécondation et les premières divisions cellulaires dans les trompes de Fallope, puis la migration de l'embryon vers l'utérus pour l'implantation. Dès le début de la grossesse, une interaction spécifique entre la mère et l'embryon est cruciale pour créer un environnement optimal, favorisant le développement embryonnaire initial, l'implantation, le maintien de la grossesse et la santé future de la progéniture. Dans le contexte in vivo, les embryons mammifères dans l'appareil reproducteur sont exposés à divers facteurs autocrines, paracrines et endocriniens qui jouent un

rôle crucial dans la communication embryonnaire-maternel. Ces facteurs peuvent être produits par les cellules de l'appareil reproducteur, agissant sur l'embryon, ou sécrétés par l'embryon pour influencer l'ovaire ou l'utérus, grâce à la présence de leurs récepteurs spécifiques (Figure. 15) (O'Neill, 2008), (Burnett & Nowak, 2016).

Au cours des deux dernières décennies, des recherches ont mis en évidence l'importance de la communication autocrine et paracrine entre les embryons *in vitro*, substituant ainsi la communication paracrine et endocrinienne qui a lieu *in vivo* dans le tractus maternel (Wydooghe., 2018), (Pavani et al., 2016).

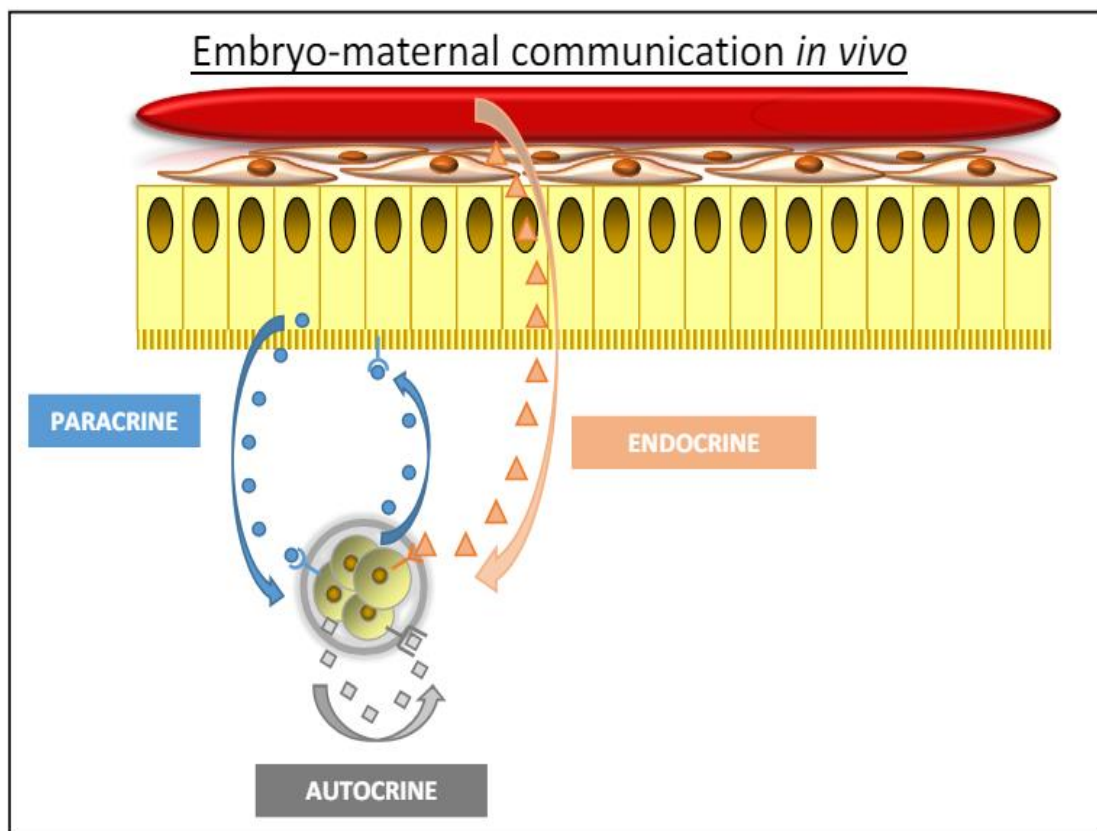


Figure. 15: Schéma explicatif de communication entre l'embryon et le tractus maternel *in vivo* impliquant des facteurs paracrines, autocrines et endocriniens (Wydooghe., 2018).

MATERIEL ET METHODES

I. Type d'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective et prospective portée sur 180 dossiers de patientes ayant consultés entre 2023 et 2024 au centre de procréation médicalement assistée (PMA) de la clinique IBN ROCHD, Constantine.

Parmi les dossiers étudiés, 80 patientes ont fait une culture d'embryons en groupe, tandis que 100 patientes ont fait une culture d'embryons individuelle.

II. Critères d'inclusion

- Sont incluses dans cette étude les patientes ayant suivi des techniques de FIV/ICSI et possédant des dossiers complets.

III. Critères d'exclusion

Les critères d'exclusion pour cette étude étaient les suivants :

- Les femmes avec des ponctions blanches (tentatives de ponction ovarienne sans récupération d'ovocytes viables), ayant rencontré des échecs de fécondation, ou ayant fait la stratégie de freeze-all en FIV.
- Les conjoints des femmes ayant eu une biopsie testiculaire ou une ponction testiculaire.
- Les patientes avec des dossiers incomplets.

IV. Les paramètres étudiés

- L'âge de la femme.
- Le taux d'AMH.
- Le bilan hormonal de stimulation (Oestradiol, LH, Progestérone).
- Le nombre d'ovocytes recueillis.
- Le nombre d'ovocytes matures.
- Le taux de maturation.
- Le taux de fécondation.

- Le taux de segmentation.
- Le nombre d'embryons obtenus.
- Le taux de blastulation.
- Le jour de transfert.
- Le nombre d'embryons transférés.
- Le taux de grossesse.
- Le taux d'implantation.

V. Méthodes

V.1.Préparation des ovules et du sperme

La sélection des ovocytes est effectuée avant la fécondation afin de choisir ceux qui sont aptes à être fécondés, les ovocytes doivent être en métaphase (II) pour être fécondables. En cas de métaphase (I), l'ovocyte peut être maintenu en culture afin de subir une injection postérieure de spermatozoïdes.

Pendant ce temps, le sperme est préparé pour la fécondation en éliminant les cellules inactives et le liquide séminal par un processus appelé "lavage du sperme". Ensuite, les spermatozoïdes de la meilleure qualité sont sélectionnés et concentrés dans un milieu de culture approprié.

V.2.Les techniques de Procréation Médicalement Assistée

V.2.1.Technique de la FIV

V.2.1.1.Principe

C'est une technique de procréation assistée où le sperme et l'ovule sont incubés ensemble dans un milieu de culture nourricière dans un incubateur à 37°C. La fécondation s'effectue alors sans interférence extérieure (Voir annexe 01).

V.2.2. Technique de l'ICSI

V.2.2.1. Principe

Il s'agit de l'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI), une technique de reproduction assistée où un seul spermatozoïde est injecté directement dans un ovocyte mature de manière artificielle. Une micropipette, contenant un seul spermatozoïde, est introduite dans le cytoplasme de l'ovocyte, puis aspirée pour vérifier la pénétration, et enfin refoulée à sa place en même temps que le spermatozoïde. La préparation est ensuite placée dans une étuve. Après environ 17 heures, les deux pronoyaux sont identifiés, et deux jours plus tard, les embryons au stade de deux à quatre cellules sont classés (Voir annexe 02).

V.3. La culture embryonnaire

Jour 0 : Des boîtes de culture de micro-gouttelettes ont été préparées en déposant 25 µL de G-TL pour le lavage et la culture à 37°C, puis recouvertes d'OVOIL

Jour 1 : Pour évaluer la fécondation, les ovocytes inséminés ont été transférés dans une boîte de culture contenant du G-MOPS PLUS préchauffé dans un incubateur sans CO₂. Quant aux ovocytes traités par ICSI, la fécondation a été évaluée dans la boîte de culture de micro-gouttelettes contenant du G-TL. Les zygotes ont ensuite été lavés dans du G-TL préparé le jour 0, puis transférés dans des gouttelettes de 25 µL de G-TL recouvertes d'OVOIL pour la culture jusqu'au stade de blastocyste

Jour 5 : Le cinquième jour, les embryons ont été évalués et les blastocystes sélectionnés ont été transférés. (Voir annexes 03 et 04).

V.3.1. La culture embryonnaire de type individuel

La culture embryonnaire de type individuel a été réalisée sur 706 ovocytes fécondés provenant de 100 femmes infertiles.

V.3.1.1. Principe

Chaque embryon a été placé dans une goutte de milieu de culture dédiée, ce qui a permis de surveiller de près le développement de chaque embryon (Voir annexe 05).

V.3.2.La culture embryonnaire de type groupé

La culture groupée d'embryons a été réalisée sur 981 ovocytes fécondés provenant de 80 femmes infertiles (Voir annexe 06).

V.3.2.1.Principe

Les embryons ont été regroupés dans une seule goutte de milieu de culture, avec chaque goutte contenant de deux à cinq embryons.

VI. Etude statistique

Les données ont été collectées à partir des dossiers des patientes recrutés en utilisant le programme Excel 2021 pour la saisie des informations, puis traitées et analysées à l'aide d'un logiciel SPSS version 25 en fonction des paramètres étudiés.

On a utilisé le test khi- carré pour déterminer les liens entre les variables qualitatives, les différences entre les moyennes des variables continues ont été évalué avec le test t de Student pour les échantillons indépendants. On a tracé la courbe ROC pour déterminer la valeur seuil ainsi que la sensibilité et la spécificité.

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

- $P \leq 0.05$ la différence est significative.
- $P \leq 0.01$ la différence est très significative.
- $P \leq 0.001$ la différence est hautement significative.

RESULTATS

1. Répartition des patientes et des ovocytes recueillis selon les types de culture

Notre étude a porté sur un échantillon de 180 patientes qui ont fait des techniques FIV/ICSI, pour un total de 1687 ovocytes recueillis. La culture individuelle a été réalisée pour 100 patientes (55.6%), avec 706 ovocytes recueillis (41.85%), et la culture groupée pour les 80 patientes restantes (44.4%), avec 981 ovocytes recueillis (58.15%) (figure. 16), (figure. 17).

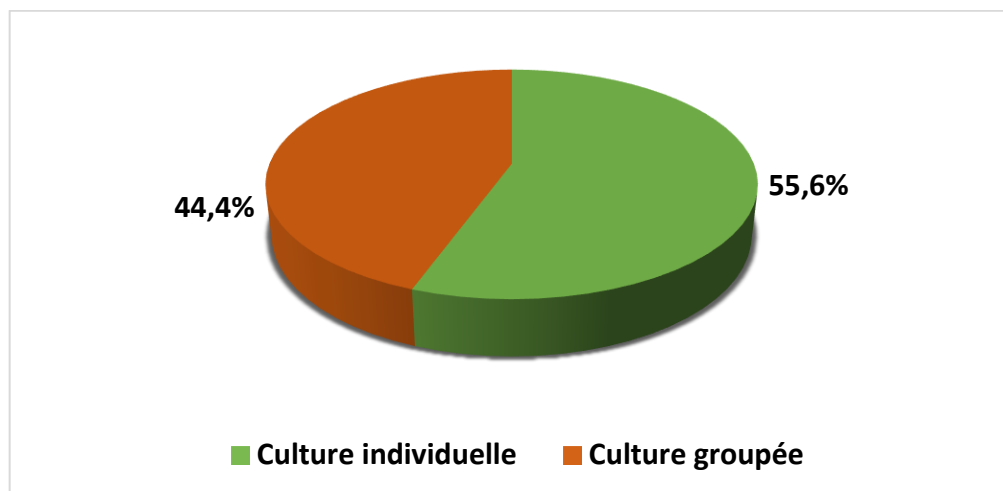


Figure. 16: Répartition des patientes selon les types de culture.

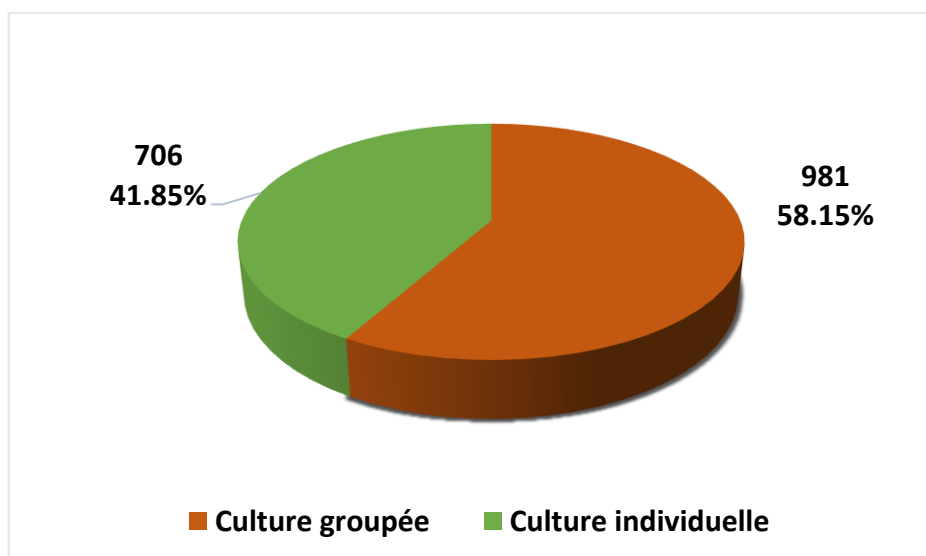


Figure. 17: Répartition des ovocytes recueillis selon les types de culture.

2. Répartition des patientes en fonction de l'âge de la femme

La figure. 18 montre que la catégorie d'âge inférieure à 36 ans représente le pourcentage le plus élevé soit 60,6%, suivie par la catégorie d'âge supérieure ou égale à 36 ans avec un pourcentage de 39,4%.

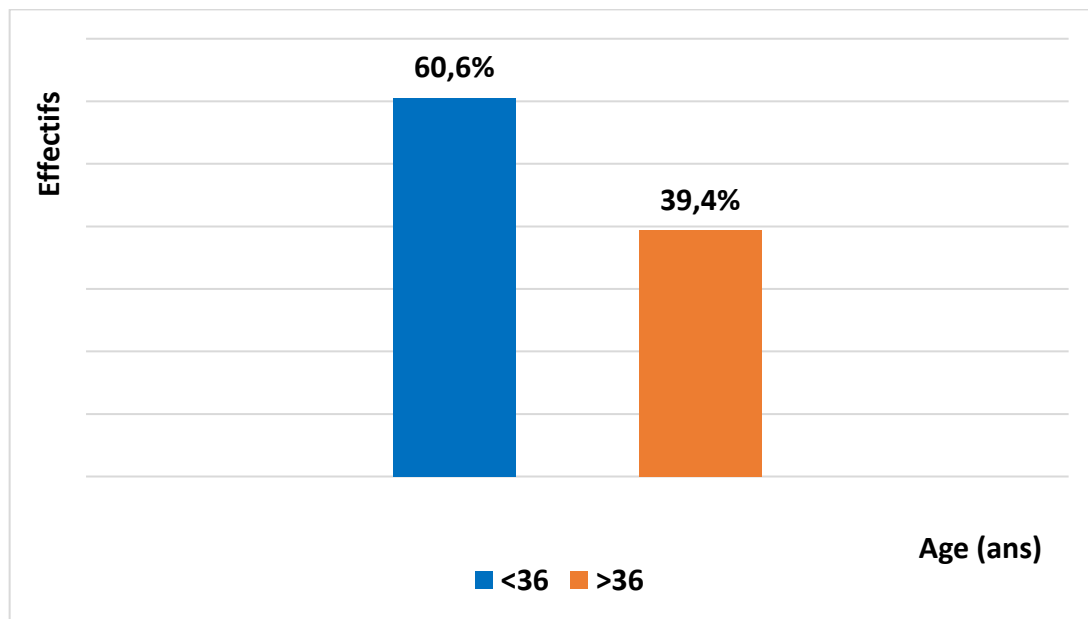


Figure. 18: Répartition des patientes en fonction de l'âge de la femme.

3. Calcul des paramètres biologiques

- **Calcul du taux de maturation :**

Taux de maturation = Nombre d'ovocytes matures / Nombre des ovocytes recueillis *100

La moyenne du taux de maturation des ovocytes dans la population est de 84%, avec un taux minimum de 30% et un taux maximum de 100%.

- **Calcul du taux de fécondation :**

Taux de fécondation = Nombre des zygotes / Nombre d'ovocytes matures*100

La moyenne du taux de fécondation des ovocytes dans la population est de 66%, avec un taux minimum de 16 % et un taux maximum de 100%.

- **Calcul du taux de segmentation :**

Taux de segmentation = nombre des embryons obtenus / nombre des zygotes *100

La moyenne du taux de segmentation des ovocytes dans la population est de 94%, avec un taux minimum de 25% et un taux maximum de 100%.

- **Calcul du taux de blastulation :**

Taux de blastulation = nombre des blastocystes / nombre des embryons obtenus *100

La moyenne du taux de blastulation des embryons dans la population est de 49% avec un taux minimum de 6% et un taux maximum de 100%.

4. Répartition des patientes en fonction de jour de transfert

La figure. 19 montre que le transfert des embryons le troisième jour est le plus représentatif soit 85,6% (154 patientes), suivi du transfert des blastocystes en cinquième jour soit 14,4% (26 patientes).

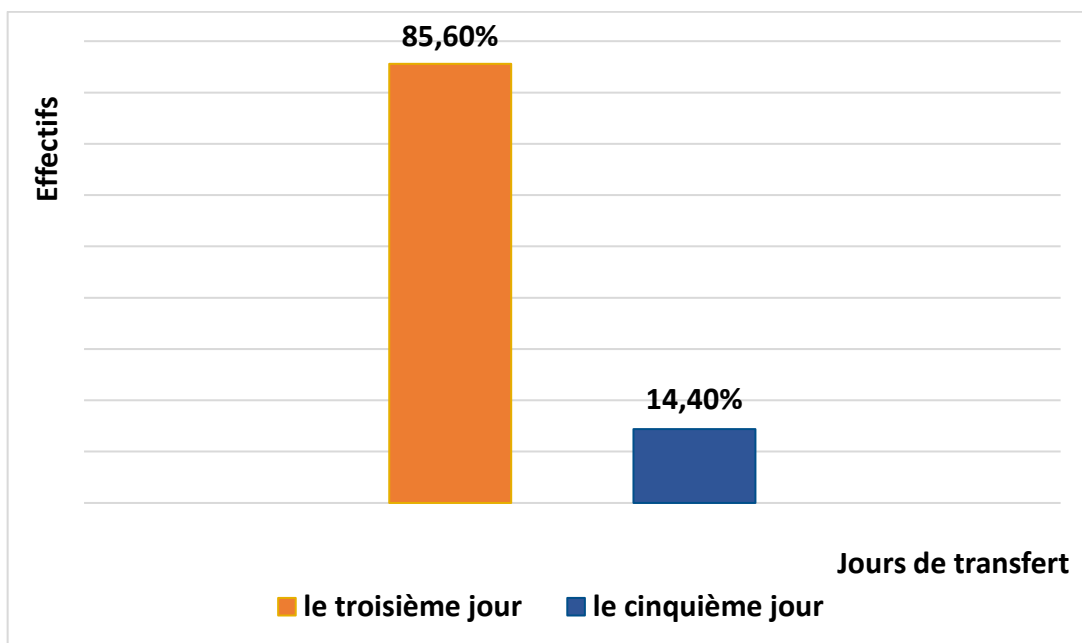


Figure. 19: Répartition des patientes en fonction du jour de transfert.

5. Répartition des patientes selon le nombre d’embryons transférés

La moyenne des embryons transférés est de 2 ± 1 embryons avec un minimum de 1 et un maximum de 3 embryons transférés chez les deux types de transfert.

La figure. 20 montre que 65% des patientes ont fait un transfert de 2 embryons, 54 patientes ont eu un transfert de 3 embryons soit 30%, et celles qui ont eu le transfert d'un seul embryon ne représentent que 5% (9 femmes).

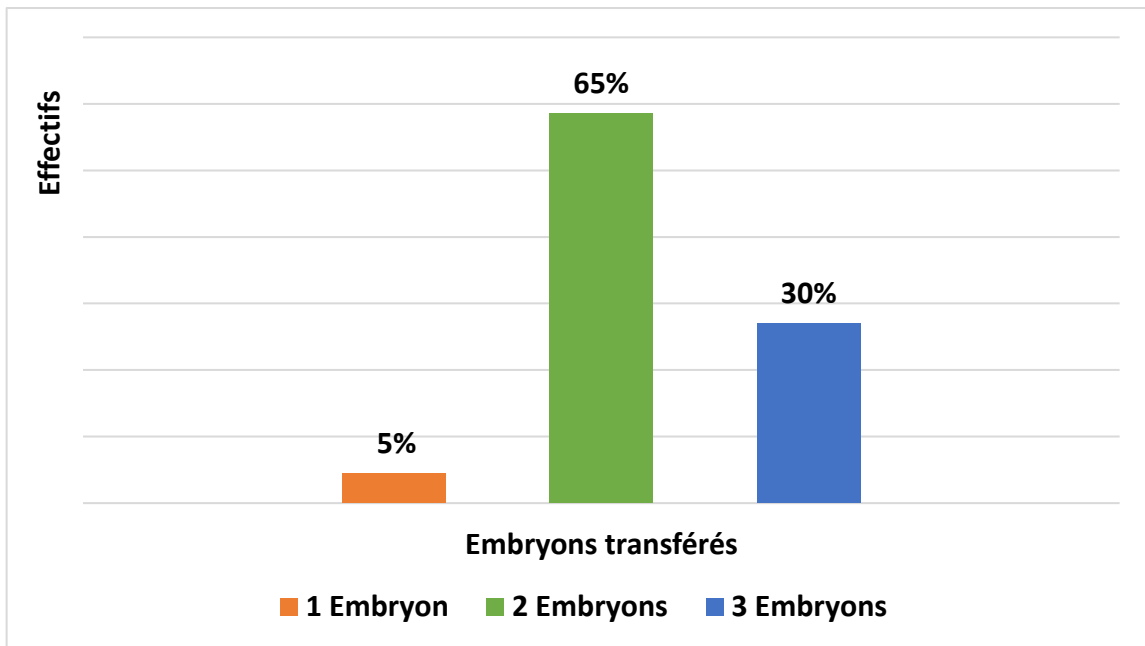


Figure. 20: Répartition des patientes selon le nombre d'embryons transférés.

6. Répartition des patientes selon l'implantation des sacs

La figure. 21 montre qu'après l'échographie, parmi les femmes enceintes (31 femmes), 18 femmes ont eu un seul sac dans leur utérus, ce qui représente 58% des cas, tandis que 13 femmes ont eu la présence de deux sacs utérins, soit 42%.

La figure. 22 montre que 68,42 % des femmes enceintes ayant fait une culture embryonnaire groupée ont un seul sac implanté, tandis que les 31,58 % restantes ont deux sacs implantés. En comparaison avec la culture individuelle, 58,33 % des patientes ont deux sacs implantés, tandis que 41,67 % ont un seul sac implanté.

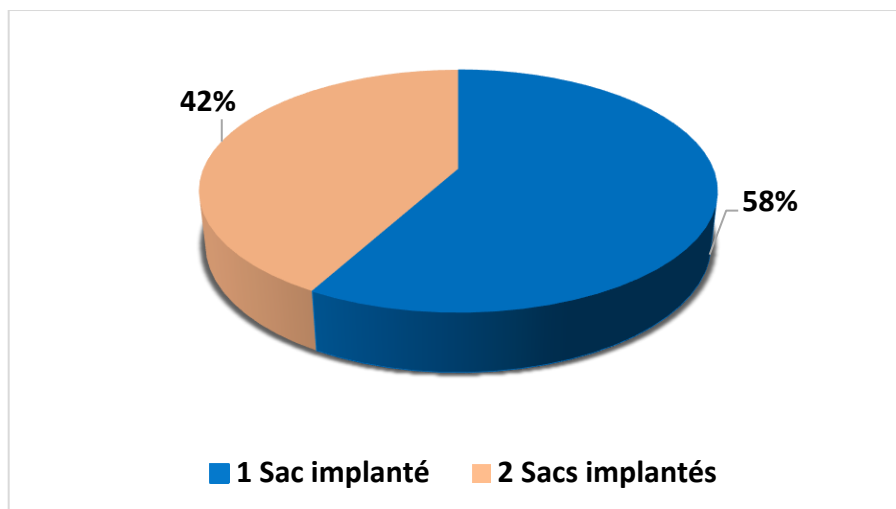


Figure. 21: Répartition des patientes selon le nombre de sacs implantés.

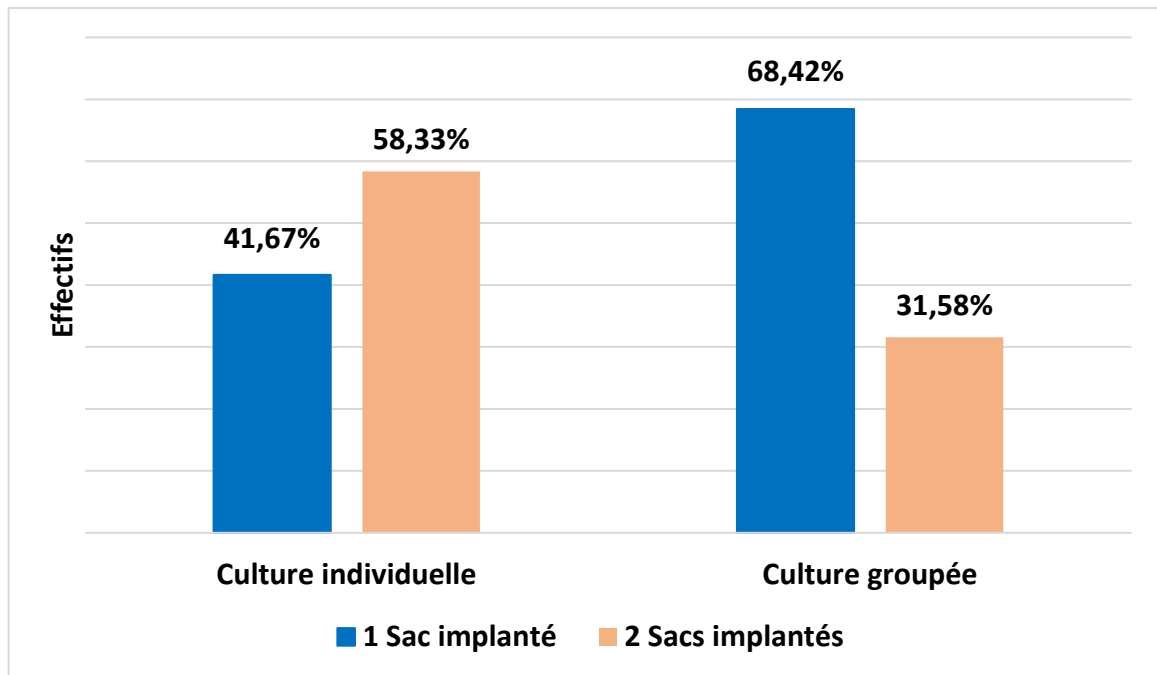


Figure. 22: Répartition des patientes selon l'implantation des sacs.

7. Lien entre les types de culture et l'âge de la femme

Le tableau. 03 montre que la culture embryonnaire groupée est réalisée pour une catégorie des patientes ayant une moyenne d'âge de $32,81 \pm 4,93$ ans, tandis que la culture embryonnaire individuelle est réalisée pour des patientes ayant une moyenne d'âge de $35,25 \pm 4,52$ ans. Avec une moyenne d'âge de $34,17 \pm 4,85$ ans chez la population et âge minimum de 22 ans et un âge maximum de 46 ans.

Pour l'âge des hommes, les patientes dont les conjoints ont un moyen d'âge est de $38,6 \pm 5,25$ ans ont fait une culture embryonnaire de type groupé, tandis que celles dont les conjoints sont plus âgés avec un moyen d'âge de $41,77 \pm 7,39$ ans ont fait une culture embryonnaire individuelle.

Il existe une différence très hautement significative entre les types de culture embryonnaire et l'âge de la femme ($P=0,001$).

Tableau. 03: Lien entre les types de culture et l'âge de la femme.

	Types de culture	Moyenne ± écart type	Valeur de P
Age de la femme (ans)	Individuelle	35,25± 4,529	0,001
	Groupée	32,81± 4,93	

8. Lien entre les types de culture et le taux d'AMH

Le taux d'AMH est mesuré en ng/ml (nanogrammes par millilitre).

Le tableau. 04 montre que les patientes ayant fait une culture embryonnaire individuelle présentent un taux moyen d'AMH de $2,06 \pm 1,38$ ng/ml. En revanche, les patientes ayant suivi une culture groupée présentent un taux moyen d'AMH plus élevé de $3,25 \pm 2,59$ ng/ml. Avec une moyenne de $2,65 \pm 2,15$ ng/ml chez la population (112 femmes)

Il existe une différence très hautement significative entre les types de culture embryonnaire et le taux d'AMH ($P=0,003$).

Tableau. 04: Lien entre les types de culture et le taux d'AMH.

	Types de culture	Moyenne ± écart type	Valeur de P
Taux d'AMH (ng/ml)	Individuelle	2,06± 1,38	0.003
	Groupée	3,25± 2,59	

9. Lien entre les types de culture et le bilan hormonal de stimulation

Le tableau. 05 présente le croisement entre les types de culture et les différents paramètres biochimiques des patientes de l'étude.

- **Oestradiol**

Le taux d'hormone oestradiol est mesuré en pg/ml (picogrammes par millilitre). Un dosage après stimulation a été effectué sur 164 femmes.

Le tableau. 05 montre que les patientes ayant fait une culture embryonnaire de type groupé ont une moyenne plus élevée de $2443,182 \pm 836,801$ pg/ml, alors que pour celles ayant fait une culture embryonnaire de type individuel, la moyenne est de $1917,898 \pm 748,989$ pg/ml.

Il existe une différence très hautement significative entre les types de culture embryonnaire et le taux d'œstradiol ($P=0,000$).

- **LH**

Le taux l'hormone lutéinisante est mesuré en UI/l (unité internationale par litre). Un dosage après stimulation a été effectué sur 154 femmes.

Le tableau. 05 montre que la moyenne élevée de $2,046 \pm 1,811$ UI/l est observée chez les patientes ayant suivi une culture embryonnaire de type individuel, alors que pour celles ayant fait une culture embryonnaire de type groupé, la moyenne est de $1,878 \pm 1,436$ UI/l.

Il n'existe pas de différence statistiquement significative entre les types de culture et le taux de LH ($P=0,525$).

- **Progestérone**

Quant à l'hormone progestérone est mesuré en ng/ml (nanogrammes par millilitre). Un dosage après stimulation a été effectué sur 158 femmes.

Le tableau. 05 montre que des résultats presque similaires sont observés chez les patientes ayant suivi soit une culture embryonnaire de type individuel ou groupé ($1,202 \pm 0,824$ ng/ml ; $1,136 \pm 0,534$ ng/ml) respectivement.

Il n'existe pas une différence statistiquement significative entre les types de culture et le taux de la progestérone ($P=0,554$).

Tableau. 05: Lien entre les types de culture et le bilan hormonal de stimulation.

Hormones	Types de culture	Moyenne \pm écart type	Valeur de P
Oestradiol (pg/ml)	Individuelle (85)	1917,89 \pm 836,80	0,000
	Groupée (79)	2443,18 \pm 748,98	
LH-SANG (UI/l)	Individuelle (75)	2,04 \pm 1,81	0,525
	Groupée (79)	1,87 \pm 1,43	
Progestérone (ng/ml)	Individuelle (79)	1,20 \pm 0,82	0,554
	Groupée (79)	1,13 \pm 0,53	

10. Lien entre les types de culture et le nombre des ovocytes recueillis

Le tableau. 06 montre que les patientes ayant suivi une culture embryonnaire individuelle ont eu un nombre total d'ovocytes de 706, avec une moyenne de 7 ± 2 ovocytes. En contraste, pour celles ayant fait une culture embryonnaire groupée, la moyenne d'ovocytes était plus élevée, à 12 ± 4 , avec un nombre total de 981 ovocytes. Avec une moyenne d'environ 9 ± 4 ovocytes chez les patientes de la population (1687 ovocytes recueillis)

Il existe une différence très hautement significative entre les types de culture embryonnaire et le nombre de ovocytes recueillis (P=0,000).

Tableau. 06: Lien entre les types de culture et le nombre des ovocytes recueillis.

	Types de culture	Moyenne \pm écart type	Valeur de P
Ovocytes recueillis	Individuelle (706)	7 ± 2	0,000
	Groupée (981)	12 ± 4	

11. Lien entre les types de culture et le nombre d'ovocytes matures

Le tableau. 07 montre que les patientes ayant fait une culture embryonnaire groupée ont un total de 852 ovocytes matures, avec une moyenne de 11 ± 4 ovocytes. En revanche, pour celles ayant suivi une culture embryonnaire individuelle, la moyenne d'ovocytes matures était faible soit 5 ± 1 , avec un total de 541 ovocytes. Avec une moyenne d'environ 7 ± 4 ovocytes chez les patientes de la population (1393 ovocytes matures).

Il existe une différence très hautement significative entre les types de culture embryonnaire et le nombre d'ovocytes matures ($P=0,000$).

Tableau. 07: Lien entre les types de culture et le nombre d'ovocytes matures.

	Types de culture	Moyenne \pm écart type	Valeur de P
Ovocytes matures	Individuelle (541)	5 ± 1	0,000
	Groupée (852)	11 ± 4	

12. Lien entre les types de culture et le taux de maturation

La figure. 23 montre que les patientes ayant fait une culture groupée présentent un taux de maturation des ovocytes de 87%, tandis que celles ayant fait d'une culture individuelle présentent un taux de maturation de 81%, sachant que le taux optimal est de 80% (**European Society of Human Reproduction and Embryology, 2017**).

Il existe une différence significative entre les types de culture embryonnaire et le taux de maturation ($P=0,03$).

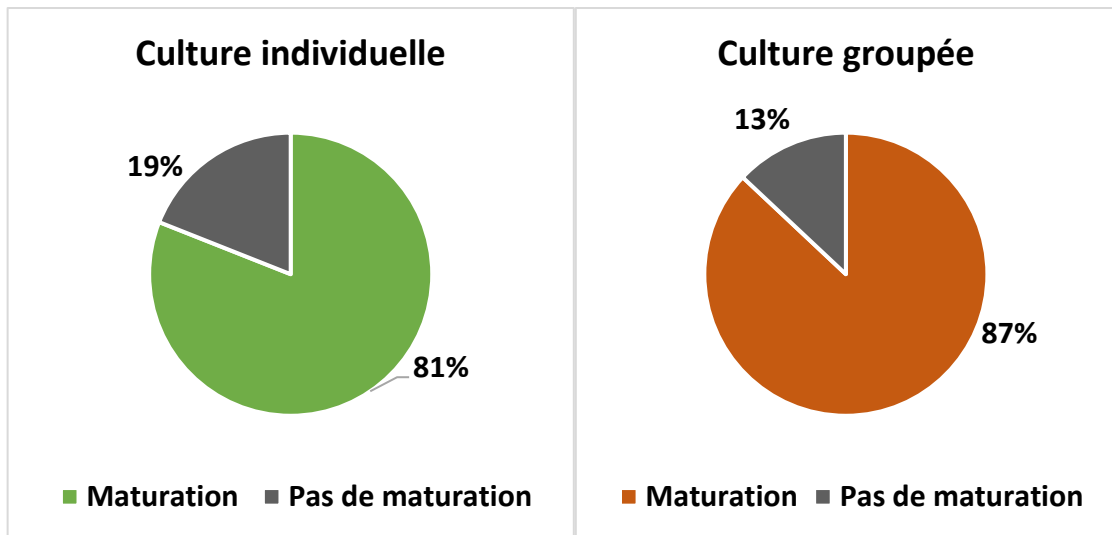


Figure. 23: Lien entre les types de culture et le taux de maturation.

13. Lien entre les types de culture et le taux de fécondation

La figure. 24 montre que les patientes ayant suivi une culture individuelle présentent un taux de fécondation des ovocytes de 66%, tandis que celles ayant suivi une culture groupée présentent un taux de fécondation de 67%, sachant que le taux optimal est de 70% (**European Society of Human Reproduction and Embryology, 2017**).

Il n'existe pas une différence statistiquement significative entre les types de culture et le taux de fécondation ($P=0,68$).

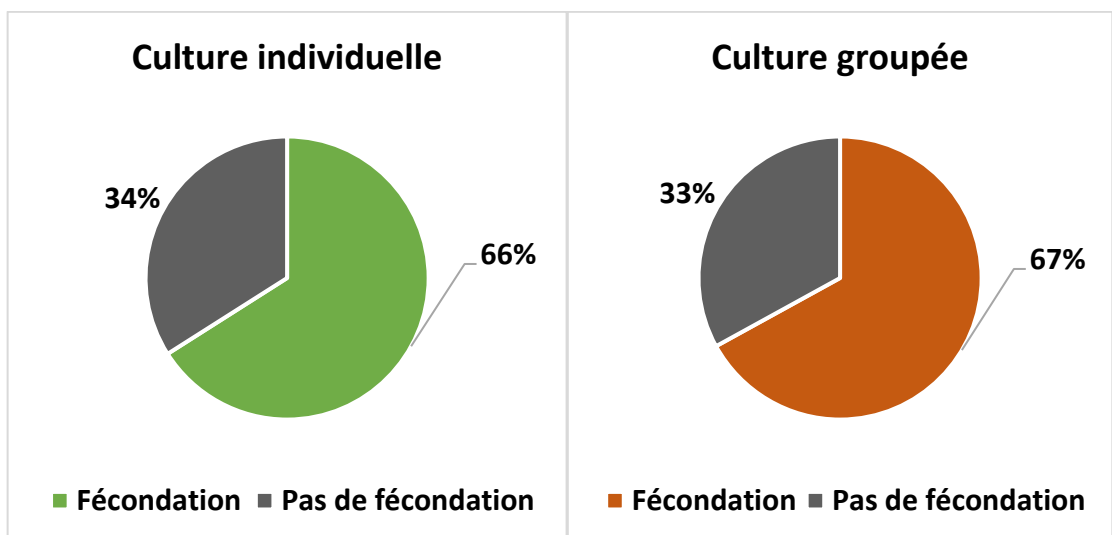


Figure. 24: Lien entre les types de culture et le taux de fécondation.

14. Lien entre les types de culture et le taux de segmentation

La figure. 25 montre que les patientes ayant suivi une culture individuelle présentent un taux de segmentation de 95%, tandis que celles ayant fait une culture groupée présentent un taux de segmentation de 93%, sachant que le taux optimal est de 90% (**European Society of Human Reproduction and Embryology, 2017**).

Il n'existe pas une différence statistiquement significative entre les types de culture et le taux de segmentation (P=0,33).

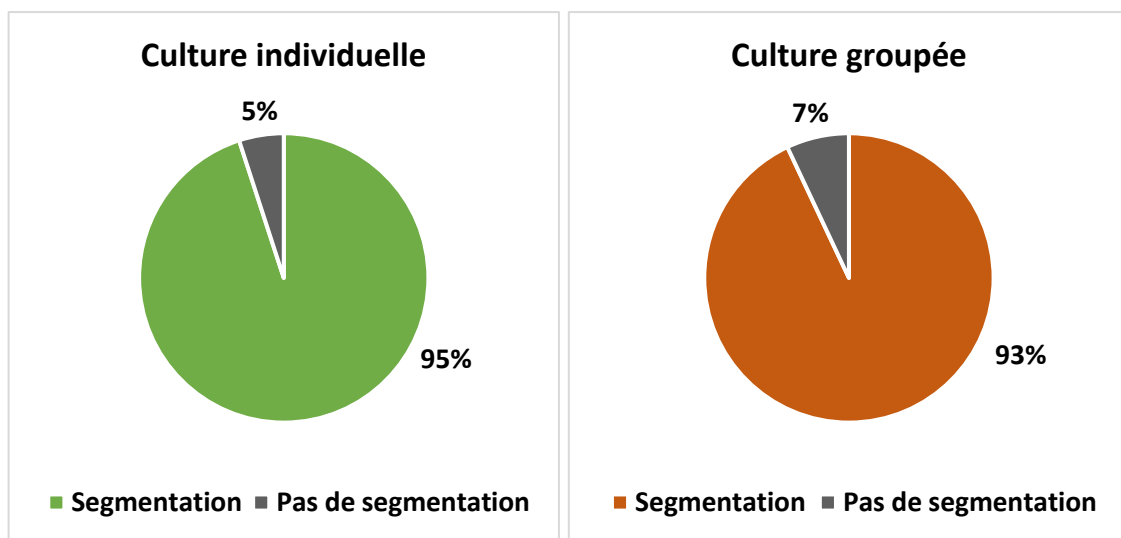


Figure. 25: Lien entre les types de culture et le taux de segmentation.

15. Lien entre les types de culture et le nombre d'embryons obtenus

Le tableau. 08 montre que les patientes ayant fait une culture embryonnaire groupée ont obtenu un total de 532 embryons, avec une moyenne de 7 ± 4 embryons. Contrairement à la culture embryonnaire individuelle, la moyenne des embryons obtenus était faible soit 3 ± 1 , avec un total de 334 embryons. Avec une moyenne d'environ 5 ± 3 embryons chez les patientes de la population (886 embryons obtenus)

Il existe une différence très hautement significative entre les types de culture embryonnaire et le nombre d'embryons obtenus (P=0,000).

Tableau. 08: Lien entre les types de culture et le nombre d'embryons obtenus.

	Types de culture	Moyenne ± écart type	Valeur de P
Embryons obtenus	Individuelle (334)	3±1	0,000
	Groupée (532)	7±4	

16. Taux de blastulation chez la culture groupée

Le tableau. 09 montre que dans la culture groupée, pour décider si le transfert des embryons doit se faire le troisième jour ou attendre jusqu'au stade blastocyste, il est essentiel de déterminer la valeur seuil des ovocytes matures et des embryons obtenus.

Tableau. 09: Les calculs de la valeur seuil des embryons obtenus et des ovocytes matures.

	Les embryons obtenus	Les ovocytes matures
La valeur seuil	3 embryons	5 ovocytes matures

Donc, pour obtenir un seul blastocyste, il faut avoir trois embryons, et pour obtenir trois embryons, il faut avoir cinq ovocytes matures ou plus. Ce qui signifie que pour obtenir un seul blastocyste il faut avoir cinq ovocytes matures ou plus.

91 blastocystes ont été obtenus dans la culture groupée chez 24 femmes. Parmi elles, 22 femmes âgées de moins de 36 ans ont eu 80 blastocystes transférés. Pour la culture individuelle, seuls les embryons de deux patientes se sont développés jusqu'au stade de blastocyste (3 blastocystes).

- Calcul du taux de blastulation = nombre des blastocystes (80) / nombre des embryons obtenus (198) *100

Les patientes ayant fait la culture groupée et dont l'âge est inférieur à 36 ans possèdent un nombre élevé d'ovocytes recueillis, présentant un taux de blastulation de 40%.

17. Lien entre les types de culture et le jour de transfert

Le tableau. 10 montre que presque la totalité (98 %) des patientes de la culture individuelle ont effectué le transfert des embryons le troisième jour du développement

embryonnaire in vitro, et seulement 2 % ont effectué le transfert des blastocystes le cinquième jour du développement.

En comparaison, chez les patientes de la culture embryonnaire groupée, 70 % ont transféré des embryons le troisième jour du développement, tandis que 30 % ont transféré des blastocystes le cinquième jour.

Il existe une différence très hautement significative entre les types de culture embryonnaire et le jour de transfert ($P=0,000$).

Tableau. 10: Lien entre les types de culture et le jour de transfert.

Types de culture	Effectifs et pourcentages	Jours de transfert		Total	Valeur de P
		Le troisième jour	Le cinquième jour		
Individuelle	N / %	98 (98)	2 (2)	100 (100)	0,000
Groupée	N / %	56 (70)	24 (30)	80 (100)	
Total	N / %	154 (85,6)	26 (14,4)	180 (100)	

18. Lien entre les types de culture et le nombre d'embryons transférés

Chez les patientes de la culture groupée, la moyenne d'embryons transférés est de 2 embryons.

La figure. 26 montre que le transfert de 2 embryons a été effectué pour 70 % des patientes, tandis que le transfert de 3 embryons a été effectué pour 23,8 % des patientes, alors que seulement 6,3 % des patientes ont transféré un seul embryon.

Dans le cas de la culture embryonnaire individuelle la moyenne d'embryons transférés est de 2 embryons.

La figure. 26 montre que le transfert de 2 embryons a été effectué pour 61% des patientes, tandis que le transfert de 3 embryons a été effectué pour 35 % des patientes, alors que le transfert d'un seul embryon a été effectué pour seulement 4% des patientes

Il n'existe pas une différence statistiquement significative entre les types de culture et le nombre d'embryons transférés ($P=0,09$).

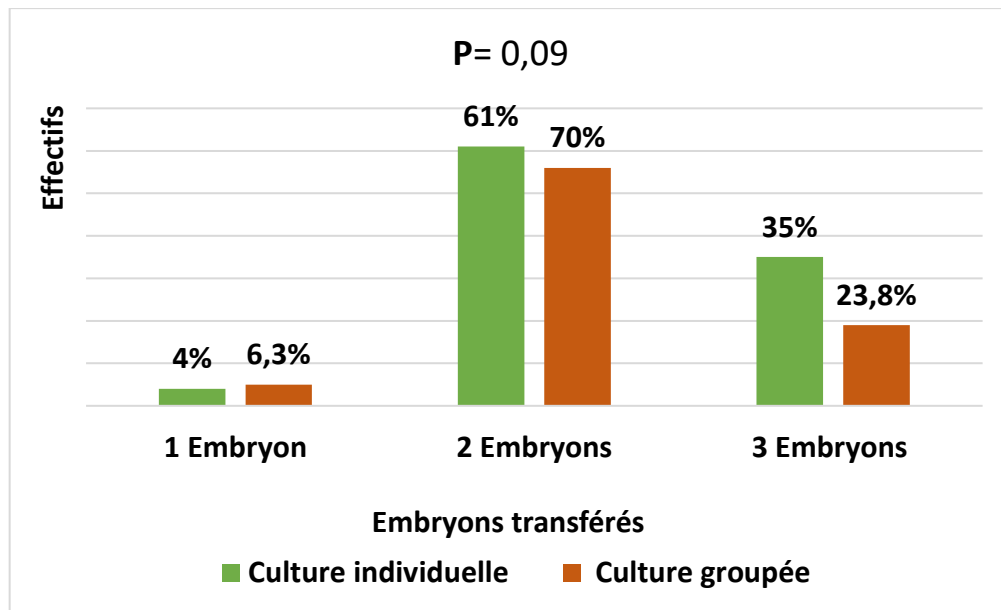


Figure. 26: Lien entre les types de culture et le nombre d'embryons transférés.

19. Lien entre les types de culture et le taux d'implantation

La figure. 27 montre que les patientes ayant fait une culture groupée présentent un taux d'implantation de 14%, tandis que celles ayant suivi une culture individuelle présentent un taux d'implantation de 8%.

Il existe une différence significative entre les types de culture embryonnaire et le taux d'implantation ($P=0,041$).

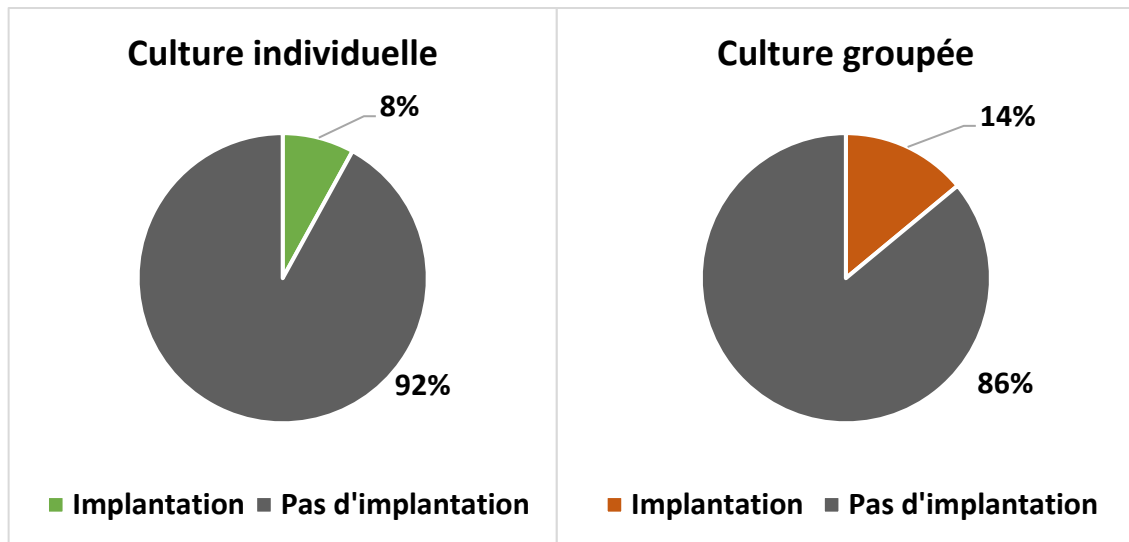


Figure. 27: Lien entre les types de culture et le taux de l'implantation.

20. Lien entre les types de culture et le taux de grossesse

Après le transfert embryonnaire, le résultat est évalué en mesurant le taux de l'hormone bêta-hCG dans le sang.

La figure .28 montre que le taux de grossesse observé chez les patientes ayant fait la culture embryonnaire groupée est 24%. En contraste, le taux de grossesse est plus bas chez les patientes ayant suivi la culture embryonnaire individuelle, soit 12%. Avec un taux de 17,2% chez la population (31 femmes).

Il existe une différence significative entre les types de culture embryonnaire et le résultat (P=0,04).

La valeur d'Odds ratio montre que les types de culture embryonnaire groupé présente 2,2 fois plus de chances d'avoir des grossesses par rapport au type individuel.

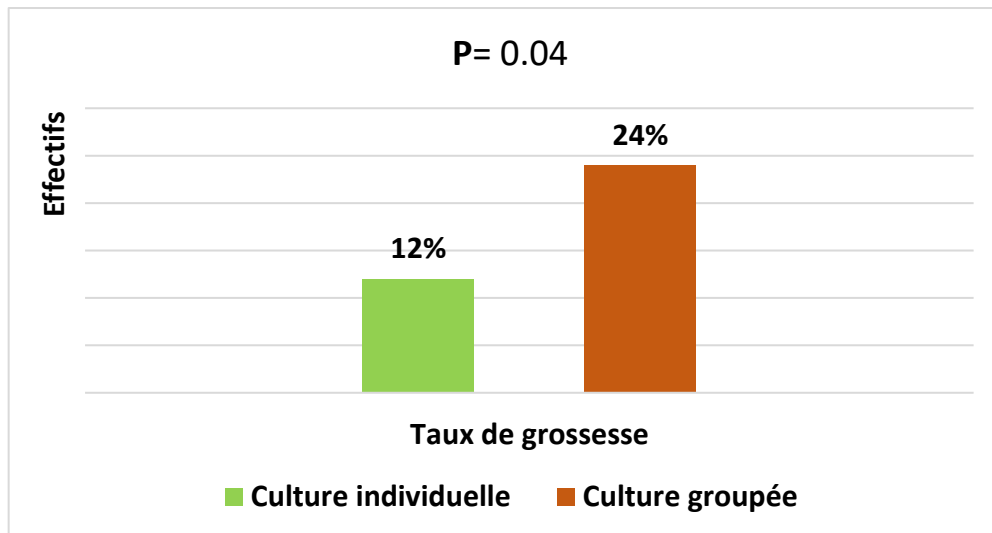


Figure. 28: Lien entre les types de culture et le taux de grossesse.

21. Détermination de la valeur seuil des ovocytes recueillis et des embryons obtenus chez les patientes de la population par les courbes ROC

Afin de déterminer les seuils optimaux pour le nombre des ovocytes recueillis et des embryons obtenus, des courbes ROC ont été tracées.

- **Les ovocytes recueillis**

La figure. 29 et le tableau. 11 montrent que la valeur seuil du nombre des ovocytes recueillis, était de 8 ovocytes. A cette valeur, les types de culture sont différents entre les patients ayant suivi la culture embryonnaire groupée et les patients ayant fait la culture embryonnaire individuelle avec une sensibilité de 85% et une spécificité de 79%.

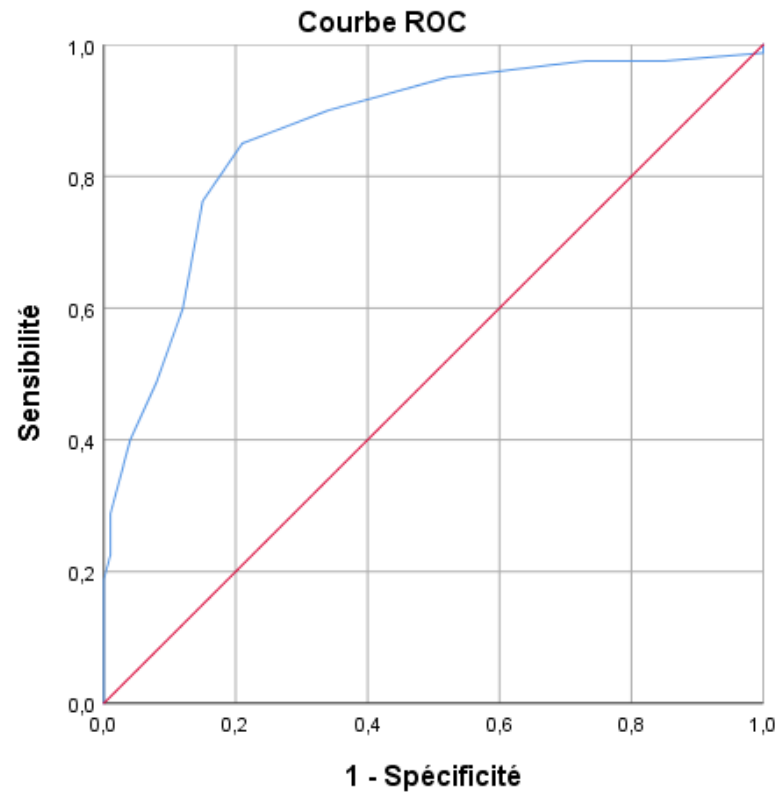


Figure. 29: La courbe ROC du nombre d'ovocytes recueillis, déterminant la valeur seuil entre les deux types de la culture embryonnaire groupée ou individuelle.

Tableau. 11: Les coordonnées de la courbe ROC du nombre d'ovocytes recueillis.

Positif si supérieur ou égal à ^a	Sensibilité	1 - Spécificité
2	1,000	1,000
3	0,988	1,000
4	0,975	0,850
5	0,975	0,730
6	0,950	0,520
7	0,900	0,340
8	0,850	0,210
9	0,763	0,150
10	0,600	0,120
11	0,488	0,080

- **Les embryons obtenus**

La figure. 30 et le tableau. 12 montrent que la valeur seuil du nombre des embryons obtenus était de 4 embryons. A cette valeur, les types de culture sont différents entre les patients ayant suivi la culture embryonnaire groupée et les patients ayant fait la culture embryonnaire individuelle avec une sensibilité de 72% et une spécificité de 79%.

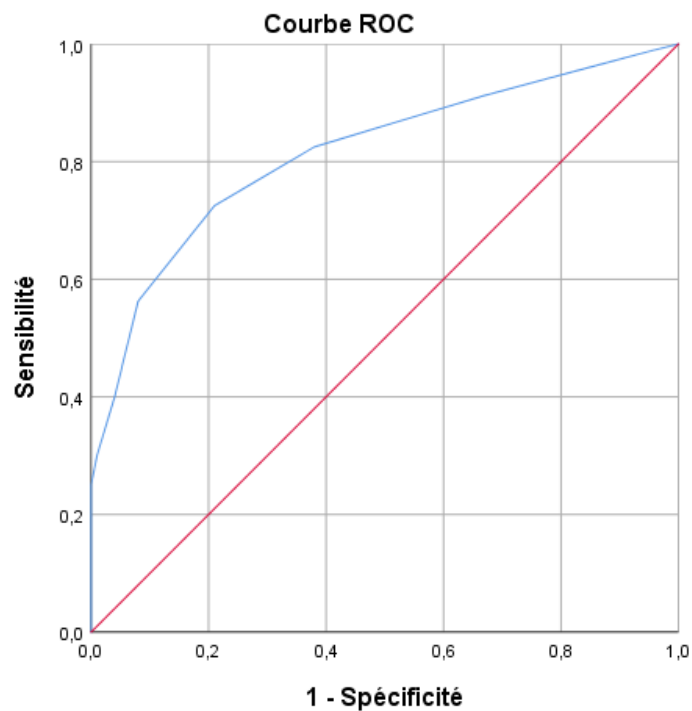


Figure. 30: La courbe ROC du nombre d'embryons obtenus, déterminant la valeur seuil entre les deux types de la culture embryonnaire groupée ou individuelle.

Tableau. 12: Les coordonnées de la courbe ROC du nombre d'embryons obtenus.

Positif si supérieur ou égal à ^a	Sensibilité	1 - Spécificité
0	1,000	1,000
1	0,988	0,950
2	0,913	0,670
3	0,825	0,380
4	0,725	0,210
5	0,563	0,080
6	0,400	0,040
7	0,300	0,010
8	0,250	0,000
9	0,163	0,000
10	0,138	0,000
11	0,125	0,000

DISCUSSION

Dans le cadre de notre étude, nous avons participé à l'évaluation de l'impact de la culture embryonnaire groupée sur les résultats de la FIV/ICSI en comparaison avec les résultats de la culture individuelle.

Dans notre série, l'âge moyen des patientes ayant fait une culture groupée est de $32,81 \pm 4,93$ ans, et l'âge moyen des patientes ayant fait une culture individuelle est de $35,25 \pm 4,52$ ans. Notre étude a montré que l'âge des patientes présente un impact significatif sur les types de la culture embryonnaire ($P= 0,001$). On considère que l'âge des deux groupes est rapproché et que les patientes de notre échantillon sont relativement jeunes. Elles n'ont pas atteint l'âge de diminution de la réserve ovarienne (**Amanvermez & Tosun, 2016**).

Nos résultats sont cohérents avec l'étude de (**Herreros et al., 2024**), qui a démontré l'existence de lien entre les types de culture et l'âge de la femme ($P<0,05$), pour le groupe ayant fait une culture groupée, l'âge moyen des patientes est de 24.36 ± 4.11 ans, et pour le groupe ayant fait une culture individuelle l'âge moyen des patientes est de 25.79 ± 3.76 ans. Aussi, (**Almagor et al., 1996**) ont trouvé une relation entre l'âge et les types de culture ($P=0,045$), avec un âge moyen des femmes similaire dans les deux groupes : $32,9 \pm 4,9$ ans pour la culture groupée et $32,8 \pm 5,1$ ans pour la culture individuelle. Bien que l'âge des patientes soit statistiquement significatif entre les deux groupes, nous considérons que cela n'a pas d'impact puisqu'il s'agit d'un groupe de patientes jeunes à fertilité prouvée.

Cependant, (**Fancsovits et al., 2022**) n'ont pas trouvé une différence statistiquement significative entre l'âge des patientes et les types de culture ($P=0.689$), avec une moyenne d'âge de 35.7 ± 4.8 ans chez les femmes ayant fait une culture groupée et 35.9 ± 4.7 ans chez les femmes ayant fait une culture individuelle.

Concernent les ovocytes recueillis, les résultats de notre étude montrent une supériorité de la moyenne des ovocytes recueillis chez les patientes ayant fait une culture groupée (12 ± 4 ovocytes, avec un total de 981 ovocytes) par rapport à celles ayant fait une culture individuelle (7 ± 2 ovocytes, avec un total de 706 ovocytes), avec une différence très hautement significative entre les deux types de culture ($P= 0,000$). Cela signifie que le choix du type de culture dépend du nombre d'ovocytes recueillis et la politique du centre de PMA favorise la culture groupée quand le nombre est élevée, et on a trouvé que la sensibilité entre les ovocytes recueillis et les types de culture est de 85 %, et la spécificité est de 79 %, avec une valeur seuil fixée à 8 ovocytes, de sorte que, au-delà de cette valeur, les ovocytes sont orientés vers la culture en groupe.

On remarque aussi que le choix du type de culture dépend du nombre d'ovocytes matures, en effet, la maturation des ovocytes recueillis va influencer la culture groupée, nos résultats montrent une prédominance de la moyenne des ovocytes matures chez les patientes ayant fait une culture groupée (11 ± 4 ovocytes, avec un total de 852 ovocytes) par rapport à celles ayant suivi une culture individuelle (5 ± 1 ovocytes, avec un total de 541 ovocytes), avec une différence très hautement significative entre les deux types de culture ($P = 0,000$).

Nos résultats ne sont pas cohérents avec l'étude de (**Herrerros et al., 2024**) qui a montré que le nombre d'ovocytes recueillis n'a aucun effet significatif sur les types de culture. Cela est dû au fait que les ovocytes recueillis sont de même qualité puisque l'âge moyen des patientes des deux groupes est proche et inférieur à 30 ans et on sait que l'âge est un facteur déterminant important de la qualité.

Notre étude a montré des taux de fécondation similaires pour les deux types de culture, 66 % pour la culture groupée et 67 % pour la culture individuelle, avec l'absence de différence significative entre le taux de fécondation et les types de culture. Cela est cohérent, car la fécondation ne dépend pas du nombre d'ovocytes recueillis, mais de la qualité du sperme et de la technique utilisée, qu'il s'agisse de FIV ou d'ICSI.

Nos résultats sont concordants avec l'étude de (**Fancsovits et al., 2022**), qui a montré également qu'il n'y a pas de différence significative entre ces deux paramètres ($P > 0,05$).

En ce qui concerne le taux de segmentation, nos résultats montrent qu'il n'existe pas de différence significative entre les types de culture et ce taux ($P = 0,33$), avec une légère prédominance de la culture individuelle (95 %) par rapport à la culture groupée (93 %). Cela s'explique par le fait que la segmentation des embryons dépend du taux de fécondation. Ceci est cohérent avec une étude menée par (**Almagor et al., 1996**), qui ne montre pas de lien entre les deux paramètres ($P > 0,05$).

Cependant, (**Kelley & Lauren, 2018**) ont constaté que la culture en groupe est bénéfique pour la segmentation des embryons humains par stimulation de la croissance embryonnaire.

Concernent les embryons obtenus, les résultats de notre étude montrent une prédominance de la moyenne des embryons obtenus chez les patientes ayant fait une culture groupée (7 ± 4 embryons, avec un total de 532 embryons) par rapport à celles ayant suivi une culture individuelle (3 ± 1 embryons, avec un total de 334 embryons), avec une différence très hautement significative entre les deux types de culture ($P = 0,000$). Cela signifie que la culture

embryonnaire de type groupé a un impact sur le nombre d'embryons obtenus. La sensibilité entre les embryons obtenus et les deux types de culture est de 72 % et la spécificité est de 79 %, avec une valeur seuil fixée à 4 embryons, de sorte que, au-delà de cette valeur, les embryons obtenus proviennent de la culture en groupe. La culture groupée donne plus d'embryons en raison de la meilleure qualité et quantité des ovocytes, ce qui rejoint les conclusions de **(Fancsovits et al., 2022)** qui suggèrent qu'un nombre plus élevé d'embryons obtenus dans une culture de groupe peut indiquer un développement embryonnaire plus rapide et une meilleure viabilité de l'embryon.

Cette constatation concorde avec l'observation antérieure de **(Moessner & Dodson, 1995)** qui montre que le nombre moyen d'embryons obtenus était significativement plus élevé ($P < 0,05$) lors d'une culture groupée ($4,07 \pm 0,10$) que lors d'une culture individuelle ($3,77 \pm 0,11$). Étant donné que le regroupement des embryons a amélioré les scores embryonnaires, en particulier le regroupement de quatre ou cinq embryons.

En ce qui concerne le taux de blastulation, la politique du centre de PMA stipule que, dans la culture individuelle, le transfert est effectué le troisième jour après la fécondation, avant d'atteindre le stade blastocyste. Cette décision est due au fait que les femmes sont souvent plus âgées, avec une moyenne de $35,25 \pm 4,52$ ans, et ont moins d'ovocytes recueillis (7 ± 2 ovocytes), ce qui conduit à moins d'embryons (3 ± 1 embryons). Cela augmente le risque de blocage pouvant survenir entre le jour 3 et le jour 5.

Dans la culture groupée, le transfert des embryons au troisième jour ou l'attente jusqu'au stade blastocyste dépend du seuil des ovocytes matures (5 ovocytes) ou des embryons (3 embryons). Au-delà de ces valeurs, les embryons peuvent atteindre le stade de blastocyste.

Nous avons décidé de concentrer notre travail sur les patientes âgées de moins de 36 ans, sachant que cette catégorie est celle qui donne des ovocytes de même qualité. Nous avons remarqué des taux de blastulation très élevés (40%), ce qui est confirmé par l'indicateur clé de performance (KPI), montrant qu'une valeur $\geq 40\%$ du taux de blastulation est considérée comme une valeur de référence **(European Society of Human Reproduction and Embryology, 2017)**. Cela s'explique par le fait que les embryons humains préimplantatoires cultivés en groupe produisent un ou plusieurs facteurs qui stimulent le développement en culture et améliorent la blastulation, tels que les interleukines (IL-1, IL-6), le facteur de stimulation des colonies-1 (CSF-1), la survivine, le facteur d'activation des plaquettes (PAF), et le facteur de

croissance analogue à l'insuline 2 (IGF2R). Ainsi, d'autres études prospectives sont nécessaires pour doser ces facteurs afin d'obtenir une idée plus claire.

Nos résultats sont comparables à d'autres études, telles que celle de **(Ebner et al., 2010)** qui a mené une étude comparative et qui a trouvé un taux de blastulation de 55,8% chez les cultures groupées et de 45,2% chez les cultures individuelles. Cette étude fournit des preuves que plusieurs ligands embryotrophes sont considérés comme ayant une capacité de stimulation, tels que le facteur de croissance analogue à l'insuline I ou II et le facteur d'activation plaquettaire (PAF). Ce dernier est le candidat le plus probable, puisque ce phospholipide de faible poids moléculaire intervient dans un large éventail de fonctions biologiques, telles que la réduction de l'apoptose ou l'augmentation du nombre de mitoses et de cellules de blastocyste.

L'étude de **(Herreros et al., 2024)** montre que la culture individuelle présente un taux de blastulation élevé (65,7%) par rapport à la culture groupée (58,7%). En ce qui concerne la formation de substances toxiques sécrétées par les embryons cultivés en groupe ayant une influence sur la blastulation, l'ammonium présente un intérêt particulier. Cette étude a pu démontrer qu'une augmentation des concentrations d'ammonium au jour 4 de la culture groupée entraînait une réduction du taux de blastocystes au jour 5 par rapport aux concentrations normales.

Pour le jour de transfert, notre étude montre qu'il existe une différence hautement significative entre les types de culture et le jour de transfert ($P= 0,000$). Presque la totalité (98 %) des patientes ayant fait une culture individuelle et 70 % ayant suivi une culture embryonnaire groupée ont effectué le transfert des embryons le troisième jour du développement embryonnaire in vitro. Par contre, par rapport au cinquième jour de transfert, 30 % des patientes ayant fait une culture embryonnaire groupée et seulement 2 % ayant suivi une culture individuelle réalisent le transfert des blastocystes. Cela signifie que la culture embryonnaire de type groupé a un impact sur le choix du jour de transfert. Cela s'explique par le fait que les agents de stimulation paracrines sécrétés par les embryons entre le jour 3 et le jour 5 influencent le développement de blastocystes de bonne qualité le cinquième jour, modulant principalement l'équilibre entre la pluripotence et la différenciation dans le trophoctoderme et la masse cellulaire interne.

L'étude menée par **(Tao et al., 2013)** montre qu'il existe une différence entre les types de culture et le jour de transfert en fonction de la qualité embryonnaire, favorisant le transfert au jour 3 dans la culture individuelle. Cela est dû au fait que la culture individuelle d'embryons

jusqu'au stade de blastocyste chez l'homme n'est pas toujours possible en raison du faible nombre d'ovocytes disponibles au prélèvement ou de la mauvaise qualité des embryons au jour 3, en raison de l'absence de facteurs de signalisation paracrine.

Nos résultats n'étaient pas cohérents avec les études (**Herreros et al., 2024**) (**Rebollar-Lazaro & Matson, 2010**) qui n'ont pas trouvé un lien entre les deux ($P > 0,05$).

Pour les embryons transférés, notre étude a montré que les types de culture embryonnaire n'a pas un impact significatif sur le transfert des embryons ($P = 0,09$), ce qui s'explique par la politique du centre de PMA.

D'autres études sont cohérentes avec nos résultats, telles que celles de (**Fancsovits et al., 2022**) et (**Spyropoulou, 1999**), qui ont montré qu'il n'existe pas de différence significative entre les types de culture et le nombre d'embryons transférés ($P > 0,05$). Aucune étude ne montre qu'il existe une différence statistiquement significative.

Notre étude a révélé une prédominance de la culture groupée (14 %) par rapport à la culture individuelle (8 %) en ce qui concerne les taux d'implantation, avec une différence statistiquement significative entre les deux types de culture ($P = 0,041$).

Chez les patientes âgées de moins de 36 ans, nous avons constaté que le taux d'implantation pour la culture groupée est de 60 %. Cela s'explique par le fait que nous avons obtenu des embryons de bonne qualité qui ont profité des facteurs de croissance sécrétés dans le milieu de culture par les embryons cultivés en groupe, ce qui favorise une meilleure implantation.

Cette constatation est corroborée par l'étude de (**Moessner & Dodson, 1995**), qui démontre une association statistiquement significative ($P < 0,001$) entre les types de culture et les taux d'implantation.

Par contre, les études de (**Herreros et al., 2024**) et (**Ebner et al., 2010**) ne trouvent aucun effet du type de culture sur l'implantation des embryons ($P > 0,05$). De plus, l'équipe de (**Fancsovits et al., 2022**) indique qu'il n'y avait pas de lien entre les deux ($P = 0,214$), avec un taux d'implantation de 30,6 % chez la culture groupée et de 27,2 % chez la culture individuelle. Ceci est démontré par le fait que l'âge moyen des patientes est proche et qu'elles sont jeunes, indiquant ainsi que les ovocytes recueillis sont de même qualité.

En ce qui concerne le taux de grossesse, nos résultats montrent une prédominance de la culture groupée (24 %) par rapport à la culture individuelle (12 %), avec une différence significative entre les deux types de culture ($P= 0,04$).

Chez les la catégorie des patientes moins de 36ans qui présente des ovocytes de même qualité, nos observations ont révélé un taux de réussite de grossesse de 26 % pour la culture groupée, en comparaison avec seulement 11 % pour la culture individuelle.

Le calcul de l'odds ratio montre que les chances de grossesse sont 2,2 fois plus élevées pour les patientes ayant fait une culture embryonnaire groupée par rapport aux patientes ayant suivi une culture individuelle. Cette prédominance des résultats dans la culture groupée par rapport à la culture individuelle s'explique par le fait que les embryons dans cette dernière ne bénéficient pas des échanges inter-embryonnaire présente dans la culture groupée via les embryotropines paracrines anti-apoptotiques, qui régulent la division cellulaire, préviennent la mort cellulaire et assurent la viabilité des embryons de bonne qualité.

L'étude de (**Fancsovits et al., 2022**) a montré que la culture embryonnaire groupée avait un taux de grossesse significativement élevé par rapport à la culture individuelle (50,8 % contre 40,6 % ; $P = 0,022$).

Ceci est cohérent avec les résultats de la recherche de (**Almagor et al., 1996**) qui ont révélé que le transfert intra-utérin d'embryons cultivés en groupes plutôt qu'individuellement a entraîné une amélioration des taux de grossesse, avec une chance 2,4 fois plus élevée (43 % contre 24 % ; $P = 0,045$).

Aussi, (**Ebner et al., 2010**) ont montré dans leur méta-analyse qu'un taux de grossesse plus élevé a été obtenu suite au transfert d'embryons humains lorsqu'ils sont cultivés en groupes. Cependant, l'équipe de (**Rebollar-Lazaro & Matson, 2010**) n'ont signalé aucune différence significative entre le deux

En outre, l'étude de (**Herreros et al., 2024**), rapporte qu'il n'existe pas une différence significative entre les taux de grossesse et les types de la culture ($P= 0,541$), avec un taux de grossesse de 56,3% chez la culture groupée et 46,3 % chez la culture individuelle. Cela est dû à la charge du milieu de culture par les déchets sécrétés par les embryons, tels que l'ammonium, qui est le composant le plus susceptible d'influencer négativement la viabilité de l'embryon en réduisant le nombre de cellules par embryon, en provoquant des altérations métaboliques et des

dommages à l'ADN. Cela montre que les composants libérés par les embryons dans l'environnement pourraient être plus préjudiciables que bénéfiques pour les autres embryons.

L'impact du type de culture embryonnaire sur les résultats de la FIV/ICSI a été étudié sur diverses espèces animales. Il est intéressant de noter que la culture en groupe d'embryons jusqu'au stade blastocyste a été appliquée avec succès chez les moutons et les bovins (**Ieda et al. 2018**), les porcs (**Stokes, Abeydeera & Leese, 2005**), les chats (**Spindler & Wildt, 2002**) et les souris (**Kelley et Gardner 2019**).

(**Wydooghe et al., 2017**) et (**Reed et al., 2011**) ont rapporté que les facteurs de signalisation sécrétés par les embryons des animaux cultivés en groupe influencent la croissance embryonnaire de manière autocrine ou paracrine. Cet effet coopératif a été observé avec une densité embryonnaire accrue, favorisant une meilleure blastulation. Ils ont également démontré que les embryons cultivés en groupe se développaient mieux que ceux cultivés individuellement, avec un taux de grossesse plus élevé.

CONCLUSION

Depuis le moment où la fécondation in vitro est réalisée jusqu'au transfert des embryons dans l'utérus de la femme, le développement embryonnaire se déroule en laboratoire dans ce que l'on appelle la culture embryonnaire in vitro. Ces dernières années, diverses stratégies ont été testées pour améliorer la culture des embryons, parmi lesquelles la culture individuelle et la culture en groupe.

Une étude rétrospective et prospective a été réalisée dans un centre de PMA afin de déterminer l'impact de la culture groupée sur les résultats de la FIV/ICSI en termes de taux de blastulation, d'implantation et de grossesse, et de mettre en évidence la différence entre les résultats de cette dernière et ceux de la culture individuelle.

Dans notre étude, nous avons constaté que l'âge des patientes ($P=0,001$), les ovocytes recueillis et matures ($P=0,000$), ont un impact significatif sur le choix de type de culture. La sensibilité entre les ovocytes recueillis et les types de culture est de 85 %, et la spécificité est de 79 %, avec une valeur seuil de 8 ovocytes. Un nombre d'ovocytes recueillis supérieur à 8 offrent aux patientes une chance supplémentaire de bénéficier de la culture groupée. Ainsi, Ces paramètres sont utilisés pour guider le choix de la culture groupée. Il a été établi que le taux de fécondation n'a pas d'effet sur les types de culture embryonnaire ($P=0,68$).

Dans la culture embryonnaire groupée, un taux de blastulation très élevé (40%) a été observé chez les patientes âgées de moins de 36 ans. Nous avons remarqué que la culture en groupe avait une influence significative sur le nombre d'embryons obtenus ($P=0,000$). La sensibilité entre les embryons obtenus et les deux types de culture est de 72 % et la spécificité est de 79 %, avec une valeur seuil de 4 embryons. La culture en groupe offre ainsi aux patientes une chance supplémentaire d'obtenir plus de 4 embryons.

En outre, nous avons trouvé une différence significative entre les types de culture et le choix du jour de transfert ($P=0,000$), Au-delà du seuil de 5 ovocytes matures ou de 3 embryons, les embryons progressent jusqu'au stade de blastocyste, entraînant ainsi un transfert le cinquième jour. Il y a également une différence significative entre le taux d'implantation des sacs gestationnels et les types de culture ($P=0,041$).

Nous avons démontré qu'il existe une différence significative ($P = 0,04$) entre les deux types de culture embryonnaire en termes de taux de grossesse. Le groupe de culture groupé montre des résultats positifs plus importants que le groupe de culture individuelle, avec 2,2 fois plus de chances d'avoir une grossesse (24 % contre 12 %).

En revanche, nous n'avons pas observé d'influence significative de la culture groupée sur le taux de segmentation ($P=0,33$) et le nombre d'embryons transférés ($P=0,09$).

En conclusion, la culture groupée a un impact favorable sur les résultats de la FIV/ICSI, avec des taux de blastulation, d'implantation et de grossesse nettement améliorés. Cette approche optimise les résultats cliniques, en particulier chez les patientes de moins de 36 ans, et devrait être considérée comme une stratégie efficace pour augmenter les taux de réussite des traitements de procréation médicalement assistée.

Perspectives :

Il est nécessaire de mener d'autres recherches prospectives afin de déterminer la meilleure approche pour augmenter le taux de réussite telles que :

- L'évaluation de l'effet de différentes densités d'embryons sur la qualité des embryons.
- Analyse de l'influence des volumes variés et de la réduction de la distance entre les embryons cultivés ensemble sur la communication inter-embryonnaire paracrine et la concentration des facteurs de stimulation sécrétés dans le milieu de culture.
- C'est toujours un challenge de doser les facteurs de stimulation sécrétés par les embryons cultivés en groupe. Cela montre le grand effet de ces facteurs sur le développement embryonnaire. Des études supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre l'impact de ces facteurs.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Albert, C., Gonzalez, N., Marcos, J., Alegre, L., Ruiz, B. A., De Los Santos, J. M., & Meseguer, M. (2018).** The effect of high humidity culture conditions over embryo development : A continuous embryo monitoring assessment. *Reproductive BioMedicine Online*, 37, e15-e16. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2018.04.029>
- Almagor, M., Bejar, C., Kafka, I., & Yaffe, H. (1996).** Pregnancy rates after communal growth of preimplantation human embryos in vitro*. *Fertility and Sterility*, 66(3), 394-397. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)58507-0](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)58507-0)
- Amanvermez, R., & Tosun, M. (2016).** An Update on Ovarian Aging and Ovarian Reserve Tests. *International Journal of Fertility & Sterility*, 9(4), 411-415.
- Balakier, H., Xiao, R., Zhao, J., Zaver, S., Dziak, E., Szczepanska, K., Opas, M., Yie, S., & Librach, C. (2013).** Expression of survivin in human oocytes and preimplantation embryos. 99(2), 518-525. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.09.020>
- Baltz, J. M. (2012).** Media composition : Salts and osmolality. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 912, 61-80. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-971-6_5
- Barnea, E. R., Lubman, D. M., Liu, Y.-H., Absalon-Medina, V., Hayrabedyan, S., Todorova, K., Gilbert, R. O., Guingab, J., & Barder, T. J. (2014).** Insight into PreImplantation Factor (PIF*) mechanism for embryo protection and development: Target oxidative stress and protein misfolding (PDI and HSP) through essential RIKP [corrected] binding site. *PloS One*, 9(7), e100263. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100263>
- Basu, B., Desai, R., Balaji, J., Chaerkady, R., Sriram, V., Maiti, S., & Panicker, M. M. (2008).** Serotonin in pre-implantation mouse embryos is localized to the mitochondria and can modulate mitochondrial potential. *Reproduction (Cambridge, England)*, 135(5), 657-669. <https://doi.org/10.1530/REP-07-0577>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Begum, M. (2010).** Assisted Reproductive Technology : Techniques and Limitations. *Journal of Bangladesh College of Physicians and Surgeons*, 26. <https://doi.org/10.3329/jbcps.v26i3.4197>
- Bobrie, A., Colombo, M., Raposo, G., & Théry, C. (2011).** Exosome secretion : Molecular mechanisms and roles in immune responses—*PubMed*. 12(12), 59-68. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2011.01225.x>
- Bolnick, A., Awonuga, A. O., Yang, Y., Abdulhasan, M., Xie, Y., Zhou, S., Puscheck, E. E., & Rappolee, D. A. (2017).** Using stem cell oxygen physiology to optimize blastocyst culture while minimizing hypoxic stress. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 34(10), 1251-1259. <https://doi.org/10.1007/s10815-017-0971-x>
- Bolton, V. N., Cutting, R., Clarke, H., & Brison, D. R. (2014).** ACE consensus meeting report : Culture systems. *Human Fertility (Cambridge, England)*, 17(4), 239-251. <https://doi.org/10.3109/14647273.2014.944417>
- Brassard, M., AinMelk, Y., & Baillargeon, J.-P. (2008).** Basic infertility including polycystic ovary syndrome. *The Medical Clinics of North America*, 92(5), 1163-1192, xi. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2008.04.008>
- Brugo-Olmedo, S., Chillik, C., & Kopelman, S. (2000).** Definition and causes of infertility. *Reproductive BioMedicine Online*, 27, 173-185. [https://doi.org/S1472-6483\(10\)62193-1/](https://doi.org/S1472-6483(10)62193-1/)
- Burnett, L. A., & Nowak, R. A. (2016).** Exosomes mediate embryo and maternal interactions at implantation and during pregnancy. *Front Biosci (Schol Ed)*, 8(1), 79-96. <https://doi.org/10.2741/s448>
- Cairo. (2020).** ‘There is only one thing that is truly important in an IVF laboratory : Everything’ Cairo Consensus Guidelines on IVF Culture Conditions. *Reproductive BioMedicine Online*, 40(1), 33-60. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2019.10.003>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Christianson, M. S., Zhao, Y., Shoham, G., Granot, I., Safran, A., Khafagy, A., Leong, M., & Shoham, Z. (2014).** Embryo catheter loading and embryo culture techniques : Results of a worldwide web-based survey. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, *31*(8), 1029-1036. <https://doi.org/10.1007/s10815-014-0250-z>
- Chronopoulou, E., & Harper, J. (2015).** *IVF culture media : Past, present and future—PubMed. 1*, 39-55. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmu040>
- Cikos, S., Fabian, D., Makarevich, A. V., Chrenek, P., & Koppel, J. (2011).** Biogenic monoamines in preimplantation development. *Human Reproduction (Oxford, England)*, *26*(9), 2296-2305. <https://doi.org/10.1093/humrep/der233>
- Di-Poi, N., Tan, N. S., Michalik, L., Wahli, W., & Desvergne, B. (2002).** Antiapoptotic role of PPARbeta in keratinocytes via transcriptional control of the Akt1 signaling pathway. *Molecular Cell*, *10*(4), 721-733. [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(02\)00646-9](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(02)00646-9)
- Direkvand-Moghadam, A., Delpisheh, A., & Khosravi, A. (2013).** Epidemiology of Female Infertility; A Review of Literature. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, *10*(2), 559-567. <https://doi.org/10.13005/bbra/1165>
- Dunning, K. R., Cashman, K., Russell, D. L., Thompson, J. G., Norman, R. J., & Robker, R. L. (2010).** Beta-oxidation is essential for mouse oocyte developmental competence and early embryo development. *Biology of Reproduction*, *83*(6), 909-918. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.110.084145>
- Ebner, T., Shebl, O., Moser, M., Mayer, R. B., Arzt, W., & Tews, G. (2010).** Group culture of human zygotes is superior to individual culture in terms of blastulation, implantation and life birth. *Reproductive BioMedicine Online*, *21*(6), 762-768. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2010.06.038>
- Emerson, M., Travis, A. R., Bathgate, R., Stojanov, T., Cook, D. I., Harding, E., Lu, D. P., & O'Neill, C. (2000).** Characterization and functional significance of calcium transients

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- in the 2-cell mouse embryo induced by an autocrine growth factor. *The Journal of Biological Chemistry*, 275(29), 21905-21913. <https://doi.org/10.1074/jbc.M001719200>
- Eniola, W., Adetola, A., & Abayomi, T. (2012).** *A review of Female Infertility; important etiological factors and management.*
- European Society of Human Reproduction and Embryology. (2017).** The Vienna consensus : Report of an expert meeting on the development of ART laboratory performance indicators. *Reproductive Biomedicine Online*, 35(5), 494-510. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2017.06.015>
- Fancsovits, P., Pribenszky, C., Lehner, A., Murber, A., Kaszas, Z., Nemes, A., & Urbancsek, J. (2022).** Prospective-randomized study comparing clinical outcomes of IVF treatments where embryos were cultured individually or in a microwell group culture dish. *Biologia Futura*, 73(2), 229-236. <https://doi.org/10.1007/s42977-022-00113-8>
- Feuer, S., & Rinaudo, P. (2012).** Preimplantation stress and development. *Birth Defects Research. Part C, Embryo Today: Reviews*, 96(4), 299-314. <https://doi.org/10.1002/bdrc.21022>
- Feuer, S., & Rinaudo, P. (2016).** From Embryos to Adults : A DOHaD Perspective on In Vitro Fertilization and Other Assisted Reproductive Technologies. *Healthcare (Basel, Switzerland)*, 4(3), 51. <https://doi.org/10.3390/healthcare4030051>
- Gardner, D. K., Hamilton, R., McCallie, B., Schoolcraft, W. B., & Katz-Jaffe, M. G. (2013).** Human and mouse embryonic development, metabolism and gene expression are altered by an ammonium gradient in vitro. *Reproduction (Cambridge, England)*, 146(1), 49-61. <https://doi.org/10.1530/REP-12-0348>
- Gardner, D. K., & Lane, M. (2014).** Culture of Viable Mammalian Embryos *In Vitro*. In J. Cibelli, J. Gurdon, I. Wilmut, R. Jaenisch, R. Lanza, M. D. West, & K. H. S. Campbell

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (Éds.), *Principles of Cloning (Second Edition)* (p. 63-84). Academic Press.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386541-0.00006-0>
- Gardner, D. K., & Wale, P. L. (2013).** Analysis of metabolism to select viable human embryos for transfer. *Fertility and Sterility*, 99(4), 1062-1072.
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.12.004>
- Geraghty, R. J., Capes-Davis, A., Davis, J. M., Downward, J., Freshney, R. I., Knezevic, I., Lovell-Badge, R., Masters, J. R. W., Meredith, J., Stacey, G. N., Thraves, P., Vias, M., & Cancer Research UK. (2014).** Guidelines for the use of cell lines in biomedical research. *British Journal of Cancer*, 111(6), 1021-1046.
<https://doi.org/10.1038/bjc.2014.166>
- Gibson, B. A., & Wilkerson, J. (2023).** Basic Management of Infertility. In D. Shoupe (Éd.), *Handbook of Gynecology* (p. 569-585). Springer International Publishing.
https://doi.org/10.1007/978-3-031-14881-1_42
- Girsh, E. (Éd.). (2021).** Embryo Culture. In *A Textbook of Clinical Embryology* (1^{re} éd., p. 114-125). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/9781108881760.011>
- Goossens, K., Mestdagh, P., & Lefever, S. (2013).** Regulatory microRNA network identification in bovine blastocyst development—PubMed. *Stem Cells Dev*, 22(13), 1907-1920. <https://doi.org/10.1089/scd.2012.0708>
- Hannun, Y. A., & Obeid, L. M. (2008).** *Principles of bioactive lipid signalling : Lessons from sphingolipids—PubMed*. 9(2), 139-150. <https://doi.org/10.1038/nrm2329>
- Herreros, M., Martí, L., Díaz, N., Tió, M. C., Rodríguez-Arnedo, A., Guerrero, J., Ortiz, J. A., Bernabeu, A., Bernabeu, R., & Ten, J. (2024).** Impact of Group vs Individual Embryo Culture Strategies on Blastocyst and Clinical Outcomes. *Reproductive Sciences*. <https://doi.org/10.1007/s43032-024-01480-4>
- Ieda S, Akai T, Sakaguchi Y, Shimamura S, Sugawara A, Kaneda M, Matoba S, Kagota M, Kaijima H (2018)** A microwell culture system that allows group culture and is

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- compatible with human single media. *J Assist Reprod Genet* 35:1869–1880.
<https://doi.org/10.1007/s10815-018-1252-z>
- Il'ková, G., Reháč, P., Veselá, J., Čikoš, Š., Fabian, D., Czikková, S., & Koppel, J.(2004).** Serotonin localization and its functional significance during mouse preimplantation embryo development. *Zygote*, 12(3), 205-213.
<https://doi.org/10.1017/S0967199404002862>
- Inamdar, A. A., Moore, J. C., Cohen, R. I., & Bennett, J. W. (2012).** A Model to Evaluate the Cytotoxicity of the Fungal Volatile Organic Compound 1-octen-3-ol in Human Embryonic Stem Cells. *Mycopathologia*, 173(1), 13-20.
<https://doi.org/10.1007/s11046-011-9457-z>
- Jin Oh, S., Gong, S. P., & Tae Lee, S. (2007).** *Light intensity and wavelength during embryo manipulation are important factors for maintaining viability of preimplantation embryos in vitro—PubMed.* <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.01.036>.
- Johnson, M. (2019).** Human in vitro fertilisation and developmental biology : A mutually influential history. *Development*, 146(17), dev183145.
<https://doi.org/10.1242/dev.183145>
- Kelley, R. L. (2018).** *Group culture of preimplantation embryos creates a microenvironment that determines development, viability, and response to external stressors.*
<http://hdl.handle.net/11343/224106>
- Kelley RL, Gardner DK (2019)** Individual culture and atmospheric oxygen during culture affect mouse preimplantation embryo metabolism and post-implantation development. *Reprod Biomed Online* 39:3–18. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2019.03.102>
- Kirkegaard, K., Hindkjaer, J. J., & Ingerslev, H. J. (2013).** Effect of oxygen concentration on human embryo development evaluated by time-lapse monitoring. *Fertility and Sterility*, 99(3), 738-744.e4. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.11.028>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Kirti, R. (2014).** (PDF) *A Brief Review on In-Vitro fertilization (IVF) : An advanced and miraculous gateway for infertility Treatments.*
https://www.researchgate.net/publication/265862249_A_Brief_Review_on_In-Vitro_fertilization_IVF_An_advanced_and_miraculous_gateway_for_infertility_Treatments
- Kitagawa, Y., Suzuki, K., Yoneda, A., & Watanabe, T. (2004).** Effects of oxygen concentration and antioxidants on the in vitro developmental ability, production of reactive oxygen species (ROS), and DNA fragmentation in porcine embryos. *Theriogenology*, 62(7), 1186-1197. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.01.011>
- Legro, R. S., Sauer, M. V., Mottla, G. L., Richter, K. S., Li, X., Dodson, W. C., & Liao, D. (2010).** Effect of air quality on assisted human reproduction. *Human Reproduction*, 25(5), 1317-1324. <https://doi.org/10.1093/humrep/deq021>
- Lehner, A., Kaszas, Z., Murber, A., Rigo, J., Urbancsek, J., & Fancsovits, P. (2017).** Embryo density may affect embryo quality during in vitro culture in a microwell group culture dish. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 296(2), 345-353. <https://doi.org/10.1007/s00404-017-4403-z>
- Lodish, H., Berk, A., Zipursky, L., Matsudaira, P., Baltimore, D., & Darnell, J. (2001).** *Molecular Cell Biology.* Harvey Lodish , Arnold Berk , S. Lawrence Zipursky , Paul Matsudaira , David Baltimore , James Darnell. <https://doi.org/10.1086/393782>
- Madziyire, M. G., Magwali, T. L., Chikwasha, V., & Mhlanga, T. (2021).** The causes of infertility in women presenting to gynaecology clinics in Harare, Zimbabwe; a cross sectional study. *Fertility Research and Practice*, 7(1), 1. <https://doi.org/10.1186/s40738-020-00093-0>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Maekawa, M., Yamamoto, T., Tanoue, T., Yuasa, Y., Chisaka, O., & Nishida, E. (2005).** Requirement of the MAP kinase signaling pathways for mouse preimplantation development. *Development*, 132(8), 1773-1783. <https://doi.org/10.1242/dev.01729>
- Marcelo Perin, P., Maluf, M., & Eduardo Czeresnia, C. (2010).** *Impact of short-term preconceptional exposure to particulate air pollution on treatment outcome in couples undergoing in vitro fertilization and embryo transfer (IVF/ET)—PubMed.* <https://doi.org/10.1007/s10815-010-9419-2>
- Marei, W. F. A., Salavati, M., & Fouladi-Nashta, A. A. (2013).** Critical role of hyaluronidase-2 during preimplantation embryo development. *Molecular Human Reproduction*, 19(9), 590-599. <https://doi.org/10.1093/molehr/gat032>
- Matteo, M. (2023).** Assisted Reproductive Technology. In C. Bettocchi, G. M. Busetto, G. Carrieri, & L. Cormio (Éds.), *Practical Clinical Andrology* (p. 237-250). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-031-11701-5_18
- Meintjes, M., Chantilis, S. J., Douglas, J. D., Rodriguez, A. J., Guerami, A. R., Bookout, D. M., Barnett, B. D., & Madden, J. D. (2009).** A controlled randomized trial evaluating the effect of lowered incubator oxygen tension on live births in a predominantly blastocyst transfer program. *Human Reproduction (Oxford, England)*, 24(2), 300-307. <https://doi.org/10.1093/humrep/den368>
- Mercader, A., Valbuena, D., & Simón, C. (2006).** Human Embryo Culture. In *Methods in Enzymology* (Vol. 420, p. 3-18). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(06\)20001-6](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(06)20001-6)
- Moessner, J., & Dodson, W. C. (1995).** The quality of human embryo growth is improved when embryos are cultured in groups rather than separately*. *Fertility and Sterility*, 64(5), 1034-1035. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)57925-4](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)57925-4)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Morbeck, D. E., & Leonard, P. H. (2012).** Culture systems : Mineral oil overlay. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 912, 325-331. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-971-6_18
- Moridi, A., Roozbeh, N., Yaghoobi, H., Soltani, S., Dashti, S., Shahrahmani, N., & Banaei, M. (2019).** Etiology and Risk Factors Associated With Infertility. *International Journal of Women's Health and Reproduction Sciences*, 7(3), 346-353. <https://doi.org/10.15296/ijwhr.2019.57>
- Natale, D. R., Paliga, A. J. M., Beier, F., D'Souza, S. J. A., & Watson, A. J. (2004).** P38 MAPK signaling during murine preimplantation development. *Developmental Biology*, 268(1), 76-88. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2003.12.011>
- Navarrete Santos, A., Tonack, S., Kirstein, M., Pantaleon, M., Kaye, P., & Fischer, B. (2004).** Insulin acts via mitogen-activated protein kinase phosphorylation in rabbit blastocysts. *Reproduction (Cambridge, England)*, 128(5), 517-526. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00204>
- Neog, B. (2020).** Causes of Female Infertility : A Systematic Review. *Indian Journal of Pure & Applied Biosciences*, 8, 348-354. <https://doi.org/10.18782/2582-2845.8235>
- Niakan, K., Han, J., Pedersen, P., & Simon, C. (2012).** *Human pre-implantation embryo development—PMC*. <https://doi.org/10.1242/dev.060426>
- O'Neill, C. (2005).** The role of paf in embryo physiology. *Human Reproduction Update*, 11(3), 215-228. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmi003>
- O'Neill, C. (2008).** Phosphatidylinositol 3-kinase signaling in mammalian preimplantation embryo development. *Reproduction (Cambridge, England)*, 136(2), 147-156. <https://doi.org/10.1530/REP-08-0105>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- O'Neill, C., Li, Y., & Jin, X. L. (2015).** Survival signalling in the preimplantation embryo. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 843, 129-149. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2480-6_5
- Ono, K., & Han, J. (2000).** The p38 signal transduction pathway : Activation and function. *Cellular Signalling*, 12(1), 1-13. [https://doi.org/10.1016/s0898-6568\(99\)00071-6](https://doi.org/10.1016/s0898-6568(99)00071-6)
- f (PDF) Assisted reproductive technology.**
https://www.researchgate.net/publication/347255379_Assisted_reproductive_technology
- Pavani, K. C., Alminana, C., Wydooghe, E., Catteuw, M., Ramírez, M. A., Mermillod, P., Rizos, D., & Van Soom, A. (2016).** Emerging role of extracellular vesicles in communication of preimplantation embryos in vitro. *Reproduction, Fertility, and Development*, 29(1), 66-83. <https://doi.org/10.1071/RD16318>
- Pereira, N., & Palermo, G. D. (2018).** Intracytoplasmic Sperm Injection : History, Indications, Technique, and Safety. In G. D. Palermo & E. S. Sills (Éds.), *Intracytoplasmic Sperm Injection : Indications, Techniques and Applications* (p. 9-21). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-70497-5_2
- Phillips, K. P., Léveillé, M. C., Claman, P., & Baltz, J. M. (2000).** Intracellular pH regulation in human preimplantation embryos. *Human Reproduction (Oxford, England)*, 15(4), 896-904. <https://doi.org/10.1093/humrep/15.4.896>
- Puscheck, E. E., Awonuga, A. O., Yang, Y., Jiang, Z., & Rappolee, D. A. (2015).** Molecular biology of the stress response in the early embryo and its stem cells. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 843, 77-128. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2480-6_4
- Rabouille, C. (2017).** *Pathways of Unconventional Protein Secretion—PubMed*. 27(3), 230-240. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2016.11.007>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Raposo, G., & Stoorvogel, W. (2013).** *Extracellular vesicles : Exosomes, microvesicles, and friends.* <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23420871/>
- Rebollar–Lazaro, I., & Matson, P. (2010).** The culture of human cleavage stage embryos alone or in groups : Effect upon blastocyst utilization rates and implantation. *Reproductive Biology, 10*(3), 227-234. [https://doi.org/10.1016/S1642-431X\(12\)60042-4](https://doi.org/10.1016/S1642-431X(12)60042-4)
- Reed, M. L., Woodward, B. J., & Swain, J. E. (2011).** Single or Group Culture of Mammalian Embryos : The Verdict of the Literature. *Journal of Reproductive and Stem Cell Biotechnology, 2*(2), 77-87. <https://doi.org/10.1177/205891581100200203>
- Sciorio, R., & Rinaudo, P. (2023).** Culture conditions in the IVF laboratory : State of the ART and possible new directions. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 40*(11), 2591-2607. <https://doi.org/10.1007/s10815-023-02934-5>
- Sharma, S., Khinchi, M. P., Sharma, N., Agrawal, D., & Gupta, M. K. (2011).** FEMALE INFERTILITY: AN OVERVIEW. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 2*(1).
- Soom, V., Wrathall, A. E., & A Herrler. (2010).** *Is the zona pellucida an efficient barrier to viral infection?* <https://doi.org/10.1071/RD09230>
- Spiegel, S., & Milstien, S. (2003).** Sphingosine-1-phosphate : An enigmatic signalling lipid | Nature Reviews Molecular Cell Biology. *Nature Reviews Molecular Cell Biology, 4*, 397-407.
- Spindler, R. E. & Wildt, D. E. (2002).** Quality and age of companion felid embryos modulate enhanced development by group culture. *Biology of Reproduction 66*, 167–173.
- Spyropoulou, I. (1999).** A prospective randomized study comparing the outcome of in-vitro fertilization and embryo transfer following culture of human embryos individually or in groups before embryo transfer on day 2. *Human Reproduction, 14*(1), 76-79. <https://doi.org/10.1093/humrep/14.1.76>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Stamatkin, C. W., Roussev, R. G., Stout, M., Absalon-Medina, V., Ramu, S., Goodman, C., Coulam, C. B., Gilbert, R. O., Godke, R. A., & Barnea, E. R. (2011).** PreImplantation Factor (PIF) correlates with early mammalian embryo development-bovine and murine models. *Reproductive Biology and Endocrinology*. <https://www.springermedicine.com/preimplantation-factor-pif-correlates-with-early-mammalian-embryo/22470670>
- Stokes PJ, Abeydeera LR, Leese HJ (2005)** Development of porcine embryos in vivo and in vitro; evidence for embryo ‘cross talk’ in vitro. *Dev Biol* 284:62–71. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2005.05.001>
- Sun, X.-F., Zhang, W.-H., Chen, X.-J., Xiao, G.-H., Mai, W.-Y., & Wang, W.-H. (2004).** Spindle dynamics in living mouse oocytes during meiotic maturation, ageing, cooling and overheating : A study by polarized light microscopy. *Zygote (Cambridge, England)*, 12(3), 241-249. <https://doi.org/10.1017/s0967199404002850>
- Tao, T., Robichaud, A., Mercier, J., & Ouellette, R. (2013).** Influence of group embryo culture strategies on the blastocyst development and pregnancy outcome. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 30(1), 63-68. <https://doi.org/10.1007/s10815-012-9892-x>
- Thouas, G. A., Dominguez, F., Green, M. P., Vilella, F., Simon, C., & Gardner, D. K. (2015).** Soluble ligands and their receptors in human embryo development and implantation. *Endocrine Reviews*, 36(1), 92-130. <https://doi.org/10.1210/er.2014-1046>
- Toole, B. P. (2001).** Hyaluronan in morphogenesis. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 12(2), 79-87. <https://doi.org/10.1006/scdb.2000.0244>
- Torres, A. C., Boruszewska, D., Batista, M., Kowalczyk-Zieba, I., Diniz, P., Sinderewicz, E., Saulnier-Blache, J. S., Woclawek-Potocka, I., & Lopes-da-Costa, L. (2014).** Lysophosphatidic acid signaling in late cleavage and blastocyst stage bovine embryos. *Mediators of Inflammation*, 2014, 678968. <https://doi.org/10.1155/2014/678968>

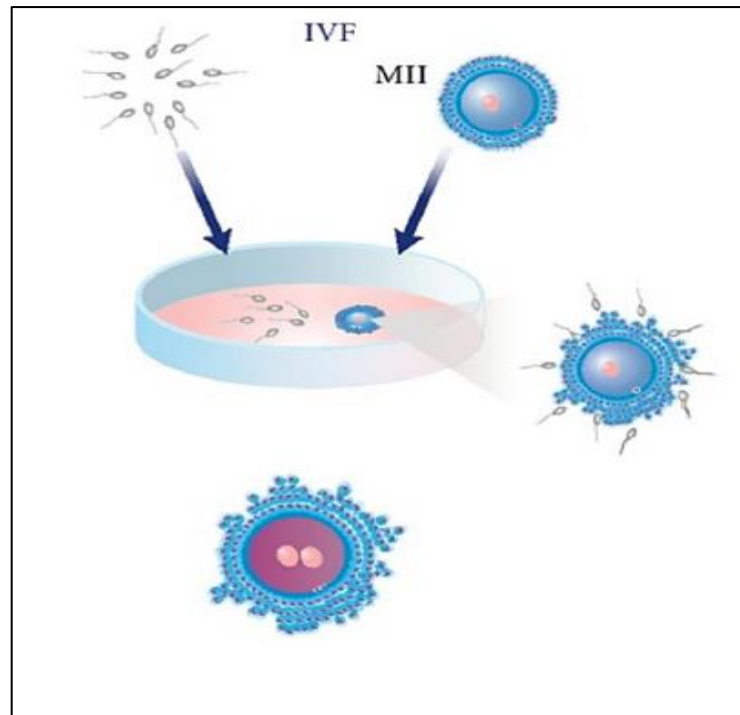
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

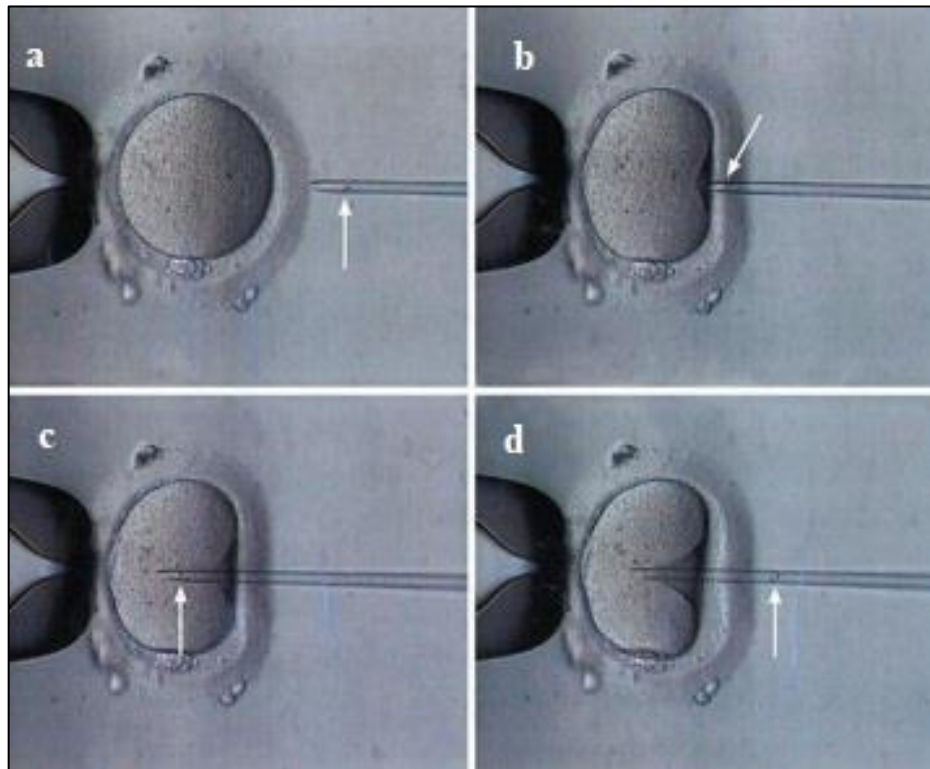
- Urbanski, J. P. i, Johnson, M. T., Craig, D. D., Potter, D. L., Gardner, D. K., & Thorsen, T. (2008).** *Noninvasive metabolic profiling using microfluidics for analysis of single preimplantation embryos.* <https://doi.org/10.1021/ac8010473>
- Valadi, H., Ekström, K., Bossios, A., Sjöstrand, M., Lee, J. J., & Lötvall, J. O. (2007).** Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nature Cell Biology*, 9(6), 654-659. <https://doi.org/10.1038/ncb1596>
- Van Soom, A., Wydooghe, E., Heras, S., & Vandaele, L. (2011).** Alternative models for the study of embryo-maternal cross-talk and signaling molecules from fertilisation to implantation. *Reproduction, Fertility, and Development*, 23(8), iii-v. https://doi.org/10.1071/RDv23n8_FO
- Veselá, J., Reháč, P., Mihalik, J., Czikková, S., Pokorný, J., & Koppel, J. (2003).** Expression of serotonin receptors in mouse oocytes and preimplantation embryos. *Physiological Research*, 52(2), 223-228.
- Viswanathan, S. R., Mermel, C. H., Lu, J., & Lu, C.-W. (2009).** microRNA Expression during Trophectoderm Specification. *PLOS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006143>
- Wale, P. L., & Gardner, D. K. (2010).** Time-lapse analysis of mouse embryo development in oxygen gradients. *Reproductive Biomedicine Online*, 21(3), 402-410. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2010.04.028>
- Wale, P. L., & Gardner, D. K. (2016).** The effects of chemical and physical factors on mammalian embryo culture and their importance for the practice of assisted human reproduction. *Human Reproduction Update*, 22(1), 2-22. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmv034>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Walker, M. H., & Tobler, K. J. (2024).** Female Infertility. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556033/>
- Wang, Y., Wang, F., Sun, T., Trostinskaia, A., Wygle, D., Puscheck, E., & Rappolee, D. A. (2004).** Entire mitogen activated protein kinase (MAPK) pathway is present in preimplantation mouse embryos. *Developmental Dynamics*, 231(1), 72-87. <https://doi.org/10.1002/dvdy.20114>
- Wei-Hua, W., L, M., Rj, H., R, O., & Dl, K. (2002).** Rigorous thermal control during intracytoplasmic sperm injection stabilizes the meiotic spindle and improves fertilization and pregnancy rates. *Fertility and Sterility*, 77(6). [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(02\)03117-5](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(02)03117-5)
- Wydooghe, E., Vandaele, L., Heras, S., De Sutter, P., Deforce, D., Peelman, L., De Schauwer, C., & Van Soom, A. (2017).** Autocrine embryotropins revisited: How do embryos communicate with each other *in vitro* when cultured in groups?: Autocrine embryotropins revisited. *Biological Reviews*, 92(1), 505-520. <https://doi.org/10.1111/brv.12241>
- Yoon, Y., Kim, O. Y., & Gho, Y. (2014).** Extracellular vesicles as emerging intercellular comunicasomes. *BMB Reports*. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2014.47.10.164>
- Zander-Fox, D. L., Mitchell, M., Thompson, J. G., & Lane, M. (2010).** Alterations in mouse embryo intracellular pH by DMO during culture impair implantation and fetal growth. *Reproductive Biomedicine Online*, 21(2), 219-229. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2010.05.001>
- Zegers-Hochschild, F., Adamson, G. D., Dyer, S., Racowsky, C., De Mouzon, J., Sokol, R., Rienzi, L., Sunde, A., Schmidt, L., Cooke, I. D., Simpson, J. L., & Van Der Poel, S. (2017).** The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017. *Fertility and Sterility*, 108(3), 393-406. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.06.005>

ANNEXES

Annexe. 01: L'incubation des spermatozoïdes et de l'ovule dans la FIV.

Annexe. 02: Injection d'un seul spermatozoïde mobile dans le cytoplasme ovocytaire.






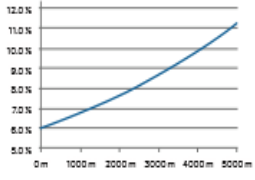

a: Le spermatozoïde est capturé par la micropipette d'injection, qui est alors dirigée vers l'oocyte fixé par une pipette de maintien.

b: La pénétration de zone pellucide

c: La pénétration de membrane vitelline de l'oocyte.

d: L'aspiration de cytoplasme dans la pipette d'injection avant que le spermatozoïde est transmise dans l'oocyte.

Annexe. 03: Fiche technique de: Culture d'embryons G-TL.

<p>Day 0</p> <p> G-TL™</p> <p> OVOIL™</p> <p>Prepare micro-droplet culture dishes with 25 µL droplets of G-TL for washing and for culture. Cover with OVOIL and pre-equilibrate at</p> <p>37°C 6 % CO₂ overnight</p> <p> G-MOPS™ PLUS</p> <p>Warm G-MOPS PLUS (for fertilisation assessment) in rinsed tightly capped tubes in a warming incubator without CO₂* at</p> <p>37°C overnight</p> <p>* An adequately calibrated warming block can be used for tubes instead of a warming incubator.</p> <p>Ensure that the denudation and washing procedures are performed at 37°C</p>	<p>Day 1</p> <p>1. Fertilisation assessment</p> <p>For inseminated oocytes, transfer the oocytes to a centre well dish with pre-warmed G-MOPS PLUS. If denudation and fertilisation assessment can be performed within 2 minutes, G-IVF PLUS can be used instead of G-MOPS PLUS. Remove cumulus and corona cells from oocytes using a denudation pipette and assess fertilisation at</p> <p>37°C </p> <p>For ICSI oocytes, assess fertilisation in the G-TL micro-droplet culture dish.</p> <p>2. Culture</p> <p>Wash the zygotes extensively in the G-TL micro-droplet dishes prepared on Day 0 and transfer the zygotes to 25 µL G-TL culture droplets covered with OVOIL. Culture to the blastocyst stage at</p> <p>37°C 6 % CO₂ </p>	<p>If your clinic is located at a higher altitude than sea level, CO₂ percentage should be increased, see graph below.</p>  <p>We recommend G-MOPS PLUS for washing and assessment of embryos before transfer to G-TL or EmbryoGlue®</p>	<p>Day 5</p> <p>In the morning of day 5</p> <p>Assess embryo cleavage and move the blastocysts selected for transfer to the equilibrated transfer dish and leave at</p> <p>37°C 6 % CO₂ until transfer </p> <p>For blastocyst transfer, see separate Embryo transfer protocol</p>
--	---	--	---

Annexe. 04: La boîte de culture de micro-gouttelettes G-TL.



Annexe. 05: La culture embryonnaire de type individuel.



Annexe. 06: La culture embryonnaire de type groupé.



Année universitaire : 2023-2024

Présenté par : BENNIA Maria

GHANEM Meriem Manar

Est-ce que la culture embryonnaire groupée affecte les résultats de la FIV/ICSI en termes de blastulation, d'implantation et de grossesse ?

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Physiologie Cellulaire et Physiopathologie.

Contexte et objectif : La phase de culture embryonnaire in vitro revêt une importance cruciale dans le cadre des traitements de procréation médicalement assistée pour le succès de la FIV/ICSI. En effet, dès le début de la PMA, les embryologistes optent pour la culture embryonnaire individuelle. Récemment, une stratégie prometteuse pour améliorer les résultats de cette culture a émergé : la culture embryonnaire groupée. Notre étude vise à évaluer l'impact de cette dernière sur le succès de la FIV/ICSI, par rapport à la culture embryonnaire individuelle.

Matériel et méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective et prospective portée sur 180 dossiers de patientes ayant consultés entre 2023 et 2024 au centre de PMA de la clinique IBN ROCHD, Constantine. Parmi les dossiers étudiés, 80 patientes ont fait une culture d'embryons en groupe, tandis que 100 patientes ont fait une culture d'embryons individuelle. Les paramètres étudiés sont : l'âge des patientes, le nombre d'ovocytes recueillis, le nombre d'embryons obtenus, le taux de blastulation, le jour du transfert, le taux de grossesse et le taux d'implantation.

Résultats : Les résultats obtenus montrent que l'âge des femmes, le nombre d'ovocytes recueillis, le nombre d'ovocytes matures ont un impact significatif sur le choix de type de culture avec ($P=0,001$, $P=0,000$, $P=0,000$ respectivement). La sensibilité entre les ovocytes recueillis et les types de culture est de 85 %, et la spécificité est de 79 %, avec une valeur seuil de 8 ovocytes. En revanche, le taux de fécondation n'a pas d'effet sur les types de culture ($P>0,05$).

Dans la culture embryonnaire groupée, nous avons trouvé un taux de blastulation très élevé (40%) chez les patientes âgées de moins de 36 ans. En outre, nous avons constaté que la culture en groupe avait un impact significatif sur le nombre d'embryons obtenus ($P = 0,000$). La sensibilité entre les embryons obtenus et les deux types de culture est de 72 % et la spécificité est de 79 %, avec une valeur seuil de 4 embryons. Nous avons trouvé que la culture embryonnaire de type groupé a un impact significatif sur le choix du jour de transfert ($P = 0,000$), qui dépend du seuil de 5 ovocytes matures ou de 3 embryons. Au-delà de ces valeurs, les embryons atteignent le stade de blastocyste, donc le transfert se fait le cinquième jour. Nous avons constaté que la culture embryonnaire en groupe présentait un effet significatif sur le taux d'implantation ($P = 0,041$) et le taux de grossesse ($P = 0,04$), surtout pour les femmes âgées de moins de 36 ans, avec 2,2 fois plus de chances de grossesse par rapport à la culture individuelle.

Cependant, cette influence significative n'était pas observée sur le taux de segmentation et les embryons transférés ($P > 0,05$), que ce soit dans le cadre d'un transfert d'un, deux ou trois embryons, dans les deux types de culture embryonnaire.

Conclusion : Ce travail permet de démontrer que la culture groupée a un impact sur les résultats de la FIV/ICSI et donne de meilleurs taux de blastulation, d'implantation et de grossesse que la culture individuelle.

Mots-clés : Culture embryonnaire, Culture groupée, Culture individuelle, PMA, FIV, ICSI.

Laboratoires de recherche : Centre de PMA, Clinique Ibn Rochd, Constantine.

Présidente du jury : Pr ROUABAH Leila (Pr- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadrante : Dr OUNIS Leyla (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Co- encadrant : Dr ZOGHMAR. A (MA- Clinique Ibn Rochd- Constantine).

Examinatrice : Dr ZEGHDAR Moufida (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).