

## Faculté de Médecine

Année 2020

Thèse N°

### Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Médecine

Présentée et soutenue publiquement

le 4 septembre 2020

Par Ariane GOUTALAND

Né(e) le 7 mai 1991 à BEAUMONT

### **Comparaison des taux de naissance vivante issue des transferts de blastocystes congelés à J5 versus J6**

Thèse dirigée par Madame le Docteur Anne-Sophie GREMEAU

Examineurs :

Mme. le Professeur Marie Pierre TEISSIER-CLÉMENT.....Présidente du Jury

M. le Professeur Yves AUBARD.....Juge

Mme. le Professeur Florence BRUGNON.....Juge

Mme. le Docteur Anne-Sophie GREMEAU.....Directrice de Thèse

M. le Docteur Pascal PIVER.....Membre invité





## Faculté de Médecine

Année 2020

Thèse N°

### Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Médecine

Présentée et soutenue publiquement

Le 4 septembre 2020

Par Ariane GOUTALAND

Né(e) le 7 mai 1991 à BEAUMONT

### **Comparaison des taux de naissance vivante issue des transferts de blastocystes congelés à J5 versus J6**

Thèse dirigée par Madame le Docteur Anne-Sophie GREMEAU

Examineurs :

Mme. le Professeur Marie Pierre TEISSIER-CLÉMENT.....Présidente du Jury

Mr. le Professeur Yves AUBARD.....Juge

Mme. le Professeur Florence BRUGNON.....Juge

Mme. le Docteur Anne Sophie GREMEAU.....Directrice de Thèse

M. le Docteur Pascal PIVER.....Membre invité



## Professeurs des Universités - praticiens hospitaliers

---

Le 01 octobre 2019

<b>ABOYANS</b> Victor	CARDIOLOGIE
<b>ACHARD</b> Jean-Michel	PHYSIOLOGIE
<b>ALAIN</b> Sophie	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
<b>ARCHAMBEAUD</b> Françoise	MEDECINE INTERNE (Surnombre jusqu'au 31-08-2020)
<b>AUBARD</b> Yves	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
<b>AUBRY</b> Karine	O.R.L.
<b>BEDANE</b> Christophe	DERMATO-VENEREOLOGIE
<b>BERTIN</b> Philippe	THERAPEUTIQUE
<b>BORDESSOULE</b> Dominique	HEMATOLOGIE (Surnombre jusqu'au 31-08-2020)
<b>CAIRE</b> François	NEUROCHIRURGIE
<b>CHARISSOUX</b> Jean-Louis	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE et TRAUMATOLOGIQUE
<b>CLAVERE</b> Pierre	RADIOTHERAPIE
<b>CLEMENT</b> Jean-Pierre	PSYCHIATRIE d'ADULTES
<b>COGNE</b> Michel	IMMUNOLOGIE
<b>CORNU</b> Elisabeth	CHIRURGIE THORACIQUE et CARDIOVASCULAIRE
<b>COURATIER</b> Philippe	NEUROLOGIE
<b>DANTOINE</b> Thierry	GERIATRIE et BIOLOGIE du VIEILLISSEMENT
<b>DARDE</b> Marie-Laure	PARASITOLOGIE et MYCOLOGIE
<b>DAVIET</b> Jean-Christophe	MEDECINE PHYSIQUE et de READAPTATION
<b>DESCAZEAUD</b> Aurélien	UROLOGIE
<b>DES GUETZ</b> Gaëtan	CANCEROLOGIE
<b>DESSPORT</b> Jean-Claude	NUTRITION

<b>DRUET-CABANAC</b> Michel	MEDECINE et SANTE au TRAVAIL
<b>DURAND-FONTANIER</b> Sylvaine	ANATOMIE (CHIRURGIE DIGESTIVE)
<b>ESSIG</b> Marie	NEPHROLOGIE
<b>FAUCHAIS</b> Anne-Laure	MEDECINE INTERNE
<b>FAUCHER</b> Jean-François	MALADIES INFECTIEUSES
<b>FAVREAU</b> Frédéric	BIOCHIMIE et BIOLOGIE MOLECULAIRE
<b>FEUILLARD</b> Jean	HEMATOLOGIE
<b>FOURCADE</b> Laurent	CHIRURGIE INFANTILE
<b>GAUTHIER</b> Tristan	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
<b>GUIGONIS</b> Vincent	PEDIATRIE
<b>JACCARD</b> Arnaud	HEMATOLOGIE
<b>JAUBERTEAU-MARCHAN</b> M. Odile	IMMUNOLOGIE
<b>LABROUSSE</b> François	ANATOMIE et CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES
<b>LACROIX</b> Philippe	MEDECINE VASCULAIRE
<b>LAROCHE</b> Marie-Laure	PHARMACOLOGIE CLINIQUE
<b>LIENHARDT-ROUSSIE</b> Anne	PEDIATRIE
<b>LOUSTAUD-RATTI</b> Véronique	HEPATOLOGIE
<b>LY</b> Kim	MEDECINE INTERNE
<b>MABIT</b> Christian	ANATOMIE
<b>MAGY</b> Laurent	NEUROLOGIE
<b>MARIN</b> Benoît	EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE de la SANTE et PREVENTION
<b>MARQUET</b> Pierre	PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE
<b>MATHONNET</b> Muriel	CHIRURGIE DIGESTIVE
<b>MELLONI</b> Boris	PNEUMOLOGIE
<b>MOHTY</b> Dania	CARDIOLOGIE
<b>MONTEIL</b> Jacques	BIOPHYSIQUE et MEDECINE NUCLEAIRE

<b>MOUNAYER</b> Charbel	RADIOLOGIE et IMAGERIE MEDICALE
<b>NATHAN-DENIZOT</b> Nathalie	ANESTHESIOLOGIE-REANIMATION
<b>NUBUKPO</b> Philippe	ADDICTOLOGIE
<b>OLLIAC</b> Bertrand	PEDOPSYCHIATRIE
<b>PARAF</b> François	MEDECINE LEGALE et DROIT de la SANTE
<b>PLOY</b> Marie-Cécile	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
<b>PREUX</b> Pierre-Marie	EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE de la SANTE et PREVENTION
<b>ROBERT</b> Pierre-Yves	OPHTALMOLOGIE
<b>ROUCHAUD</b> Aymeric	RADIOLOGIE et IMAGERIE MEDICALE
<b>SALLE</b> Jean-Yves	MEDECINE PHYSIQUE et de READAPTATION
<b>SAUTEREAU</b> Denis	GASTRO-ENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE
<b>STURTZ</b> Franck	BIOCHIMIE et BIOLOGIE MOLECULAIRE
<b>TCHALLA</b> Achille	GERIATRIE ET BIOLOGIE DU VIEILLISSEMENT
<b>TEISSIER-CLEMENT</b> Marie-Pierre	ENDOCRINOLOGIE, DIABETE et MALADIES METABOLIQUES
<b>TOURE</b> Fatouma	NEPHROLOGIE
<b>VALLEIX</b> Denis	ANATOMIE
<b>VERGNENEGRE</b> Alain	EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE de la SANTE et PREVENTION
<b>VERGNE-SALLE</b> Pascale	THERAPEUTIQUE
<b>VIGNON</b> Philippe	REANIMATION
<b>VINCENT</b> François	PHYSIOLOGIE
<b>YARDIN</b> Catherine	CYTOLOGIE et HISTOLOGIE

**PROFESSEUR ASSOCIE DES UNIVERSITES A MI-TEMPS DES DISCIPLINES MEDICALES**

<b>BRIE</b> Joël	CHIRURGIE MAXILLO-FACIALE ET STOMATOLOGIE
<b>KARAM</b> Henri-Hani	MEDECINE D'URGENCE

**MOREAU** Stéphane

EPIDEMIOLOGIE CLINIQUE

**MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS**

**AJZENBERG** Daniel

PARASITOLOGIE et MYCOLOGIE

**BALLOUHEY** Quentin

CHIRURGIE INFANTILE

**BARRAUD** Olivier

BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE

**BEN AHMED** Sabrina

CHIRURGIE VASCULAIRE

**BOURTHOUMIEU** Sylvie

CYTOLOGIE et HISTOLOGIE

**BOUTEILLE** Bernard

PARASITOLOGIE et MYCOLOGIE

**COUVE-DEACON** Elodie

BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE

**DUCHESNE** Mathilde

ANATOMIE PATHOLOGIE

**DURAND** Karine

BIOLOGIE CELLULAIRE

**ESCLAIRE** Françoise

BIOLOGIE CELLULAIRE

**HANTZ** Sébastien

BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE

**JACQUES** Jérémie

GASTRO-ENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE

**JESUS** Pierre

NUTRITION

**LE GUYADER** Alexandre

CHIRURGIE THORACIQUE et  
CARDIOVASCULAIRE

**LERAT** Justine

O.R.L.

**LIA** Anne-Sophie

BIOCHIMIE et BIOLOGIE MOLECULAIRE

**RIZZO** David

HEMATOLOGIE

**TERRO** Faraj

BIOLOGIE CELLULAIRE

**WOILLARD** Jean-Baptiste

PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE

**P.R.A.G.**

**GAUTIER** Sylvie

ANGLAIS

**PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE**

**DUMOITIER** Nathalie

(Responsable du département de Médecine  
Générale)

## **MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS DE MEDECINE GENERALE**

<b>HOUDARD</b> Gaëtan	(du 1 <sup>er</sup> septembre 2019 au 31 août 2022)
<b>LAUCHET</b> Nadège	(du 1 <sup>er</sup> septembre 2017 au 31 août 2020)
<b>PAUTOUT-GUILLAUME</b> Marie-Paule	(du 1 <sup>er</sup> septembre 2018 au 31 août 2021)

## **PROFESSEURS EMERITES**

<b>ALDIGIER</b> Jean-Claude	du 01.09.2018 au 31.08.2020
<b>BESSEDE</b> Jean-Pierre	du 01-09-2018 au 31-08-2020
<b>BUCHON</b> Daniel	du 01-09-2019 au 31-08-2021
<b>MERLE</b> Louis	du 01.09.2017 au 31.08.2019
<b>MOREAU</b> Jean-Jacques	du 01-09-2019 au 31-08-2020
<b>TREVES</b> Richard	du 01-09-2019 au 31-08-2021
<b>TUBIANA-MATHIEU</b> Nicole	du 01-09-2018 au 31-08-2020
<b>VALLAT</b> Jean-Michel	du 01.09.2019 au 31.08.2020
<b>VIROT</b> Patrice	du 01.09.2019 au 31.08.2020



## **Assistants Hospitaliers Universitaires – Chefs de Clinique**

---

Le 1<sup>er</sup> novembre 2019

### **ASSISTANTS HOSPITALIERS UNIVERSITAIRES**

<b>AUDITEAU</b> Emilie	EPIDEMIOLOGIE (CEBIMER)
<b>DAURIAT</b> Benjamin	HISTOLOGIE, EMBRIOLOGIE ET CYTOGENETIQUE
<b>DERBAL</b> Sophiane	CHIRURGIE ANATOMIE
<b>DOUCHEZ</b> Marie	ANESTHESIOLOGIE-REANIMATION
<b>DUPONT</b> Marine	HEMATOLOGIE BIOLOGIQUE
<b>DUCHESNE</b> Mathilde	ANATOMIE et CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES
<b>DURIEUX</b> Marie-Fleur	PARASITOLOGIE
<b>GUYOT</b> Anne	LABORATOIRE ANAPATHOLOGIE
<b>HERMINEAUD</b> Bertrand	LABORATOIRE ANAPATHOLOGIE
<b>HUMMEL</b> Marie	ANESTHESIOLOGIE-REANIMATION
<b>LEFEBVRE</b> Cyrielle	ANESTHESIE REANIMATION
<b>PIHAN</b> Franck	ANESTHESIOLOGIE-REANIMATION
<b>RIAHI</b> Edouard	MEDECINE NUCLEAIRE
<b>RIVAILLE</b> Thibaud	CHIRURGIE-ANATOMIE
<b>SANSON</b> Amandine	ANESTHESIE REANIMATION
<b>TCHU HOI NGNO</b> Princia	BIOPHYSIQUE ET MEDECINE NUCLEAIRE

### **CHEFS DE CLINIQUE - ASSISTANTS DES HOPITAUX**

<b>ALBOUYS</b> Jérémie	HEPATO GASTRO ENTEROLOGIE
<b>ARMENDARIZ-BARRIGA</b> Matéo	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE
<b>AUBLANC</b> Mathilde	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
<b>BAÏSSE</b> Arthur	REANIMATION POLYVALENTE
<b>BEEHARRY</b> Adil	CARDIOLOGIE

<b>BLOSSIER</b> Jean-David	CHIRURGIE THORACIQUE et CARDIOVASCULAIRE
<b>BOSETTI</b> Anaïs	GERIATRIE et BIOLOGIE du VIEILLISSEMENT
<b>BRISSET</b> Josselin	MALADIES INFECTIEUSES ET TROPICALES
<b>CHAUVET</b> Romain	CHIRURGIE VASCULAIRE
<b>CISSE</b> Fatou	PSYCHIATRIE
<b>COMPAGNAT</b> Maxence	MEDECINE PHYSIQUE et de READAPTATION
<b>DE POUILLY-LACHATRE</b> Anaïs	RHUMATOLOGIE
<b>DESCHAMPS</b> Nathalie	NEUROLOGIE
<b>DESVAUX</b> Edouard	MEDECINE GERIATRIQUE
<b>DUVAL</b> Marion	NEPHROLOGIE
<b>EL OUAFI</b> Zhou	NEPHROLOGIE
<b>FAURE</b> Bertrand	PSYCHIATRIE d'ADULTES
<b>FAYEMENDY</b> Charlotte	RADIOLOGIE et IMAGERIE MEDICALE
<b>FROGET</b> Rachel	CENTRE D'INVESTIGATION CLINIQUE (pédiatrie)
<b>GEYL</b> Sophie	GASTROENTEROLOGIE
<b>GHANEM</b> Khaled	ORL
<b>GILBERT</b> Guillaume	REANIMATION POLYVALENTE
<b>GUTTIEREZ</b> Blandine	MALADIES INFECTIEUSES
<b>HANGARD</b> Pauline	PEDIATRIE
<b>HARDY</b> Jérémy	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE
<b>HESSAS-EBELY</b> Miassa	GYNECOLOGIE OBSTETRIQUE
<b>KRETZSCHMAR</b> Tristan	PSYCHIATRE d'ADULTES
<b>LACOSTE</b> Marie	MALADIES INFECTIEUSES
<b>LAFON</b> Thomas	MEDECINE d'URGENCE
<b>LAHMADI</b> Sanae	NEUROLOGIE

<b>LALOZE</b> Jérôme	CHIRURGIE PLASTIQUE
<b>LEGROS</b> Maxime	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
<b>LEHMANN</b> Lauriane	GASTROENTEROLOGIE
<b>MAURIANGE TURPIN</b> Gladys	RADIOTHERAPIE
<b>MEUNIER</b> Amélie	ORL
<b>MICLE</b> Liviu-Ionut	CHIRURGIE INFANTILE
<b>MOWENDABEKA</b> Audrey	PEDIATRIE
<b>ORLIAC</b> Hélène	RADIOTHERAPIE
<b>PARREAU</b> Simon	MEDECINE INTERNE ET POLYCLINIQUE
<b>PELETTE</b> Romain	CHIRURGIE UROLOGIE et ANDROLOGIE
<b>PEYRAMAURE</b> Clémentine	ONCOLOGIE MEDICALE
<b>PLAS</b> Camille	MEDECINE INTERNE B
<b>QUILBE</b> Sébastien	OPHTALMOLOGIE
<b>SIMONNEAU</b> Yannick	PNEUMOLOGIE
<b>SURGE</b> Jules	NEUROLOGIE
<b>TRICARD</b> Jérémy	CHIRURGIE THORACIQUE et CARDIOVASCULAIRE MEDECINE VASCULAIRE
<b>VAIDIE</b> Julien	HEMATOLOGIE CLINIQUE
<b>VERLEY</b> Jean-Baptiste	PSYCHIATRIE ENFANT ADOLESCENT
<b>VIDAL</b> Thomas	OPHTALMOLOGIE

### **CHEF DE CLINIQUE – MEDECINE GENERALE**

**BERTRAND** Adeline

**SEVE** Léa

### **PRATICIEN HOSPITALIER UNIVERSITAIRE**

**MATHIEU** Pierre-Alain                      CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE et  
TRAUMATOLOGIQUE

## Remerciements

---

### **A notre Maître et présidente du jury**

Madame, le Professeur TEISSIER-CLÉMENT  
Professeur des Universités de diabétologie, Endocrinologie et Maladies métaboliques  
Responsable de service

*Je vous remercie d'avoir accepté la présidence de cette thèse.*

*Votre enseignement tout au long de mon internat m'a été très précieux. Vous m'avez donné le goût pour l'endocrinologie. Merci pour votre bienveillance et votre soutien. Je vous en suis très reconnaissante. J'espère avoir été à la hauteur du contentement et de la satisfaction que je vous dois.*

*Soyez assurée de ma reconnaissance et de mon profond respect.*

### **A notre Maitre et directrice de Thèse,**

Madame le Docteur GREMEAU  
Médecin des hôpitaux

*Je te remercie d'avoir accepté d'encadrer ce travail. Merci pour ton soutien et ton implication dans cette thèse. Je te remercie également pour ton accueil et l'enseignement que j'ai reçu lors de mon passage dans votre service. J'ai beaucoup appris et t'en suis très reconnaissante.*

*Sois assurée de ma reconnaissance et de mon profond respect.*

### **A notre Maitre et juge,**

Madame le Professeur BRUGNON,  
Professeur des Universités de Biologie et de Médecine du Développement et de la Reproduction  
Responsable de service

*Je vous remercie d'avoir accepté de juger cette thèse.*

*Merci pour votre accueil dans votre service. Cette expérience a été pour moi très enrichissante. Merci également pour vos conseils qui m'ont été précieux.*

*Soyez assurée de ma reconnaissance et de mon profond respect.*

**A notre Maître et juge,**

Monsieur le Professeur AUBARD  
Professeur des Universités de Gynécologie-Obstétrique  
Responsable de service

*Je vous remercie d'avoir accepté de juger cette thèse.*

*Merci pour votre accueil et l'enseignement que j'ai acquis au sein de votre service.*

*Soyez assuré de ma reconnaissance et de mon profond respect.*

**A notre Maître et membre Invité,**

Monsieur le Docteur PIVER  
Médecin des hôpitaux

*Je vous remercie d'avoir accepté de juger cette thèse.*

*Merci pour votre enseignement tout au long de mon internat. J'ai beaucoup aimé travailler dans votre service.*

*Soyez assuré de ma reconnaissance et de mon profond respect.*

## **A ma famille,**

A mes parents, merci d'être toujours là quand j'ai besoin. Merci pour votre soutien et votre accompagnement tout au long de ces études. Merci de m'aider à prendre les bonnes décisions et pour tout ce que vous m'avez transmis. Sans vous je ne serai pas ici. Je vous aime de tout mon cœur.

A ma sœur, Iris et mon frère, Romain, merci de m'avoir accompagnée et soutenue pendant toutes ces années d'études. Vous m'avez beaucoup aidée et avez eu la patience de me supporter à chaque examen (La petite dernière de la fratrie et pas la plus simple).

A mon petit Léo, merci d'avoir ensoleillé mes journées. Tu es mon petit trésor.

A ma cousine Léa (Caro) avec qui j'ai fait les 400 coups, nous avons débuté ces études ensemble. On aura bien rigolé, ça c'était chouette !

A ma tante Hélène, merci pour ton soutien et ta présence tout au long de mes études.

A ma mamie Foufine, chez qui je suis allée tant de fois réviser. Merci pour ta douceur, tu as toujours été aux petits soins avec moi. A mon papy, qui est toujours avec moi en pensées, j'aurais beaucoup aimé que tu sois présent pour ce moment si particulier.

A Mehdi, tu m'accompagnes depuis de nombreuses années. Merci pour ton soutien inconditionnel et tes conseils qui m'ont été si précieux. Merci pour ton oreille attentive, tu as été mon pilier pendant toutes ces années d'étude. J'admire ton courage et ta persévérance. Nous allons pouvoir poursuivre notre chemin ensemble et j'en suis très heureuse.

## **A mes amis de toujours,**

A ma Julie, mon Bebek ! Nous avons grandi ensemble. Depuis la maternelle (ça commence à faire un moment !), nous ne nous sommes jamais lâchées. Tu as toujours été présente pour moi et m'a soutenue dans les bons moments comme dans les difficiles, merci pour tout.

Célia malgré la distance, nous sommes toujours restées très proches, merci pour ton soutien. Laurie, merci pour ta douceur et ta gentillesse. Alexiane, là aussi, malgré les kilomètres nous séparant on ne s'est jamais quittées. Les cours de DES à Paris étaient la bonne excuse pour se retrouver. Merci pour ta présence et ton soutien. Mais aussi Lucile, Marion, Pauline P et Pauline J (nos parties de rigolades à la danse).

## **A mes amis et collègues,**

Parce que l'internat c'est aussi des rencontres.

A mes copines du début, Manon et Soline, avec qui j'ai commencé mon internat. Merci pour ces soirées toutes les trois à refaire le monde. Pour votre soutien, vos conseils et tous ces moments heureux passés ensemble.

A mon deuxième trio, Alix et Manon. Alixou je n'aurais pas pu rêver mieux comme co-interne de promos, comme copine de cours et de DU. Toujours prête à bien manger et à faire du shopping !! On s'est bien trouvée. Manon, mon échographiste préférée !!! Merci pour ton soutien et tes conseils. Nos soirées Handmaid's tale/Bo bun vont beaucoup me manquer.

A mes co-internes de Gynéco med, Léonor, Marine, Yasmine et Odile et ceux de Gynéco-obstétrique, Nadia (le petit soleil de l'HME, merci pour ta bonne humeur et ta gentillesse), Camille S (l'autre petite de la bande, toujours pleine d'humour), Antoine (toujours calme au milieu de toutes ces filles), Camille R, Clémence, Salwa, Flavie, Amaury, Samantha, Maud,

Cécilia et Nathalie (à la fois ma co-interne et ma chef, merci pour ton soutien et ta gentillesse) mais aussi à mes chefs, François, Maxime, Miassa et Mathilde.

A mes co-internes brivistes, France, Hatim et Cécile avec qui j'ai passé un semestre incroyable. Merci pour votre gentillesse et les fous rires partagés. Merci à Hatim pour ta patience lors de nos essais coiffure !

A mes co-internes tullistes, Adèle, Pauline et Camille. Merci Adèle pour ta bienveillance et ta gentillesse, tu as été un vrai rayon de soleil pour moi dans cet internat de Tulle. Pauline, pour ton soutien, nos rigolades et nos supers photos !

A ma Jeannette, la warrior du planning familial que j'ai retrouvée à Tulle. Merci pour nos fous rires avec Maudie.

A mes co-internes Clermontois, Émilie que j'ai retrouvée en revenant faire un semestre dans mon Auvergne natale mais aussi Leïla et Maxime que j'ai rencontrés ensuite. Merci pour ce semestre de folie, remplis de bonbons et de rigolades !

A ceux d'endocrinologie, Maudie ma mum de l'internat, merci pour ton amitié et ton soutien, Cynthia avec qui j'ai fait le tour de France pour les cours de DESC, Camille et Pauline, vous êtes de supers chefs. Merci à mes co-internes actuels, Ysé, Meriem, Ingrid et Thomas. Mais aussi à toute l'équipe d'endocrinologie, Anne, Sophie, Sika, j'ai adoré travailler avec vous, merci pour votre bienveillance et votre gentillesse.

A Aurélie, j'ai tellement appris lors de ce semestre dans ton cabinet. Merci pour ton soutien et tes conseils.

A mes collocs, Chan Ty et Elise qui m'ont supporté pendant toute la rédaction de cette thèse. Merci pour votre réconfort et votre bonne humeur.

A l'équipe de Brive, Madame Cantaloube, Dimitri, Chrystelle, Lamia et Noélie avec qui j'ai passé un super semestre.

A celle de Tulle, Nicolas, François, Etienne, Mr Bouby, Anne-Marie, Cathy et toute l'équipe. Merci pour votre enseignement. François et Cathy vous m'avez donné le goût pour l'échographie, sans vous ce DU ne serait certainement pas validé.

A l'équipe de Gynécologie de Limoges, du rez-de-chaussée au 3<sup>ème</sup> étage. Merci également à tous mes chefs de l'HME.

Au service de PMA, merci à Marie So, Stéphanie, Malvinette, Audrey et Stéphanie avec qui j'aurais bien rigolé, mais aussi Cécile, Béa, Sandy et Anoune. Merci également à Lise-Marie, Jérôme, Régine, Jean-Christophe et Sophie pour votre enseignement.

A l'équipe de Clermont-Ferrand, Camille (et ta bonne humeur, j'étais très contente de pouvoir travailler avec toi), Candice (pour ta patience et ton enseignement), Lydie (pour ta gentillesse), Solène, Laure mais aussi Martine, Florence, Alex et toute l'équipe. J'ai passé un super semestre dans votre service. Merci pour votre accueil !

Et à Bruno Pereira, sans qui les statistiques de cette thèse n'existeraient pas, merci pour votre aide et votre patience.

## Droits d'auteurs

---

Cette création est mise à disposition selon le Contrat :

« **Attribution-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de modification 3.0 France** »

disponible en ligne : <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>





## Table des matières

---

Table des abréviations .....	20
I. Introduction.....	21
I.1. Historique.....	21
I.2. Intérêts du transfert d'embryons congelés .....	21
I.3. Législation relative au transfert d'embryons congelés et nombre d'embryons à transférer .....	22
I.4. Congélation lente <i>versus</i> vitrification .....	23
I.5. La culture embryonnaire : de l'embryon J2/J3 au blastocyste.....	23
I.6. Culture prolongée et blastulation retardée .....	25
II. Matériel et méthode.....	26
II.1. Population étudiée .....	26
II.2. Caractéristiques de la population étudiée .....	26
II.3. Méthode de congélation .....	27
II.4. Préparation endométriale .....	28
II.5. Politique de transfert du centre.....	29
II.6. Objectifs principaux et secondaires.....	30
II.7. Analyse statistique.....	31
III. Résultats .....	32
III.1. Population étudiée .....	32
III.2. Caractéristiques des patients .....	33
III.3. Impact du jour de congélation des blastocystes sur les issues des tentatives et les données néonatales .....	34
III.4. Évaluation de la qualité embryonnaire et du milieu de congélation.....	35
III.5. Impact du mode de préparation endométriale.....	40
III.6. Analyse multivariée.....	41
IV. Discussion.....	43
Conclusion.....	47
Références bibliographiques.....	48
Annexes .....	52
Serment d'Hippocrate.....	58

## Table des illustrations

---

Figure 1. Diagramme de flux d'inclusion des patients.....	32
Figure 2. Taux de naissance vivante dans la population totale (n = 766).....	34
Figure 3. Taux de naissance vivante après exclusion des grossesses en cours (n = 750) ...	34
Figure 4. Taux de naissance vivante chez les blastocystes de bonne qualité.....	38
Figure 5. Taux de naissance vivante chez les blastocystes de qualité moyenne.....	38
Figure 6. Taux de naissance vivante chez les blastocystes de mauvaise qualité.....	39
Figure 7. Développement embryonnaire.....	53
Figure 8. Classification de Gardner et Schoolcraft, 1999. Degré d'expansion du blastocèle.	54
Figure 9. Classification de Gardner et Schoolcraft, 1999. MCI et TE. ....	54
Figure 10. Taux de grossesse clinique des transferts de blastocystes J5 versus J6 selon le type de congélation. (Méta-analyse de Bourdon <i>et al.</i> ).....	57

## Table des tableaux

---

Tableau 1. Description de la population .....	33
Tableau 2. Issues des tentatives.....	35
Tableau 3. Impact de la qualité embryonnaire dans la population totale .....	36
Tableau 4. Comparaison de la qualité embryonnaire et des issues de grossesse .....	37
Tableau 5. Comparaison des issues des tentatives selon le milieu de congélation utilisé ....	39
Tableau 6. Comparaison des issues des tentatives dans le groupe J5, selon le milieu de congélation utilisé.....	40
Tableau 7. Comparaison des issues des tentatives dans le groupe J6, selon le milieu de congélation utilisé.....	40
Tableau 8. Impact du mode de préparation endométriale sur les issues des tentatives .....	41
Tableau 9. Impact du mode de préparation endométriale sur l'épaisseur de l'endomètre (mm) .....	41
Tableau 10. Analyse multivariée sur le taux de naissance vivante .....	42
Tableau 11. Analyse multivariée de la qualité de la MCI et du TE sur le taux de naissance vivante .....	42
Tableau 12. Impact de la qualité embryonnaire dans le groupe J5 .....	55
Tableau 13. Impact de la qualité embryonnaire dans le groupe J6 .....	56

## Table des abréviations

---

FIV : Fécondation in vitro

AMP : Assistance médicale à la procréation

ICSI : Injection intra cytoplasmique de spermatozoïde

DPI : Diagnostic pré implantatoire

SOPK : Syndrome des ovaires polykystiques

SET : Single embryo transfer

TE : Trophectoderme

MCI : Masse cellulaire interne

CHU : Centre hospitalier universitaire

IMC : Indice de masse corporelle

CFA : Compte folliculaire antral

AMH : Hormone anti Mullérienne

FSH : Follicle stimulating hormone

LH : Hormone lutéinisante

GEU : Grossesse extra utérine

FCS : Fausse couche spontanée

T.D.T : Tight difficult transfer

SA : Semaine d'aménorrhée

TEC : Transfert d'embryon congelé

# I. Introduction

---

## I.1. Historique

Depuis la naissance du premier bébé issu de Fécondation in vitro (FIV), Louise Brown, née en 1978, suite au travail de Robert Edward (physiologiste à Cambridge) et de Patrick Steptoe (Gynécologue), les techniques d'Assistance médicale à la procréation (AMP) ont bien évolué. A l'origine, les premières FIV étaient faites sans stimulation hormonale, un seul ovocyte était prélevé et les chances de succès restaient infimes. C'est en 1981 qu'a été imaginé le principe de stimulation hormonale permettant l'obtention de plusieurs ovocytes afin de multiplier les chances de grossesses à partir d'une seule tentative. En 1982, naissait en France, grâce à la FIV, Amandine (issue du travail du professeur René Frydman et du docteur Jacques Testard à l'hôpital Antoine Bécclère de Clamart).

Enfin, cette hyperstimulation ovarienne, recherchée en FIV, a permis l'obtention sur une tentative, de plusieurs embryons. Des techniques de congélations ont donc été développées et ces embryons surnuméraires ont été ensuite transférés. C'est ainsi, qu'en 1984, en Australie, a eu lieu la naissance du premier enfant issu de transfert d'embryons congelés, suite au travail d'Alan Trounson. Elle se prénomme Zoé. L'embryon est transféré au stade de 8 cellules (1,2).

## I.2. Intérêts du transfert d'embryons congelés

Lors d'une tentative de fécondation in vitro, une hyperstimulation ovarienne contrôlée par des gonadotrophines est réalisée de manière à obtenir un certain nombre d'ovocytes matures prêts à être fécondés en laboratoire par FIV ou ICSI (Injection intra cytoplasmique de spermatozoïdes). Cette hyperstimulation a pour but d'obtenir plusieurs embryons afin de sélectionner le ou les plus aptes à s'implanter et à donner une naissance. En l'absence de contre-indication à un transfert, le ou les plus beaux embryons sont transférés à l'issue de la tentative et les embryons dits surnuméraires sont congelés. Ces derniers pourront être transférés ultérieurement.

Cette technique est intéressante car elle nécessite une simple préparation de l'endomètre et est beaucoup moins contraignante pour la patiente. Si la congélation embryonnaire a été historiquement créée pour pallier aux embryons surnuméraires, d'autres indications ont émergé plus récemment, telles que la préservation de la fertilité, bien que l'on préfère, aujourd'hui vitrifier des ovocytes plutôt que des embryons, ou le diagnostic préimplantatoire (DPI), permettant une analyse génétique de l'embryon afin de ne transférer que des embryons sains dans des familles à risques de transmission de maladie génétique d'une particulière gravité. En outre, dans certains cas il n'est pas possible d'effectuer le transfert après la ponction ovarienne. Cela peut concerner les patientes à risque de syndrome d'hyperstimulation ovarienne mais aussi celles dont l'endomètre n'est pas apte à implanter (présence d'un polype intra utérin ou d'une hypertrophie endométriale par exemple). Dans ces cas, tous les embryons issus de la ponction sont congelés et le terme utilisé est « freeze all ».

Ces techniques ont permis de mettre en avant un plus haut taux de naissance vivante pour les transferts d'embryons congelés chez les populations atteintes du syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) avec moins de fausses couches précoces (3).

La congélation embryonnaire a permis de conserver les embryons surnuméraires afin de les transférer ultérieurement. Le but était d'augmenter les chances de grossesses sans risque et d'éviter les grossesses multiples résultant du transfert de plusieurs embryons.

Le transfert d'embryons congelés est donc maintenant une pratique courante, associant une préparation et une synchronisation de l'endomètre au transfert d'un embryon de la meilleure qualité possible. Ceci est possible grâce à un couple clinico-biologique.

Mais c'est au laboratoire que les progrès ont réellement eu lieu ces dernières années, grâce au développement des techniques de culture embryonnaire in vitro et aux techniques de congélation, permettant la culture, la sélection et la congélation des embryons obtenus au stade de blastocyste.

### **I.3. Législation relative au transfert d'embryons congelés et nombre d'embryons à transférer**

La loi française encadre le transfert des embryons congelés.

Selon la loi, l'AMP prend en charge les couples infertiles ou ceux chez qui il existe un risque de transmission d'une maladie très grave à l'enfant. L'homme et la femme formant le couple doivent être vivants, en âge de procréer, et donner leur consentement. L'âge limite de prise en charge pour la femme est de 43 ans contre 59 ans pour l'homme

A propos de la congélation embryonnaire, l'**Article L2141-4** modifié par la loi de bioéthique 2011-814 du 7 juillet 2011 (4) énonce que les deux membres du couple soient consultés chaque année par écrit afin de savoir s'ils maintiennent leur projet parental et la conservation des embryons.

*« S'ils n'ont plus de projet parental ou en cas de décès de l'un d'entre eux, les deux membres d'un couple, ou le membre survivant, peuvent consentir à ce que » :*

- Leurs embryons soient accueillis par un autre couple
- Leurs embryons fassent l'objet de recherche ou à ce que les cellules issues de ceux-ci soient utilisées en thérapie cellulaire à des fins thérapeutiques
- La conservation de leurs embryons soit arrêtée

*« Dans tous les cas, le consentement ou la demande est exprimé par écrit et fait l'objet d'une confirmation par écrit après un délai de réflexion de trois mois. En cas de décès de l'un des membres du couple, le membre survivant ne peut être consulté avant l'expiration d'un délai d'un an à compter du décès, sauf initiative anticipée de sa part. Dans le cas où l'un des deux membres du couple consultés à plusieurs reprises ne répond pas sur le point de savoir s'il maintient ou non son projet parental, il est mis fin à la conservation des embryons si la durée de celle-ci est au moins égale à cinq ans. Il en est de même en cas de désaccord des membres du couple sur le maintien du projet parental ou sur le devenir des embryons. Lorsque les deux membres d'un couple, ou le membre survivant, ont consenti, à l'accueil de leurs embryons et que ceux-ci n'ont pas été accueillis dans un délai de cinq ans à compter du jour où ce consentement a été exprimé par écrit, il est mis fin à la conservation de ces embryons. »*

Actuellement l'objectif est de transférer un seul embryon et d'obtenir une grossesse unique. Cependant, dans certains cas (échecs de plusieurs tentatives, âge de la femme, faible réserve ovarienne), deux embryons pourront être transférés. Cette décision se fait en accord avec les biologistes et les gynécologues du centre.

En effet, pour une population sélectionnée (sur l'âge, le nombre de tentatives effectuées, la qualité des embryons obtenus), une stratégie de SET (Single Embryo Transfer) diminue les taux de grossesse gémellaire sans réduire ni les taux de grossesse en cours ni ceux d'accouchement (5).

#### **I.4. Congélation lente *versus* vitrification**

Concernant la congélation embryonnaire, là aussi de nombreux progrès ont été faits. Avant, les embryons étaient congelés selon une technique de congélation lente. Depuis 2011 en France, est principalement utilisée la vitrification.

La cryoconservation que ce soit la congélation lente ou la vitrification permet la suspension de toute activité biologique à des températures allant jusqu'à -196°C (température de l'azote liquide). Toute sa problématique est d'atteindre et de revenir de ces températures sans dommage. Il faut ainsi éviter la formation de cristaux et la déshydratation responsable de lésions mécaniques et d'un effet solution qui pourrait dénaturer les molécules et induire une mort cellulaire.

La congélation lente utilise de très faibles concentrations en cryoprotecteurs et un refroidissement très progressif (0.3° par minute) jusqu'à une température de -30°C.

La vitrification quant à elle permet un passage direct de l'état liquide à un état amorphe sans formation de cristaux grâce à l'utilisation de très hautes quantités de cryoprotecteurs.

Le réchauffement est une étape cruciale, s'il est trop lent cela se traduira par la formation de cristaux de glace. Il est donc rapide et utilise une forte concentration de sucrose pour limiter la formation de cristaux intracellulaires et maintenir l'eau dans le secteur extracellulaire (6).

Au fil du temps la vitrification paraît être la méthode de référence et prouve petit à petit sa supériorité vis-à-vis de la congélation lente (7). En effet il apparaît de meilleurs résultats en termes de grossesse, de naissance vivante mais également de survie à la décongélation avec la méthode de vitrification des blastocystes. Cela concerne également les ovocytes pour lesquels les résultats cliniques sont supérieurs en vitrification comparé à la congélation lente (que ce soit en termes de grossesse ou de naissance vivante) (8–10). Les résultats seraient même pour certaines équipes équivalents voire supérieurs aux transferts d'embryons frais (11).

#### **I.5. La culture embryonnaire : de l'embryon J2/J3 au blastocyste**

Concernant la culture embryonnaire, les embryons peuvent être transférés ou congelés à un stade précoce (J2-J3) ou à un stade tardif, le stade de blastocyste, après une culture dite prolongée (J5-J6). Les taux de naissance vivante et de grossesse clinique par transfert de blastocyste frais sont significativement plus élevés par rapport aux transferts d'embryons à J2/J3 (12).

Les taux d'implantation résultant des transferts de blastocystes ont largement augmenté en comparaison à ceux d'embryons J2-J3, permettant le transfert de moins d'embryons (13).

De même il a été retrouvé de meilleurs taux cumulés de naissance vivante par ponction d'ovocytes lors des transferts de blastocystes en comparaison aux transferts d'embryons J2/J3 (14).

L'embryon est étudié ainsi : après la fécondation de l'ovocyte par le spermatozoïde, la première observation se fait au jour n°1, entre 16 et 18h, elle permet de voir s'il y a eu émission du 2<sup>ème</sup> globule polaire dans l'espace péri vitellin et la présence de 2 pronucléi confirmant la fécondation et la formation d'un zygote. La fécondation est dite anormale si le nombre de pronucléi est supérieur à 2 ou s'il n'y en a qu'un (activation du génome sans le concours du spermatozoïde).

La deuxième observation se fait au jour n°1, à 24h et permet de visualiser s'il y a eu ou non un clivage précoce, défini par présence d'une première division cellulaire avant la 25<sup>ème</sup> heure.

La troisième observation se fait à J2, l'embryon est au stade de 2 à 4 cellules. Une classification morphologique de ces embryons est alors définie. Les embryons peuvent être transférés s'ils sont de bonne qualité ou placés en culture prolongée selon la décision des biologistes et les habitudes du centre.

Les critères morphologiques des embryons sont les suivants :

- Le nombre de cellules, par exemple 2 pour 2 cellules ou 4 pour 4 cellules
- La forme typique, « T » (mêmes formes et tailles des cellules) ou atypique, « AT » (formes et tailles différentes des cellules)
- Le pourcentage de fragmentation par rapport au volume total de l'embryon
- Le score de nucléation

Ces éléments servent à établir une classification permettant de sélectionner l'embryon à transférer en cas de transfert à J2.

A J3 il est au stade de 4 à 8 cellules (blastomères).

A J4, il est au stade de morula (supérieur à 16 cellules), aucune classification ne peut être établie.

On parle de culture prolongée lorsque les embryons sont cultivés jusqu'au stade de blastocyste. A J5, le blastocyste correspond à la création d'une cavité, le blastocèle (B) qui est entourée par le trophoctoderme (TE) et contient la masse cellulaire interne (MCI). Les embryons sont ensuite évalués selon la classification de Gardner et Schoolcraft (13) et transférés du stade 3 au stade 6 (expansé ou éclos). La classification qualifie l'expansion du blastocèle. Les stades 1 et 2 correspondent à une cavité non expansée. Le blastocyste est dit expansé à partir du stade 3. Ce score qualifie également la qualité du TE et de la MCI en analysant la cohésion et le nombre de cellules les constituant. Plus un blastocyste est de haut grade morphologiquement pour ces 3 paramètres et meilleures sont ses chances de s'implanter (15,16).

Les images correspondant au développement embryonnaire sont présentées dans la figure 7 en annexe 1. Celles correspondant à la classification de Gardner et Schoolcraft sont présentées dans les figures 8 et 9 en annexe 2.

Ces dernières années, le développement des embryoscopes (Time lapse) a permis une meilleure évaluation des embryons, par la prise constante de photos de ces derniers sans altérer les conditions de culture. Ainsi, l'évaluation se fait de l'intérieur et il n'est pas nécessaire



d'extraire l'embryon de son milieu à chaque observation, limitant ainsi l'exposition des embryons aux changements de composition, de température et de mouvement des gaz (17).

Dans notre centre, les temps d'examen sont à J1 : H14-H16 et H24, J2, J3, J4, J5 et parfois J6. Diverses études ont examiné les temps d'analyse importants, permettant de différencier plusieurs embryons et d'anticiper leurs prédispositions à s'implanter ou non (18). Ces paramètres morpho cinétiques permettent de prendre des décisions appropriées concernant la poursuite de la culture, le transfert ou encore la congélation embryonnaire (19).

Les embryoscopes ont également permis d'associer à la qualité embryonnaire la notion de clivage précoce, défini par la présence d'une première division cellulaire avant la 25<sup>ème</sup> heure, qui aurait un effet bénéfique sur les taux de grossesse obtenus (20).

### **I.6. Culture prolongée et blastulation retardée**

Enfin et c'est ce qui nous intéresse ici, il est observé chez certains embryons un retard de développement. Ainsi, il arrive que ce dernier ne soit observé au stade de Morula qu'à J5 et de ce fait, au stade de blastocyste à J6. Ces embryons seront alors évalués avec la même classification de Gardner et Schoolcraft et selon leur qualité, transférés ou congelés à J6.

Certaines études ont retrouvé des résultats supérieurs en termes de grossesse et d'implantation selon que l'embryon était transféré frais à J5 plutôt que J6 (21).

Concernant les embryons congelés, les résultats seraient également plutôt en faveur de J5 (22).

**L'objectif principal de ce travail est d'évaluer les résultats en termes de naissance vivante, des embryons congelés, transférés à J5 versus J6.**

**Les objectifs secondaires sont d'analyser ces résultats également en fonction :**

- **De la qualité embryonnaire au moment de la congélation, selon les stades de Gardner et Schoolcraft, permettant d'établir un catalogue des embryons les plus aptes à donner un enfant vivant.**
- **Du type de préparation endométriale**

**Enfin, les données néonatales de chaque enfant sont également relevées de manière à s'assurer de la sureté de ces techniques.**

## II. Matériel et méthode

---

Nous avons réalisé une étude rétrospective, monocentrique, au sein du centre de Procréation Médicale Assistée du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Clermont-Ferrand, incluant les transferts d'embryons congelés au stade de blastocyste effectués de janvier 2018 à décembre 2019.

Deux groupes de patients ont été comparés selon le jour de congélation des blastocystes : ceux congelés à J5 *versus* ceux congelés à J6.

### II.1. Population étudiée

Durant cette période 1085 embryons congelés ont été transférés, parmi lesquels 997 étaient des blastocystes. Ils provenaient d'embryons surnuméraires congelés soit après un transfert frais d'embryon au stade J2/J3 ou de blastocyste, soit après « freeze all ».

Ont été incluses dans cette étude, les tentatives concernant les transferts uniques d'embryons congelés au stade de blastocyste, afin de pouvoir étudier la capacité implantatoire propre à chaque embryon, en fonction de sa qualité.

Les critères de prise en charge dans les centres de Procréation Médicale Assistée étant soumis à la législation française, notre étude concerne des embryons issus de femmes majeures, âgées de moins de 43 ans.

Ont été exclus de notre étude :

- Les accueils d'embryons
- Les embryons issus de dons d'ovocytes
- Les transferts d'embryons multiples
- Les embryons congelés par congélation lente

De plus, 2 embryons ont été exclus car les critères de congélation ne répondaient pas à ceux utilisés actuellement dans le centre et 2 autres ont également été exclus par manque de données.

Au total, 766 transferts d'embryons au stade de blastocystes ont donc été inclus dans notre étude.

### II.2. Caractéristiques de la population étudiée

Les données ont été recueillies à partir du dossier clinico-biologique de chaque couple de patients et du logiciel JFIV, utilisé dans le service d'AMP du CHU de Clermont-Ferrand.

Chaque embryon correspondait à une tentative donnée, appartenant à un couple précis.

Pour chaque patiente ont été recueillis : l'âge au moment du transfert, le poids, la taille, l'IMC (Indice de masse corporelle), la présence d'un tabagisme, le taux de FSH à J3 et le bilan de réserve ovarienne comprenant le taux d'Hormone Anti-Mullérienne (AMH) et le compte des follicules antraux (CFA).

De plus, pour chaque couple bénéficiant d'un transfert de blastocyste congelé, nous avons recueilli l'origine de l'infertilité qui a été répertoriée comme telle :

- Infertilité de type ovulatoire incluant les SOPK, les aménorrhées hypothalamo-hypophysaires, les hyperprolactinémies et les dysovulations.
- Infertilité de type ovulatoire due à une diminution de la réserve ovarienne.
- Infertilité de type masculine incluant les anomalies au spermogramme et les dons de spermatozoïdes.
- Infertilité de type tubaire, qu'elle soit relative ou totale.
- Infertilité liée à la présence d'une endométriose.
- Infertilité liée à une anomalie utérine incluant la présence de myomes ou fibromes, de polypes, de malformations utérines, notamment les utérus distilbènes, d'hyperplasie de l'endomètre.
- Infertilité d'une autre origine incluant les étiologies sexologiques, les anomalies génétiques, les cancers ou les malformations non utérines.
- Infertilité idiopathique.

### **II.3. Méthode de congélation**

Tous les embryons de ce travail étaient issus d'une FIV conventionnelle ou d'une ICSI. Les blastocystes ont été congelés à partir du stade B3 de la classification de Gardner et Schoolcraft, chez des embryons ayant été vus normalement fécondés (zygote à 2PN et GP2).

Au CHU de Clermont-Ferrand, la méthode de vitrification est pratiquée quotidiennement depuis 2011.

Jusqu'en 2017, la culture était en milieux séquentiels avec changement de milieu au 3<sup>ème</sup> jour de fécondation. Depuis janvier 2018, les embryons sont mis en culture dans un milieu de culture unique, standardisé (G-TL<sup>TM</sup>, Vitrolife) au sein d'incubateur à 37°C, 6% CO<sub>2</sub>, 6% O<sub>2</sub> et à l'abri de la lumière. Concernant les milieux de congélation, avant 2018 était utilisé du Rapid Vit Blast<sup>TM</sup>, Vitrolife (le milieu de réchauffement correspondant était le Rapid Warm Blast<sup>TM</sup>), après 2018, le milieu de congélation était le Rapid Vit Omni<sup>TM</sup>, Vitrolife (le milieu de réchauffement correspondant était le Rapid Warm Omni<sup>TM</sup>).

Toutes les manipulations ont été faites sous hotte à flux laminaire verticale à régulation thermostatée, en utilisant du matériel stérile à usage unique. Le contrôle de l'identité vigilance était respecté à chaque étape. Les embryons ont été vitrifiés dans des paillettes haute sécurité de type Rapid I<sup>TM</sup> (Vitrolife), système fermé de vitrification.

L'embryon à vitrifier était transféré successivement, selon les recommandations des fournisseurs, dans 4 puits de solution Rapid Vit Omni<sup>TM</sup>, Vitrolife (ou Rapid Vit Blast<sup>TM</sup>) contenant des concentrations croissantes de cryoprotecteurs à l'aide d'une pipette de 20 microlitres. Enfin, grâce à une pipette swemed ou ez-grip l'embryon était déposé dans le trou de la paillette du dispositif Rapid I<sup>TM</sup> sous contrôle d'une loupe binoculaire. Par la suite, le dispositif Rapid I<sup>TM</sup> était lui-même placé immédiatement dans la paillette, en attente dans la cuve d'azote liquide de la smart box, pour une descente en température ultra rapide.

Enfin, à l'aide d'une soudeuse à ultrason, l'extrémité de la paillette était soudée après vérification de l'identitévigilance. Les paillettes étaient alors transférées dans un visotube d'azote liquide puis stockées dans une cuve dédiée.

La veille du transfert, l'embryon ayant le meilleur grade, conformément à la classification de Gardner et Schoolcraft, était sélectionné par les biologistes et le milieu de culture G-TL™ était préparé.

L'embryon à réchauffer était transféré successivement, selon les recommandations des fournisseurs dans 4 puits de solution Rapid Warm Omni™, Vitrolife, (ou Rapid Warm Blast™) préalablement incubé 30 minutes à l'étuve sèche, à 37°C et contenant des concentrations décroissantes de cryoprotecteurs.

Ainsi réchauffé il était rincé et mis en culture dans le milieu G-TL™.

Une réévaluation du grade embryonnaire était faite avant le transfert, permettant d'évaluer la survie du blastocyste et sa réexpansion suite à l'étape de vitrification/réchauffement.

Dans notre étude, 11 blastocystes ont été congelés selon les principes de congélation lente utilisée auparavant dans le centre, ils appartenaient à 4 couples différents. Parmi ces 11 embryons, 7 ont été congelés non expansés (correspondant au grade 1 ou 2 de la classification de Gardner et Schoolcraft). Nous avons donc décidé de les exclure.

La congélation lente a pour principe une diminution lente des températures, par automates, comportant 3 phases distinctes jusqu'à une température de -196°C, afin de contrôler la formation des cristaux. C'est une méthode semi automatisée, un seeding manuel intervenant autour de -6, -7°C, en fonction des protocoles, et permettant une induction uniforme de la cristallisation des cellules. Elle utilise de moins fortes concentrations en cryoprotecteurs que la vitrification.

#### **II.4. Préparation endométriale**

Concernant la préparation endométriale, cette dernière a été choisie en fonction des habitudes de notre centre et des caractéristiques de chaque patiente. Trois schémas de traitements étaient possibles : cycle artificiel, cycle stimulé ou cycle semi-naturel.

Le cycle artificiel est la méthode de stimulation de 1<sup>ère</sup> intention pour les transferts d'embryons congelés au CHU de Clermont-Ferrand. Il est en effet moins contraignant pour les patientes et évite une stimulation ovarienne.

Chaque patiente débutait par l'administration d'œstrogènes per os (OROMONE® 2mg) le 2<sup>ème</sup> jour des règles, à la posologie de 2 comprimés par jour jusqu'au 7<sup>ème</sup> jour inclus puis la dose était augmentée à 3 comprimés par jour pendant 7 jours, répartis de manière homogène.

Le premier contrôle échographique avait lieu au 14<sup>ème</sup> jour du cycle. Il permettait de visualiser l'aspect de l'endomètre mais également son épaisseur. Dès que ce dernier atteignait 7-8 mm, la patiente débutait la progestérone (PROGESTAN® 200 mg à raison de 3 ovules par jour répartis de manière homogène).

Les transferts des blastocystes congelés à J5 ou J6 étaient effectués au 5<sup>ème</sup> jour de prise de progestérone. Le but étant de resynchroniser l'embryon avec l'endomètre.

Les patientes poursuivaient ensuite leur traitement (OROMONE® + PROGESTAN®) jusqu'à la prise de sang (dosage des BHCG) qui était effectuée 9 à 10 jours après le transfert. Si la grossesse était confirmée, les patientes continuaient le traitement jusqu'à l'échographie du 1<sup>er</sup> trimestre de grossesse (environ 12 semaines d'aménorrhée).

Pour les patientes n'ayant pas ou peu répondu au cycle artificiel, une stimulation hormonale était alors proposée lors des transferts d'embryons congelés ultérieurs.

Le cycle stimulé consistait en une stimulation légère par Gonadotrophines, débutée au 8<sup>ème</sup> jour du cycle (FSH recombinante de type BEMFOLA<sup>®</sup> ou GONAL F<sup>®</sup>). La surveillance échographique commençait au 10<sup>ème</sup> jour des règles et avait pour but de surveiller la croissance d'au moins un follicule et celle de l'endomètre ainsi que son aspect. Dans certains cas (chez les patientes ayant une ovulation précoce), un antagoniste de la GnRH (FYREMADEL<sup>®</sup>) pouvait être rajouté à partir du moment où un follicule commençait à être recruté (soit à partir de 13 mm de diamètre).

Dès lors que l'endomètre avait un bel aspect, dit en triple feuillet, avec une épaisseur de 7-8mm et qu'il existait au moins 1 follicule de 17 mm, un déclenchement par HCG (OVITRELLE<sup>®</sup>) était prescrit le soir de l'échographie. Un bilan hormonal pouvait être ajouté lors de la surveillance afin d'apporter un argument supplémentaire à la décision de déclenchement (dosage de la LH, de l'œstradiol et de la progestérone), mais il n'était pas systématique.

Le transfert d'un blastocyste J5 ou J6 avait lieu 7 jours après le déclenchement.

Enfin pour les patientes ayant une contre-indication absolue ou relative à la stimulation hormonale (cancers hormonaux dépendant) ou dont l'indication d'AMP était strictement masculine, un cycle semi naturel pouvait leur être proposé.

Il consistait en un monitoring de l'ovulation avec une surveillance échographique et parfois un bilan hormonal associé (comprenant le dosage de la LH, de l'œstradiol et de la progestérone).

Pour ces patientes, l'ovulation était déclenchée à l'aide d'HCG (OVITRELLE<sup>®</sup>).

Le transfert d'un blastocyste J5 ou J6 avait lieu 7 jours après le déclenchement.

Dans ces deux protocoles, du fait du déclenchement de l'ovulation par HCG, il n'était pas mis en place de soutien de la phase lutéale par progestérone.

Pour chacune des patientes, si le premier taux de BHCG était positif, un deuxième était effectué 48h après afin d'évaluer la cinétique des BHCG. Cela définissait la grossesse biochimique. Si ce taux doublait en 48h, une échographie de datation était prévue entre 7 et 8 semaines d'aménorrhée. La grossesse clinique, encore appelée grossesse évolutive, était définie par la présence d'un sac gestationnel intra utérin comportant un embryon avec une activité cardiaque à l'échographie.

## **II.5. Politique de transfert du centre**

Dans le centre d'AMP du CHU de Clermont-Ferrand, les embryons transférés à J2 doivent avoir une cinétique de développement normale, soit un zygote normalement fécondé à J1 et au moins 4 blastomères typiques avec moins de 30% de fragmentation. Chez toutes les patientes, si plus de 4 TOP embryons sont obtenus, tous sont systématiquement mis en culture prolongée jusqu'au J5. Depuis 2019, chez les patientes jeunes (moins de 35 ans), lors des premières tentatives, tous les embryons sont poussés jusqu'au J5, à partir d'un seul TOP embryon à J2.

Ainsi, les embryons surnuméraires sont placés en culture prolongée jusqu'au J5 ou J6 et sont congelés au stade de blastocyste. En cas de « freeze all » (par exemple, lors d'une hyperstimulation ovarienne ou d'anomalies endométriales), tous les embryons sont également poussés jusqu'au J5.

## II.6. Objectifs principaux et secondaires

L'objectif principal de cette étude est de comparer le taux de naissance vivante, défini par l'accouchement d'un ou plusieurs enfants vivants issus des transferts d'embryons congelés à J5 *versus* J6.

Les objectifs secondaires sont les suivants.

Concernant les issues des tentatives, nous avons comparé pour les blastocystes congelés à J5 *versus* J6 :

- Les taux de grossesse biochimique (BHCG positifs).
- Les taux de grossesse clinique ou encore grossesse dite évolutive (présence d'un embryon avec activité cardiaque).
- Les taux de fausse couche précoce, étant définie par la perte d'une grossesse avant 14 semaines d'aménorrhée.
- Les taux de grossesse extra utérine (GEU).
- Le nombre de fausses couches tardives correspondant à la perte d'une grossesse après 14 semaines d'aménorrhée.

Concernant les embryons, nous avons comparé :

- Les qualités embryonnaires des Blastocystes congelés à J5 *versus* ceux congelés à J6 (incluant d'une part l'expansion du blastocèle et d'autre part l'aspect de la MCI et du TE conformément à la classification de Gardner et Schoolcraft) et leur impact sur les issues des tentatives. Cela afin d'évaluer plus précisément l'intérêt des embryons de qualité médiocre.
  - o Les embryons de bonne qualité étaient définis par un couple MCI/TE de grade AA, AB, BA ou BB.
  - o Ceux de qualité moyenne étaient définis par un couple MCI/TE de grade AC, CA, BC ou CB.
  - o Enfin les embryons de mauvaise qualité correspondaient aux blastocystes CC.
- La présence d'un clivage précoce et son impact sur les résultats en termes de grossesse biochimique et de naissance vivante.
- L'effet du milieu de congélation (Rapid vit Blast<sup>TM</sup> *versus* Rapid Vit Omni<sup>TM</sup>) sur les résultats en termes de grossesse biochimique, naissance vivante et fausse couche précoce.

Concernant la préparation endométriale, nous avons analysé :

- L'impact des traitements (artificiel *versus* stimulé *versus* semi-naturel) sur l'endomètre (moyenne de l'épaisseur de l'endomètre).
- L'impact des traitements sur les résultats en termes de grossesse biochimique, de naissance vivante et de fausse couche précoce.

Concernant les résultats néonataux, nous avons décidé de comparer la moyenne des poids et tailles des enfants à la naissance issus des transferts d'embryons congelés à J5 *versus*

ceux congelés à J6, ainsi que le sexe de chacun. De plus nous avons également comparé les modes d'accouchements (voie basse spontanée ou après extraction et césarienne) et les termes.

## **II.7. Analyse statistique**

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel Stata (version 15, Stata Corporation, College Station, USA) pour un risque de première espèce bilatéral de 5%. Les variables quantitatives sont décrites, au regard de leur distribution statistique, par la moyenne et écart-type ou la médiane et intervalle interquartile. La normalité (distribution Gaussienne) a été étudiée par le test de Shapiro-Wilk. Concernant les données répétées (plusieurs données pour une même patiente, i.e. pour l'individu statistique blastocyste), les analyses statistiques ont considéré des modèles mixtes permettant d'effectuer les différentes comparaisons, notamment selon vitrification à J5 ou J6, tout en modélisant la variabilité inter et intra patiente. Ces mêmes modèles ont été mis en œuvre pour les analyses multivariées proposées afin de comparer les résultats en termes d'issue selon le jour de congélation, en ajustant sur les possibles facteurs confondants retenus au regard des résultats d'analyse univariée et de leur pertinence clinique. Pour les comparaisons pour lesquelles l'individu statistique est la patiente, le recours aux tests statistiques suivants a été proposé : 1) pour les variables quantitatives : ANOVA ou test de Kruskal-Wallis si les conditions de l'ANOVA n'étaient pas respectées (homoscédasticité étudiée par le test de Bartlett), et 2) pour les variables catégorielles : test du Chi2 ou test exact de Fisher. Des analyses de sensibilité ont été réalisées notamment en retirant des analyses les grossesses en cours.

### III. Résultats

#### III.1. Population étudiée

Le flowchart de l'étude est détaillé dans la figure 1.

Durant la période étudiée, de janvier 2018 à décembre 2019, 1164 embryons congelés ont été choisis pour être transférés au sein du centre d'AMP du CHU de Clermont-Ferrand. Parmi eux, 105 ont été transférés au stade J2/J3. 1059 blastocystes ont alors été retenus. 62 n'ont pas survécu à la décongélation. Nous avons exclu 14 blastocystes issus d'accueil d'embryons, 36 issus de dons d'ovocytes et 166 blastocystes transférés par 2. De plus nous avons également écarté 11 blastocystes ayant été congelés par congélation lente, 2 ne répondant plus aux critères de congélation actuels et 2 pour lesquels des données manquaient.

Nous avons donc étudié 766 transferts uniques de blastocystes congelés. 198 blastocystes appartenant au groupe J6 et 568 appartenant au groupe J5.

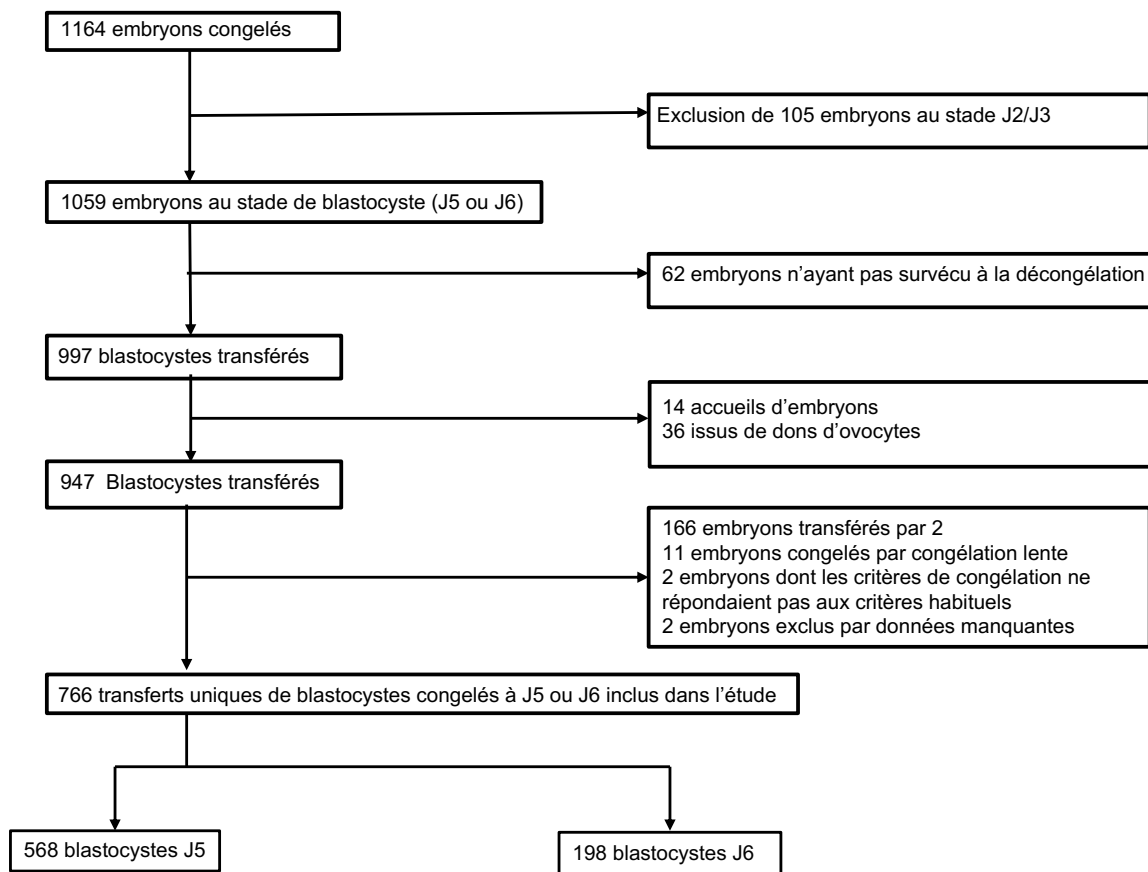


Figure 1. Diagramme de flux d'inclusion des patients



### III.2. Caractéristiques des patients

Les caractéristiques des patients sont présentées dans le tableau 1.

Nous n'avons pas observé de différence significative concernant l'âge au moment du transfert, la moyenne des IMC, la présence d'un tabagisme actif, le CFA et le taux d'AMH de chaque patiente entre les 2 groupes comparés.

A propos des causes d'infertilité des couples, il n'a pas été retrouvé de différence significative pour les infertilités ovulatoires dues à une baisse de la réserve ovarienne, celles liées à la présence d'endométriose, celles d'origine tubaire, celles liées à une anomalie de la cavité utérine, celles d'origine masculine, celles dues à une autre étiologie et pour les infertilités idiopathiques. Cependant, nous avons retrouvé plus d'infertilités ovulatoires (dues à un SOPK) dans le groupe J5.

Il n'y avait pas de différence significative concernant la durée d'infertilité, le mode de préparation endométriale et l'épaisseur de l'endomètre avant transfert. Il n'y en avait pas non plus pour le type de cathéter utilisé lors du transfert.

Tableau 1. Description de la population

<b>Données relatives aux femmes</b>			
	<b>Blastocystes vitrifiés à J5 (n = 379)</b>	<b>Blastocystes vitrifiés à J6 (n = 157)</b>	<b>p</b>
Age (en années)	33,15 +/- 4,55	33,8 +/- 4,29	ns
IMC (en kg/m <sup>2</sup> )	24,43 +/- 5,43	24,18 +/- 5,85	ns
Tabac	99 (27,5%)	48 (33,33%)	ns
CFA	23,75 +/- 13,4	21,42 +/- 12,3	ns
AMH (en ng/mL)	3,96 +/- 3,98	3,93 +/- 4,1	ns
<b>Données relatives aux couples</b>			
Infertilité ovulatoire	99 (26,12%)	28 (17,83%)	<b>0,04</b>
Infertilité ovulatoire liée à la réserve ovarienne	17 (4,49%)	5 (3,18%)	ns
Endométriose	94 (24,8%)	38 (24,2%)	ns
Tubaire	117 (30,87%)	45 (28,66%)	ns
Anomalie utérine	49 (12,93%)	18 (11,46%)	ns
Infertilité masculine	174 (45,91%)	86 (54,78%)	ns
Autre	11 (2,9%)	6 (3,82%)	ns
Idiopathique	27 (7,12%)	11 (7,01%)	ns
Durée infertilité (années)	5,68 +/- 3	5,8 +/- 2,77	ns
<b>Données relatives aux tentatives</b>			
Cycle artificiel	505 (88,91%)	175 (88,38%)	ns
Cycle stimulé	55 (9,68%)	21 (10,61%)	ns
Cycle semi-naturel	8 (1,41%)	2 (1,01%)	ns
Taille de l'endomètre (mm)	9,19 +/- 1,81	9,33 +/- 1,73	ns
Cathéter Frydman	164 (28,87%)	58 (29,29%)	ns
Cathéter T.D.T	404 (71,13%)	140 (70,71%)	ns

Les résultats sont décrits en moyenne (+/- écart-type) ou en pourcentage.  $p < 0,05$  a été choisi comme seuil de significativité, ns = non significatif.

### III.3. Impact du jour de congélation des blastocystes sur les issues des tentatives et les données néonatales

Le taux de naissance vivante était significativement plus élevé dans le groupe J5 comparé au groupe J6 (16,55% *versus* 7,58%, avec  $p = 0,004$ ). L'analyse de sensibilité excluant les 16 grossesses actuellement en cours et considérées comme naissances vivantes a également confirmé cette supériorité (14,44% *versus* 6,63% avec  $p = 0,009$ ). (Figures 2 et 3).

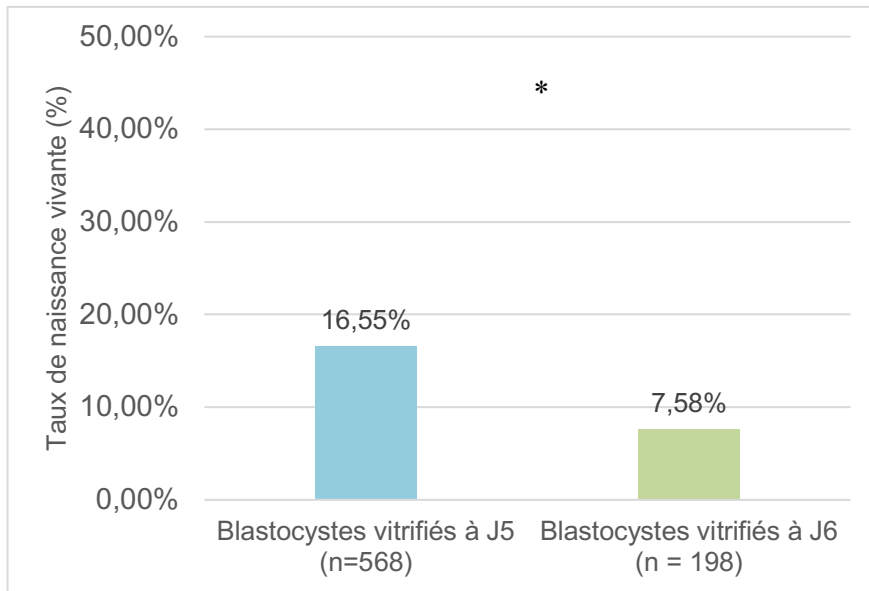


Figure 2. Taux de naissance vivante dans la population totale (n = 766)

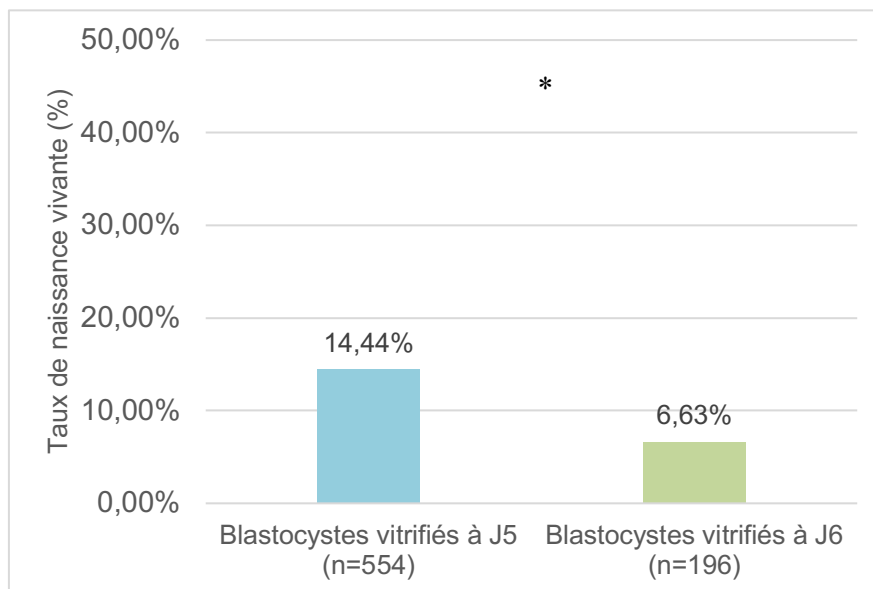


Figure 3. Taux de naissance vivante après exclusion des grossesses en cours (n = 750)

Concernant le taux de grossesse biochimique, il est là encore significativement supérieur dans le groupe J5 comparé au groupe J6 (24,82% *versus* 12,12% avec  $p < 0,001$ ). Le taux de grossesse clinique définie dans notre étude comme grossesse évolutive (présence d'un embryon avec activité cardiaque) était lui aussi significativement plus élevé dans le groupe J5

comparé au groupe J6 (16,9% versus 7,58% avec  $p = 0,001$ ). Il diffère peu du taux de naissance vivante car seulement 2 fausses couches tardives ont été constatées.

Il n'a pas été retrouvé de différence significative concernant le taux de fausse couche précoce et le taux de GEU entre le groupe J5 et le groupe J6 (7,04% versus 4,55% avec  $p = 0,118$  et 0,88% versus 0% avec  $p = 0,99$ ).

A propos des données néonatales, celles-ci concernaient les 93 tentatives ayant donné lieu à une ou plusieurs naissances. Nous avons constaté deux grossesses gémellaires parmi ces 93 tentatives. Par conséquent, ces données portaient sur 95 enfants vivants. Nous avons dû exclure les 16 grossesses en cours pour lesquelles les données néonatales n'étaient pas encore disponibles.

Il n'y avait pas de différence significative des poids et tailles de naissance entre le groupe J5 et J6. De plus, il n'y avait pas de différence dans la répartition des sexes. Par ailleurs, nous n'avons pas retrouvé de différence significative dans le mode d'accouchement et les termes de naissance entre le groupe J5 et le groupe J6. Enfin aucune malformation n'a été constatée, que ce soit dans le groupe J5 ou dans le groupe J6.

L'ensemble de ces résultats est résumé dans le Tableau 2.

Tableau 2. Issues des tentatives

<b>Population totale n = 766</b>			
<b>Issues des tentatives</b>	<b>J5 (n = 568)</b>	<b>J6 (n = 198)</b>	<b>p</b>
Grossesse biochimique	141 (24,82%)	24 (12,12%)	<b>&lt;0,001</b>
Grossesse évolutive	96 (16,9%)	15 (7,58%)	<b>0,001</b>
Naissance vivante	94 (16,55%)	15 (7,58%)	<b>0,004</b>
Fausse couche précoce	40 (7,04%)	9 (4,55%)	ns
Fausses couches tardives	2	0	-
GEU	5 (0,88%)	0 (0%)	ns
<b>Données néonatales et liées à l'accouchement (exclusion des 16 grossesses en cours)</b>			
<b>(n = 95)</b>	<b>J5 (n = 81)</b>	<b>J6 (n = 14)</b>	
Poids (en g)	3348 +/- 568,50	3166,07 +/- 301,36	ns
Taille (en cm)	50,71 +/- 2,14	50,36 +/- 1,49	ns
Sexe féminin	42 (51,85%)	9 (64,29%)	ns
Sexe masculin	39 (48,15%)	5 (35,71%)	ns
<b>Issues obstétricales (n=93)</b>	<b>J5 (n = 80)</b>	<b>J6 (n = 13)</b>	
Accouchement voie basse	34 (42,50%)	5 (38,46%)	ns
Extraction	16 (20%)	4 (30,77%)	ns
Césarienne	30 (37,50%)	4 (30,77%)	ns
Terme (en SA)	39,44 (+/- 2,14)	40,29 (+/- 1,08)	ns

Les résultats sont décrits en moyenne (+/- écart-type) et en pourcentage.  
 $p < 0,05$  a été choisi comme seuil de significativité, ns = non significatif

#### III.4. Évaluation de la qualité embryonnaire et du milieu de congélation

Il n'a pas été retrouvé de différence significative du degré d'expansion du blastocèle (conformément à la classification de Gardner et Schoolcraft.) sur les taux de naissance vivante et de grossesse biochimique. Concernant la qualité embryonnaire (MCI et TE), le taux de

naissance vivante était significativement supérieur pour les embryons de bonne qualité en comparaison à celui des embryons de mauvaise qualité (18,25% *versus* 7,59% avec  $p = 0,019$  et 13,91% *versus* 7,59% et  $p < 0,001$ ). Plus la qualité de la MCI était élevée, meilleur était le taux de naissance vivante. Il en était de même pour les blastocystes présentant un TE de grade A et B comparé aux grades C. La présence d'un clivage précoce a été significativement associée à un plus haut taux de naissance vivante (18,64% *versus* 12,45% avec  $p = 0,036$ ).

Enfin il n'a pas été retrouvé de différence significative du taux de fausse couche précoce selon la qualité embryonnaire.

Les résultats concernant la population totale sont décrits dans le tableau 3.

Tableau 3. Impact de la qualité embryonnaire dans la population totale

Degrés d'expansion du blastocèle	B3 (n = 354)	B4 (n = 336)	B5 (n = 76)	p
Grossesse biochimique	70 (19,77%)	75 (22,32%)	20 (26,32%)	ns
Naissance vivante	43 (12,15%)	51 (15,18%)	15 (19,74%)	ns
Qualité embryonnaire	Bonne <sup>a</sup> (n = 389)	Moyenne <sup>b</sup> (n = 151)	Mauvaise <sup>c</sup> (n = 224)	
Grossesse biochimique	104 (26,74%)	33 (21,85%)	28 (12,50%)	<0,001 <sup>a,b&gt;c</sup>
Naissance vivante	71 (18,25%)	21 (13,91%)	17 (7,59%)	0,001 <sup>a&gt;c</sup>
MCI	A <sup>a</sup> (n = 186)	B <sup>b</sup> (n = 290)	C <sup>c</sup> (n = 288)	
Grossesse biochimique	59 (31,72%)	63 (21,72%)	43 (14,93%)	0,017 <sup>a&gt;b&gt;c</sup>
Naissance vivante	42 (22,58%)	40 (13,79%)	27 (9,38%)	0,021 <sup>a&gt;b,c</sup>
TE	A <sup>a</sup> (n = 169)	B <sup>b</sup> (n = 284)	C <sup>c</sup> (n = 311)	
Grossesse biochimique	49 (28,99%)	70 (24,65%)	46 (14,79%)	<0,001 <sup>a,b&gt;c</sup>
Naissance vivante	33 (19,53%)	48 (16,90%)	28 (9%)	0,004 <sup>a,b&gt;c</sup>
Clivage précoce	Oui (n = 220)	Non (n = 546)		
Grossesse biochimique	57 (25,91%)	108 (19,78%)		ns
Naissance vivante	41 (18,64%)	68 (12,45%)		0,036

MCI = masse cellulaire interne, TE = Trophectoderme. A, B, C = classification de la MCI et du TE selon Gardner et Schoolcraft.

Bonne qualité = AA, AB, BA et BB ; Qualité moyenne = AC, CA, BC et CB ; Mauvaise qualité = CC.

Les résultats sont décrits en pourcentage.  $p < 0,05$  a été choisi comme seuil de significativité, ns = non significatif. Les éléments en exposant <sup>a,b,c</sup> définissent la significativité.

Les mêmes résultats ont été recherchés lors des analyses en sous-groupes (groupe J5 et groupe J6). Ils sont détaillés dans les tableaux 12 et 13, en annexe 3.1 et 3.2.

Concernant le groupe J5, il n'a pas été retrouvé de différence significative du taux de naissance vivante et de grossesse biochimique selon le degré d'expansion du blastocèle (conformément à la classification de Gardner et Schoolcraft). Le taux de naissance vivante était significativement supérieur pour les embryons de bonne qualité en comparaison à celui des embryons de mauvaise qualité (19,62% *versus* 9,59% avec  $p = 0,013$ ). Il était significativement supérieur pour les blastocystes présentant une MCI de grade A en comparaison à ceux présentant une MCI de grade C (22,64% *versus* 11,96% avec  $p = 0,017$ ) et pour ceux présentant un TE de grade A et de grade B comparé à ceux présentant un TE de grade C (20,71% *versus* 11,32% avec  $p = 0,025$  et 19,16% *versus* 11,32% avec  $p = 0,038$ ). Enfin,

la présence d'un clivage précoce a été significativement associée à un plus haut taux de naissance vivante (21,39% *versus* 14,17% avec  $p = 0,044$ ).

Concernant le groupe J6, les blastocystes B5 avaient un taux de grossesse biochimique significativement plus élevé que les blastocystes B4 (23,33% *versus* 9,18% avec  $p = 0,047$ ). Ni la qualité embryonnaire, ni les grades de la MCI et du TE pris individuellement n'ont impacté le taux de naissance vivante. La présence d'un clivage précoce n'a pas impacté le taux de naissance vivante.

Nous avons également comparé la qualité embryonnaire entre le groupe J5 et J6. Les résultats sont présentés dans le tableau 4.

Il y avait plus de blastocystes B5 dans le groupe J6 comparé au groupe J5 (15,15% *versus* 8,1% avec  $p = 0,004$ ) et les embryons étaient de meilleure qualité dans le groupe J5 (55,83% *versus* 36,87% avec  $p < 0,001$ ). Il y avait plus de clivages précoces dans le groupe J5 comparé au groupe J6 (32,92% *versus* 16,67% avec  $p < 0,001$ ). Ces différences concernant la qualité embryonnaire se répercutent sur les taux de grossesse et de naissance vivante plus élevés dans le groupe J5.

Tableau 4. Comparaison de la qualité embryonnaire et des issues de grossesse

	<b>Blastocystes vitrifiés à J5 (n = 568)</b>	<b>Blastocystes vitrifiés à J6 (n = 198)</b>	<b>p</b>
Expansion du blastocèle B3	284 (50%)	70 (35,35%)	<b>&lt;0,001</b>
Expansion du blastocèle B4	238 (41,9%)	98 (49,49%)	ns
Expansion du blastocèle B5	46 (8,1%)	30 (15,15%)	<b>0,004</b>
Bonne qualité	316 (55,83%)	73 (36,87%)	<b>&lt;0,001</b>
Qualité moyenne	104 (18,37%)	47 (23,74%)	ns
Mauvaise qualité	146 (25,8%)	78 (39,39%)	<b>&lt;0,001</b>
Clivage précoce	187 (32,92%)	33 (16,67%)	<b>&lt;0,001</b>
Grossesse biochimique	141 (24,82%)	24 (12,12%)	<b>&lt;0,001</b>
Grossesses évolutive	96 (16,9%)	15 (7,58%)	<b>0,001</b>
Naissance vivante	94 (16,55%)	15 (7,58%)	<b>0,004</b>

Les résultats sont décrits en moyenne (+/- écart-type) et en pourcentage.  
 $p < 0,05$  a été choisi comme seuil de significativité, ns = non significatif

Puis, nous avons comparé le taux de naissance vivante entre le groupe J5 et le groupe J6 de manière générale mais aussi selon la qualité embryonnaire. Pour les embryons de bonne qualité, le taux de naissance vivante était de 19,62% pour le groupe J5 contre 12,33% pour le groupe J6, sans que la différence ne soit significative ( $p = 0,158$ ). Pour les embryons de qualité moyenne et de mauvaise qualité la différence n'était pas significative (17,31% *versus* 6,38% avec  $p = 0,119$  et 9,59% *versus* 3,85% avec  $p = 0,135$ ). Les résultats sont présentés dans les figures 4, 5 et 6.

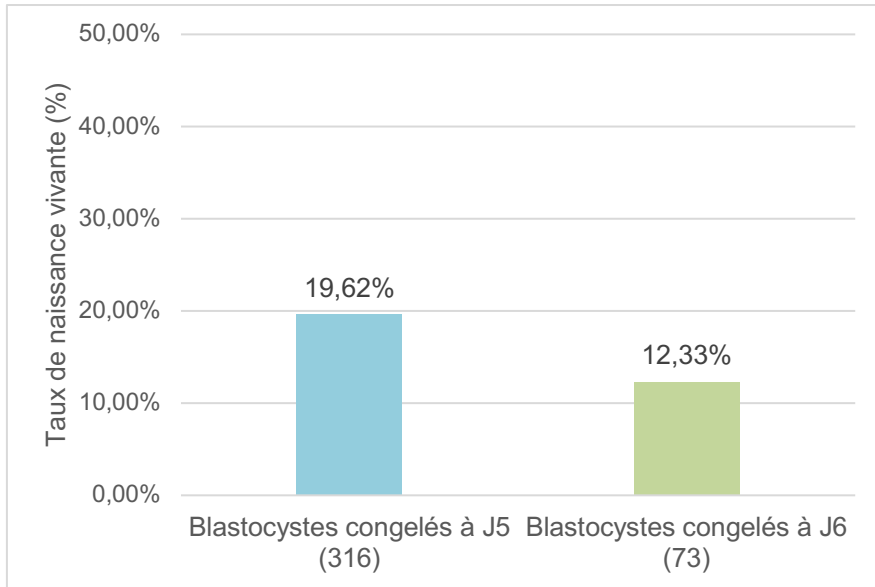


Figure 4. Taux de naissance vivante chez les blastocystes de bonne qualité

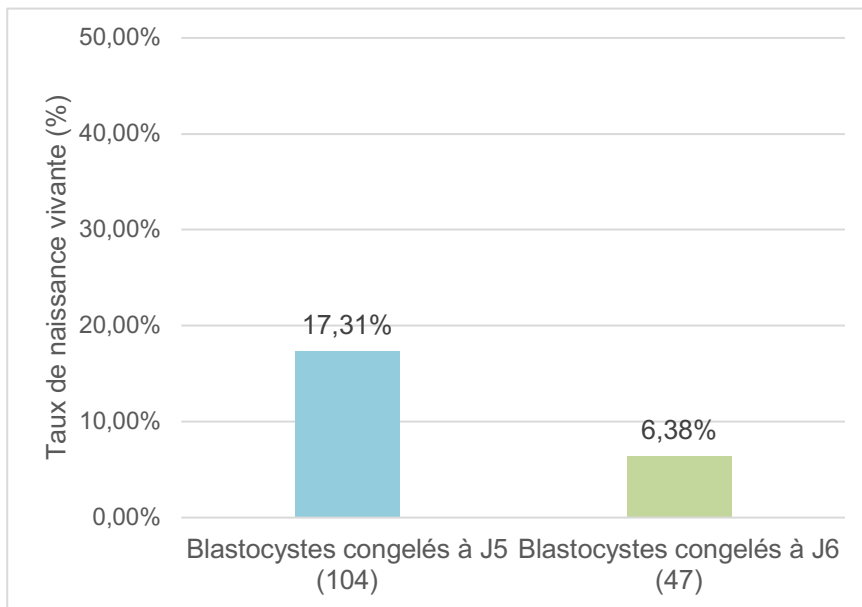


Figure 5. Taux de naissance vivante chez les blastocystes de qualité moyenne

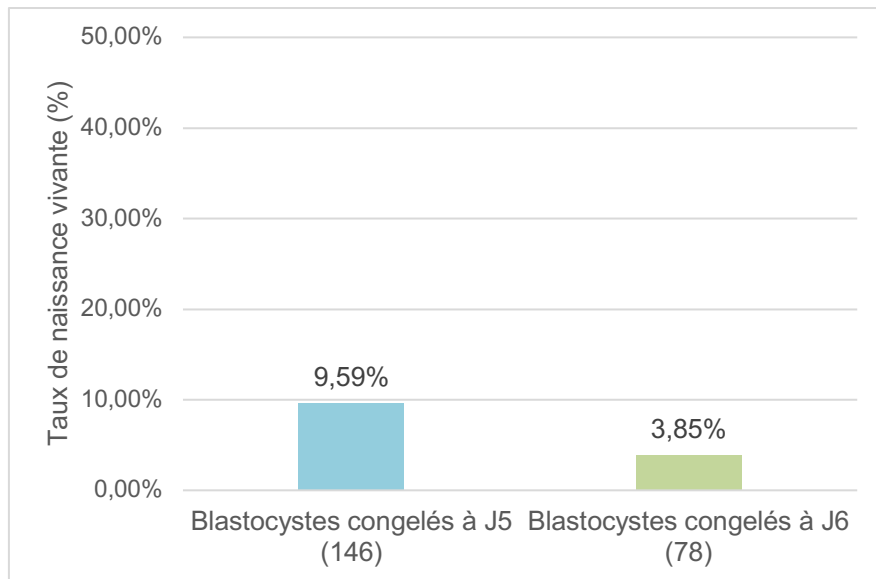


Figure 6. Taux de naissance vivante chez les blastocystes de mauvaise qualité

Pour finir, nous avons voulu analyser l'effet du milieu de congélation sur les résultats. Les résultats sont présentés dans les tableaux 5, 6 et 7. Avant 2018, le milieu utilisé était le Rapid Vit Blast™, Vitrolife et après 2018, le Rapid Vit Omni™, Vitrolife. Le taux de grossesse biochimique (22,25% versus 17,48% et  $p = 0,011$ ), de grossesse clinique (17,5% versus 11,2% et  $p = 0,014$ ) et de naissance vivante (17,25% versus 10,93% et  $p = 0,013$ ) étaient significativement supérieurs pour les blastocystes vitrifiés dans le Rapid Vit Blast™ que pour ceux vitrifiés dans le Rapid Vit Omni™. Nous n'avons pas retrouvé de différence significative concernant le taux de fausse couche précoce (7,25% versus 5,46%).

Concernant le groupe J5, les mêmes résultats ont été retrouvés. Pour le groupe J6, les résultats n'étaient quant à eux, pas significatifs.

Tableau 5. Comparaison des issues des tentatives selon le milieu de congélation utilisé

Population totale n = 766	Vitri Blast™ (n = 400)	Vitri Omni™ (n = 366)	p
Grossesse biochimique	101 (25,25%)	64 (17,48%)	<b>0,011</b>
Fausse couche précoce	20 (7,25%)	20 (5,46%)	ns
Grossesse clinique	70 (17,5%)	41 (11,20%)	<b>0,014</b>
Naissance vivante	69 (17,25%)	40 (10,93%)	<b>0,013</b>

Les résultats sont décrits en pourcentage.

$p < 0,05$  a été choisi comme seuil de significativité, ns = non significatif

Tableau 6. Comparaison des issues des tentatives dans le groupe J5, selon le milieu de congélation utilisé

<b>Blastocystes vitrifiés à J5</b>	<b>Vitri Blast™ (n = 279)</b>	<b>Vitri Omni™ (n = 289)</b>	<b>p</b>
Grossesse biochimique	84 (30,11%)	57 (17,72%)	<b>0,005</b>
Fausse couche précoce	23 (7,52%)	17 (5,88%)	ns
Grossesse clinique	59 (21,15%)	37 (12,80%)	<b>0,01</b>
Naissance vivante	58 (20,79%)	36 (12,46%)	<b>0,009</b>

Les résultats sont décrits en pourcentage.

$p < 0,05$  a été choisi comme seuil de significativité, ns = non significatif

Tableau 7. Comparaison des issues des tentatives dans le groupe J6, selon le milieu de congélation utilisé

<b>Blastocystes vitrifiés à J6</b>	<b>Vitri Blast™ (n = 121)</b>	<b>Vitri Omni™ (n = 77)</b>	<b>p</b>
Grossesse biochimiques	17 (14,04%)	9 (9,09%)	ns
Fausse couche précoce	6 (4,96%)	3 (3,90%)	ns
Grossesse clinique	11 (9,09%)	4 (5,19%)	ns
Naissance vivante	11 (9,09%)	4 (5,19%)	ns

Les résultats sont décrits en pourcentage.

$p < 0,05$  a été choisi comme seuil de significativité, ns = non significatif

### III.5. Impact du mode de préparation endométriale

Si l'analyse globale est en faveur d'un plus grand nombre de grossesses biochimiques en cycle artificiel, ceci n'a pas de répercussion sur le nombre de naissances vivantes. Enfin l'analyse en sous-groupe (J5 et J6) n'a pas retrouvé de différence en termes de taux de grossesse biochimique et de naissance vivante selon le type de préparation endométriale.

Les résultats sont présentés dans le tableau 8.



Tableau 8. Impact du mode de préparation endométriale sur les issues des tentatives

<b>Population totale</b>				
	<b>cycle artificiel<sup>a</sup> (n = 680)</b>	<b>cycle stimulé<sup>b</sup> (n = 76)</b>	<b>cycle semi-naturel<sup>c</sup> (n = 10)</b>	<b>p</b>
Grossesse biochimique	152 (22,35%)	9 (11,84%)	4 (40%)	<b>0,041<sup>a,c&gt;b</sup></b>
Naissance vivante	98 (14,41%)	9 (11,84%)	2 (20%)	ns
<b>Groupe J5</b>				
	<b>cycle artificiel (n = 505)</b>	<b>cycle stimulé (n = 55)</b>	<b>cycle semi-naturel (n = 8)</b>	
Grossesse biochimique	130 (25,74%)	8 (14,55%)	3 (37,5%)	ns
Naissance vivante	84 (16,63%)	8 (14,55%)	2 (25%)	ns
<b>Groupe J6</b>				
	<b>cycle artificiel (n = 175)</b>	<b>cycle stimulé (n = 21)</b>	<b>cycle semi-naturel (n = 2)</b>	
Grossesse biochimique	22 (12,57%)	1 (4,76%)	1 (50%)	ns
Naissance vivante	14 (8%)	1 (4,76%)	0 50%)	ns

Les résultats sont décrits en pourcentage.  $p < 0,05$  a été choisi comme seuil de significativité, ns = non significatif. Les éléments en exposant <sup>a,b,c</sup> définissent la significativité.

Nous n'avons pas retrouvé de différence significative de l'épaisseur de l'endomètre avant transfert selon le type de préparation endométriale, que ce soit dans la population totale ou dans les analyses en sous-groupe à J5 et J6. Les résultats sont exposés dans le tableau 9.

Tableau 9. Impact du mode de préparation endométriale sur l'épaisseur de l'endomètre (mm)

	<b>Cycle artificiel</b>	<b>Cycle stimulé</b>	<b>Cycle semi-naturel</b>	<b>p</b>
<b>Population totale</b>	9,3 (+/- 1,78)	8,9 (+/- 1,83)	9 (+/- 2,05)	ns
<b>Groupe J5</b>	9,2 (+/- 1,78)	8,9 (+/- 2,00)	8,6 (+/- 2,13)	ns
<b>Groupe J6</b>	9,4 (+/- 1,78)	8,9 (+/- 1,35)	10,5 (+/- 0,71)	ns

Les résultats sont décrits en moyenne (+/- écart-type).

$p < 0,05$  a été choisi comme seuil de significativité, ns = non significatif

Enfin, nous n'avons pas retrouvé de différence significative du taux de fausse couche précoce selon le type de préparation endométriale choisie.

### III.6. Analyse multivariée

Après analyse multivariée, le taux de naissance vivante restait de manière significative supérieur pour le groupe J5, indépendamment de la qualité embryonnaire, du degré d'expansion du blastocèle, de la présence d'un clivage précoce et de l'origine ovulatoire des infertilités, avec un odds ratio égal à 2,686, un intervalle de confiance compris entre 1,215 et 5,937 et  $p = 0,015$ . La qualité embryonnaire restait elle aussi un facteur de meilleur résultat en analyse multivariée avec un Odds ratio égal à 0,342, un intervalle de confiance compris entre 0,150 et 0,780 et  $p = 0,011$ . Les résultats sont présentés dans le tableau 10.

Tableau 10. Analyse multivariée sur le taux de naissance vivante

Paramètres	Odds ratio	Intervalle de confiance 95%	p
Blastocystes J5 vs J6	2,686	1,215-5,937	<b>0,015</b>
Bonne vs moyenne qualité	0,704	0,348-1,422	ns
Bonne vs mauvaise qualité	0,342	0,150-0,780	<b>0,011</b>
B3 vs B4	0,992	0,541-1,819	ns
B3 vs B5	1,478	0,591-3,699	ns
Clivage précoce	1,494	0,834-2,676	ns
Infertilités ovulatoires	0,854	0,444-1,641	ns

*p < 0,05 a été choisi comme seuil de significativité, ns = non significatif*

Concernant l'impact de la qualité embryonnaire sur le taux de naissance vivante, après analyse multivariée, la MCI était plus fortement associée aux taux de naissance vivante que le TE. Les résultats sont présentés dans le tableau 11.

Tableau 11. Analyse multivariée de la qualité de la MCI et du TE sur le taux de naissance vivante

Paramètres	Odds ratio	Intervalle de confiance 95%	p
TE B vs TE A	1,319	0,601-2,893	ns
TE C vs TE A	0,68	0,256-1,812	ns
MCI B vs MCI A	0,448	0,204-0,986	<b>0,046</b>
MCI C vs MCI A	0,355	0,138-0,910	<b>0,031</b>

*p < 0,05 a été choisi comme seuil de significativité, ns = non significatif*

## IV. Discussion

---

Notre étude nous permet de conclure à la supériorité des blastocystes congelés à J5 versus ceux congelés à J6 en termes de naissance vivante. Elle suit l'hypothèse que les embryons ayant une blastulation retardée seraient moins à même de donner lieu à une naissance d'un ou plusieurs enfants vivants.

Nos résultats vont dans le même sens que ceux de plusieurs études qui seraient également en faveur des blastocystes congelés à J5 (22–25) ainsi que la récente méta-analyse de Bourdon *et al.* publiée en octobre 2019, reprenant 29 études (26).

Plusieurs hypothèses ressortent pour expliquer ces différences de résultats pour les blastocystes ne pouvant être congelés qu'au 6<sup>ème</sup> jour de vie. Comme nous l'avons évoqué précédemment, ces embryons ont une blastulation qui se fait de manière retardée, cela pourrait être dû à la présence d'anomalies concernant leur matériel chromosomique. En effet, l'étude de Taylor *et al.* a mis en évidence un taux d'aneuploïdie supérieur pour ces blastocystes, 54,6% des embryons biopsiés à J5 étaient euploïdes contre 42,8% des embryons biopsiés à J6 ( $p = 0,023$ ) (27). L'étude de Kaing *et al.* (28) montre également une plus forte probabilité d'euploïdie chez les blastocystes se développant plus précocement 49,5% pour les J5, 36,5% pour les J6 et 32,9% pour les J7 ( $p < 0,0001$ ). Cela pourrait affecter la probabilité de survenue d'une grossesse et d'une naissance vivante. En France, il n'est pas pratiqué de dépistage génétique pré implantatoire, hormis sur indication médicale, nous n'avons donc pas réalisé cette analyse sur les embryons.

Ce retard de blastulation pourrait également s'expliquer par un défaut d'activation du génome paternel, qui apparaît au 3<sup>ème</sup> jour de développement. Le facteur paternel, apporté par le spermatozoïde, aurait un impact sur le développement embryonnaire et la formation d'un blastocyste. (29,30) Dans nos résultats, une partie des blastocystes vitrifiés à J6 ( $n = 33$ ), ont tout de même présenté un clivage précoce mais beaucoup moins que pour les J5, ce qui va dans le sens d'un retard de développement. Chez ces embryons, ce retard ne semble survenir que secondairement et pourrait s'expliquer par des difficultés d'activation du génome paternel n'intervenant qu'au 3<sup>ème</sup> jour de développement. D'autres investigations seraient nécessaires afin d'étudier l'association de l'activation du génome paternel avec le retard de développement des blastocystes. Par ailleurs, nous avons retrouvé plus d'étiologies masculines à l'infertilité dans le groupe J6, sans que cette différence ne soit significative (54,78% *versus* 45,91% et  $p = 0,062$ ), ces résultats pourraient appuyer cette hypothèse mais des études plus poussées sur la blastulation et l'infertilité masculine méritent d'être menées.

Concernant les autres indications d'infertilité, nous avons retrouvé plus d'infertilités ovulatoires dans le groupe J5. L'hypothèse de l'effet de la qualité ovocytaire sur la blastulation pourrait être évoquée. Cependant la littérature ne retrouve rien sur ce sujet. En effet, l'étude de Delaroche *et al.* a montré que le SOPK, responsable d'une qualité ovocytaire altérée, n'impactait ni le taux de formation de blastocystes, ni les résultats de la culture prolongée (31). Ayant plus de blastocystes J5 chez les patientes présentant un SOPK, donnant donc de meilleurs résultats, nous n'avons donc pas retrouvé, comme dans la littérature d'éléments péjoratifs à cette infertilité sur le développement embryonnaire.

Néanmoins, d'autres études ont montré des taux similaires de naissance vivante et de grossesse pour les embryons congelés à J5 *versus* ceux congelés à J6 (32–34). Dans les études de Berh *et al.* (32) et de El-Toukhy *et al.* (33) la méthode de congélation utilisée est la

congélation lente, or nous n'avons étudié que des blastocystes congelés par vitrification. Seule l'étude de Kayle *et al.* (34) a inclus des blastocystes congelés par congélation lente et par vitrification. Si la question peut se poser de l'impact de la technique de congélation sur les résultats en termes de grossesse pour les embryons à blastulation retardée, dans la méta-analyse de Bourdon *et al.* qui inclut 29 études (26), il semble apparaître une supériorité au J5 en termes de grossesse (figure 10 présentée en annexe 4) que ce soit en congélation lente (risque relatif = 1,15) ou en vitrification (risque relatif = 1,27).

Nous nous sommes plutôt intéressés à la qualité embryonnaire, en effet, comme retrouvé dans l'étude de Ferreux *et al.* (22), nous avons pu mettre en évidence des embryons de moins bonne qualité lorsqu'ils étaient congelés à J6 plutôt que J5. Cela pourrait donc, plus que la technique de congélation, expliquer la différence de résultats entre nos 2 populations. Effectivement, comme dit précédemment, plus la qualité de l'embryon est bonne, meilleures sont ses chances de s'implanter et de donner lieu à une grossesse et une naissance (15,16,35,36).

Ainsi, les taux de naissance vivante des embryons de bonne qualité sont largement supérieurs à ceux de mauvaise qualité (18,25% *versus* 7,59% avec  $p < 0,001$ ) et ceux de moyenne qualité à ceux de mauvaise qualité (13,91% *versus* 7,59% avec  $p = 0,019$ ). Se pose alors la question de vitrifier des blastocystes de qualité CC (conformément à la classification de Gardner et Schoolcraft). Cependant, quand les chances d'obtenir des embryons de bonne qualité demeurent infimes, le choix de transférer des embryons de qualité inférieure peut être la seule possibilité d'obtenir une grossesse et ainsi une naissance. Ainsi, l'étude de Kirillova *et al.* concernant les transferts frais, affirme l'intérêt de transférer des embryons de mauvaise qualité, qu'ils soient à J3 ou à J5 lorsqu'ils sont la seule option (37). Concernant les embryons congelés, on peut réfléchir ainsi, si plusieurs blastocystes J5 ou J6 sont obtenus, il peut être opportun de ne congeler que les bonnes et moyennes qualités et non les mauvaises (CC), en vue d'un transfert ultérieur. Si un seul embryon de grade CC est obtenu, dans ce cas, sa congélation peut être retenue.

Dans l'analyse en sous-groupe (tableaux 12 et 13 présentés en annexe 3.1 et 3.2), la qualité embryonnaire impacte là encore le taux de grossesse biochimique et de naissance vivante. Cependant les résultats du groupe J6 ne sont pas significatifs, probablement du fait de faibles effectifs. Ainsi, nous avons comparé les taux de naissance vivante des blastocystes de qualité identique et avons constaté un plus haut taux de naissance vivante dans le groupe J5 que dans le groupe J6, que les embryons soient de bonne (19,62% *versus* 12,33%), moyenne (17,31% *versus* 6,38%) ou mauvaise qualité (9,59% *versus* 3,85%), mais cette différence n'était pas significative. Dans l'étude parisienne (22), ayant plus de puissance, elle reste significative et montre des taux de naissance vivante significativement inférieurs pour le groupe J6 chez les embryons de bonne qualité (18,7% *versus* 31%) mais également chez ceux de faible qualité (13,4% *versus* 23,5%). Ainsi la qualité embryonnaire semble avoir plus d'importance pour les embryons J6 que pour les J5 et l'intérêt des blastocystes J6 de grade CC (selon la classification de Gardner et Schoolcraft) semble minime. Cela nous inciterait à ne transférer que les embryons de bonne qualité lorsqu'ils présentent un retard de blastulation. Leur étude montre également un plus haut taux de fausse couche précoce pour les blastocystes J6, ce qui n'a pas été retrouvé dans notre analyse.

De plus, nous avons mis en évidence que la qualité du TE (à l'origine du placenta), et de la MCI (à l'origine de l'embryon), auraient toutes deux, indépendamment l'une de l'autre un fort impact sur les résultats en termes de grossesse biochimique et de naissances vivante. Cependant, après analyse multi variée, la qualité de la MCI serait plus fortement associée à

une issue positive en termes de naissance vivante, que celle du TE. Ainsi, cet indicateur serait à regarder en priorité afin de sélectionner le blastocyste le plus prometteur. Nos résultats diffèrent de ceux de la littérature, car à l'inverse de nous, les études de Alhström *et al.*, de Zaninovic *et al.* et de Marshall Thomson *et al.* montrent toutes les trois un plus grand impact de la qualité du TE sur les taux d'implantation et de naissance vivante (15,38,39). Ces données montrent toute la complexité du choix de l'embryon le plus apte à donner une naissance vivante.

Nos résultats globaux sur les transferts d'embryons congelés étant un peu inférieurs à ceux de la littérature nationale et internationale, nous nous sommes également intéressés au milieu de congélation utilisé et avons mis en évidence une franche supériorité du Rapid Vit Blast™, Vitrolife sur le Rapid Vit Omni™, Vitrolife (étant le milieu utilisé actuellement) en termes de taux de grossesse biochimique (25,25% *versus* 17,48% et  $p = 0,011$ ), de grossesse clinique (17,5% *versus* 11,20% et  $p = 0,014$ ) et de naissance vivante (17,25% *versus* 10,93% et  $p = 0,013$ ). L'analyse en sous-groupe n'a pas retrouvé cette supériorité pour le groupe J6, mais cela peut être dû à son faible effectif. Les milieux de congélation ont un fort impact sur les résultats en AMP. Cette étude va donc avoir un effet clinico-biologique pratique immédiat en nous orientant au laboratoire vers l'utilisation d'un nouveau milieu de congélation, afin d'améliorer nos résultats de TEC.

Concernant la préparation endométriale, là encore la littérature est hétéroclite, la majorité des études ont utilisé des traitements hormonaux substitutifs (23–25). Dans notre centre, nous distinguons trois modes de préparations endométriales différents. Horcajadas *et al.* ont analysé la réceptivité de l'endomètre et ont montré la présence de modifications biochimiques, morphologiques et génomiques qui seraient néfastes pour l'endomètre après une forte stimulation ovarienne par Gonadotrophines (40). Les transferts d'embryons congelés permettent de s'affranchir de cette hyper stimulation ovarienne. Nous avons souhaité voir si un mode de préparation endométriale prévalait sur un autre.

Ainsi, il n'a pas été retrouvé de différence significative concernant le taux de naissance vivante, selon le type de préparation endométriale choisie. Cependant, les taux de grossesse biochimique sont significativement plus importants en cycle artificiel plutôt qu'en cycle stimulé (22,35% *versus* 11,84% avec  $p = 0,041$ ) et en cycle semi-naturel plutôt qu'en cycle stimulé (40% *versus* 11,84% avec  $p = 0,036$ ). Étonnement, nous n'avons par contre, pas retrouvé plus de fausses couches précoces. Dans notre centre, le cycle artificiel est plus largement utilisé. Cela peut constituer un biais et expliquer nos différences de résultats avec la méta-analyse de Yarali *et al.* qui ne trouve pas de franche supériorité d'une méthode de préparation endométriale plutôt qu'une autre mais dans laquelle les résultats des cycles stimulés seraient légèrement supérieurs en termes de taux de grossesse clinique et de naissance vivante, à ceux des cycles artificiels (41).

Néanmoins, dans de nombreuses études, il n'apparaît pas de franche supériorité d'une méthode de préparation endométriale sur une autre (42–47) De plus, nous n'avons pas mis en évidence de différence d'épaisseur de l'endomètre selon le mode de préparation endométriale.

Une des limites de notre étude concerne le monitoring de la préparation endométriale précédant les transferts d'embryons congelés. En effet, que ce soit pour le cycle artificiel, le cycle stimulé ou encore le cycle semi-naturel, il n'est pas réalisé de bilans hormonaux de manière systématique lors de la surveillance échographique précédant les transferts d'embryons congelés. Ils sont effectués en cas d'anomalie échographique. Cela peut avoir

une incidence sur les décisions de transfert et les résultats de ceux-ci. La récente étude de Cédric-Durnerin *et al.* met l'accent sur l'importance de la mesure du taux de progestérone sur les résultats des transferts d'embryons congelés (48), cependant, là encore la littérature concernant la progestéronémie pré et post transfert et l'adaptation du traitement hormonal qui s'ensuit est vaste et hétéroclite. Des adaptations concernant les dosages hormonaux sont actuellement en cours dans le centre.

Enfin, concernant les résultats néonataux, nous n'avons pas retrouvé de différence de poids de naissance, de sex ratio et de taille à la naissance entre le groupe J5 et le groupe J6. Or, les études de Ferreux *et al.* et de Wang *et al.* ont mis en évidence des plus gros poids de naissance pour les blastocystes J6 (22,49). Mäkinen *et al.* ont également rapporté une augmentation du poids pour l'âge gestationnel lorsque les cultures embryonnaires étaient prolongées (50). De même, Zhu *et al.* ont étudié les transferts frais et ont mis en évidence un effet significatif de la culture prolongée sur les poids de naissance (51). Il y aurait aussi une plus grande proportion d'enfant de sexe masculin pour les blastocystes J6 (49). Les milieux de culture utilisés en AMP pourraient avoir un impact sur la placentation et affecter les poids de naissance des enfants issus de transferts d'embryons congelés (11).

Ces différences de résultats pourraient s'expliquer par un plus faible échantillon. Effectivement nous avons analysé 93 accouchements, 80 issus du groupe J5 contre 13 issus du groupe J6.

Pour terminer, notre étude met en évidence, en rapport avec les données de la littérature, une supériorité des embryons J5 en termes de grossesse et de naissance vivante sur les embryons J6. Cependant, des grossesses sont obtenues avec ces embryons présentant une blastulation retardée et leur transfert peut être envisagé dans certaines conditions. Notre étude a montré l'importance de la qualité embryonnaire sur ce type d'embryon. Une sélection plus sévère pour les blastocystes J6 serait peut-être à envisager. Une des limites de notre étude est le fait qu'il s'agit d'une étude rétrospective. Par conséquent certaines données étaient manquantes. Le faible échantillon d'embryons congelés à J6 a également pu constituer un biais dans les résultats. Une étude prospective randomisée comparant les blastocystes vitrifiés à J5 *versus* J6 est cependant difficilement envisageable car les embryons poussés au J6 présentent un retard de développement et ne sont donc pas transférables à J6.

Cette étude orienterait donc vers une sélection plus sévère du blastocyste J6 et un changement du milieu de congélation. Au vu des dernières données de la littérature, un dosage de la progestérone systématique et une adaptation de la synchronisation endométriale plus suivie dans les cycles artificiels de ce type de transfert, serait à envisager, même si aucune différence en termes de synchronisation endométriale n'a été retrouvée sur cet effectif. Une poursuite de cette étude sur un plus long terme semble donc intéressante.

## Conclusion

---

Le retard de développement des blastocystes aurait donc un impact négatif sur le taux de naissance vivante. Plusieurs hypothèses interviennent pour expliquer ces moins bons résultats. En effet, les embryons congelés à J6 seraient de moins bonne qualité que ceux congelés à J5. Une sélection plus sévère de ces blastocystes serait à envisager. Néanmoins, les causes de ce retard de blastulation sont encore méconnues et nécessiteraient des investigations supplémentaires.

Cette étude a également permis de mettre en évidence l'importance des milieux de congélation sur les résultats globaux des embryons congelés.

Enfin, les résultats sont moins affectés par le type de traitement précédant les transferts d'embryons congelés. La réceptivité endométriale étant un facteur important, les protocoles de préparation endométriale sont en perpétuelle évolution. Mais les études montrant la supériorité d'un mode de préparation endométriale sur un autre sont encore peu nombreuses. Au vu de nos résultats, il paraît judicieux de choisir un protocole selon les antécédents de la patiente en attendant les résultats des nombreuses études en cours sur le taux de progestérone pré et post transfert.

## Références bibliographiques

---

1. Epelboin S, Merlet F, Bulwa S, De Medeiros N. Les enfants de la FIV et de l'ICSI. In: Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français. 2000.
2. Trounson A, Mohr L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature*. 20 oct 1983;305(5936):707-9.
3. Chen Z-J, Shi Y, Sun Y, Zhang B, Liang X, Cao Y, et al. Fresh versus Frozen Embryos for Infertility in the Polycystic Ovary Syndrome. *N Engl J Med*. 11 août 2016;375(6):523-33.
4. Article L2141-4 modifié par LOI n°2011-814 du 7 juillet 2011 - art.34. Code de la santé publique.
5. Gremeau A-S, Brugnon F, Bouraoui Z, Pekrishvili R, Janny L, Pouly J-L. Outcome and feasibility of elective single embryo transfer (eSET) policy for the first and second IVF/ICSI attempts. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. janv 2012;160(1):45-50.
6. Mandelbaum J. Congélation lente ou vitrification en AMP : que choisir ? | Gynéco Online.
7. Sifer C. Contribution of embryo vitrification procedure to ART efficiency. *Gynecol Obstet Fertil*. oct 2014;42(10):721-4.
8. Rienzi L, Gracia C, Maggiulli R, LaBarbera AR, Kaser DJ, Ubaldi FM, et al. Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. *Hum Reprod Update*. 01 2017;23(2):139-55.
9. Griveau JF, Lopes M, Jouve G, Veau S, Ravel C, Morcel K. Vitrification: Principles and results. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. juin 2015;44(6):485-95.
10. Kuć P, Kuczyńska A, Stankiewicz B, Sieczyński P, Matysiak J, Kuczyński W. Vitrification vs. slow cooling protocol using embryos cryopreserved in the 5th or 6th day after oocyte retrieval and IVF outcomes. *Folia Histochem Cytobiol*. 1 janv 2010;48(1):84-8.
11. Ozgur K, Berkkanoglu M, Bulut H, Humaidan P, Coetzee K. Perinatal outcomes after fresh versus vitrified-warmed blastocyst transfer: retrospective analysis. *Fertil Steril*. oct 2015;104(4):899-907.e3.
12. Glujovsky D, Farquhar C, Quinteiro Retamar AM, Alvarez Sedo CR, Blake D. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev*. 30 juin 2016;(6):CD002118.
13. Gardner DK, Schoolcraft WB. Culture and transfer of human blastocysts. *Curr Opin Obstet Gynecol*. juin 1999;11(3):307-11.
14. De Croo I, Colman R, De Sutter P, Tilleman K. Blastocyst transfer for all? Higher cumulative live birth chance in a blastocyst-stage transfer policy compared to a cleavage-stage transfer policy. *Facts Views Vis ObGyn*. juin 2019;11(2):169-76.
15. Ahlström A, Westin C, Reisner E, Wikland M, Hardarson T. Trophoctoderm morphology: an important parameter for predicting live birth after single blastocyst transfer. *Hum Reprod Oxf Engl*. déc 2011;26(12):3289-96.



16. Chen X, Zhang J, Wu X, Cao S, Zhou L, Wang Y, et al. Trophectoderm morphology predicts outcomes of pregnancy in vitrified-warmed single-blastocyst transfer cycle in a Chinese population. *J Assist Reprod Genet.* nov 2014;31(11):1475-81.
17. Freour T, Lammers J, Spingart C, Jean M, Barriere P. [Time lapse (Embryoscope®) as a routine technique in the IVF laboratory: a useful tool for better embryo selection?]. *Gynecol Obstet Fertil.* sept 2012;40(9):476-80.
18. Desai N, Ploskonka S, Goodman LR, Austin C, Goldberg J, Falcone T. Analysis of embryo morphokinetics, multinucleation and cleavage anomalies using continuous time-lapse monitoring in blastocyst transfer cycles. *Reprod Biol Endocrinol RBE.* 20 juin 2014;12:54.
19. Chamayou S, Patrizio P, Storaci G, Tomaselli V, Alecci C, Ragolia C, et al. The use of morphokinetic parameters to select all embryos with full capacity to implant. *J Assist Reprod Genet.* juin 2013;30(5):703-10.
20. Lee C-I, Lee T-H, Huang C-C, Chen H-H, Liu C-H, Lee M-S. Detection of early cleavage embryos improves pregnancy and delivery rates of Day 3 embryo transfer during in vitro fertilization. *Taiwan J Obstet Gynecol.* août 2016;55(4):558-62.
21. Shapiro BS, Richter KS, Harris DC, Daneshmand ST. A comparison of day 5 and day 6 blastocyst transfers. *Fertil Steril.* juin 2001;75(6):1126-30.
22. Ferreux L, Bourdon M, Sallem A, Santulli P, Barraud-Lange V, Le Foll N, et al. Live birth rate following frozen-thawed blastocyst transfer is higher with blastocysts expanded on Day 5 than on Day 6. *Hum Reprod Oxf Engl.* 01 2018;33(3):390-8.
23. Sciorio R, Thong KJ, Pickering SJ. Increased pregnancy outcome after day 5 versus day 6 transfers of human vitrified-warmed blastocysts. *Zygote Camb Engl.* oct 2019;27(5):279-84.
24. Desai N, Ploskonka S, Goodman L, Attaran M, Goldberg JM, Austin C, et al. Delayed blastulation, multinucleation, and expansion grade are independently associated with live-birth rates in frozen blastocyst transfer cycles. *Fertil Steril.* nov 2016;106(6):1370-8.
25. Haas J, Meriano J, Laskin C, Bentov Y, Barzilay E, Casper RF, et al. Clinical pregnancy rate following frozen embryo transfer is higher with blastocysts vitrified on day 5 than on day 6. *J Assist Reprod Genet.* déc 2016;33(12):1553-7.
26. Bourdon M, Pocate-Cheriet K, Finet de Bantel A, Grzegorzczak-Martin V, Amar Hoffet A, Arbo E, et al. Day 5 versus Day 6 blastocyst transfers: a systematic review and meta-analysis of clinical outcomes. *Hum Reprod Oxf Engl.* 02 2019;34(10):1948-64.
27. Taylor TH, Patrick JL, Gitlin SA, Wilson JM, Crain JL, Griffin DK. Comparison of aneuploidy, pregnancy and live birth rates between day 5 and day 6 blastocysts. *Reprod Biomed Online.* sept 2014;29(3):305-10.
28. Kaing A, Kroener LL, Tassin R, Li M, Liu L, Buyalos R, et al. Earlier day of blastocyst development is predictive of embryonic euploidy across all ages: essential data for physician decision-making and counseling patients. *J Assist Reprod Genet.* janv 2018;35(1):119-25.
29. Tesarik J. Paternal effects on cell division in the human preimplantation embryo. *Reprod Biomed Online.* mars 2005;10(3):370-5.

30. Neyer A, Zintz M, Stecher A, Bach M, Wirleitner B, Zech NH, et al. The impact of paternal factors on cleavage stage and blastocyst development analyzed by time-lapse imaging—a retrospective observational study. *J Assist Reprod Genet.* nov 2015;32(11):1607-14.
31. Delaroche L, Dupont C, Oger P, Aubriot F-X, Lamazou F, Yazbeck C. Polycystic ovary syndrome does not affect blastulation nor cumulative live birth rates. *Gynecol Obstet Fertil Senol.* 2019;47(9):655-61.
32. Behr B, Gebhardt J, Lyon J, Milki AA. Factors relating to a successful cryopreserved blastocyst transfer program. *Fertil Steril.* avr 2002;77(4):697-9.
33. El-Toukhy T, Wharf E, Walavalkar R, Singh A, Bolton V, Khalaf Y, et al. Delayed blastocyst development does not influence the outcome of frozen-thawed transfer cycles. *BJOG Int J Obstet Gynaecol.* déc 2011;118(13):1551-6.
34. Kaye L, Will EA, Bartolucci A, Nulsen J, Benadiva C, Engmann L. Pregnancy rates for single embryo transfer (SET) of day 5 and day 6 blastocysts after cryopreservation by vitrification and slow freeze. *J Assist Reprod Genet.* juill 2017;34(7):913-9.
35. Gardner DK, Lane M, Stevens J, Schlenker T, Schoolcraft WB. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertil Steril.* juin 2000;73(6):1155-8.
36. Zhao Y-Y, Yu Y, Zhang X-W. Overall Blastocyst Quality, Trophectoderm Grade, and Inner Cell Mass Grade Predict Pregnancy Outcome in Euploid Blastocyst Transfer Cycles. *Chin Med J (Engl).* 5 juin 2018;131(11):1261-7.
37. Kirillova A, Lysenkov S, Farmakovskaya M, Kiseleva Y, Martazanova B, Mishieva N, et al. Should we transfer poor quality embryos? *Fertil Res Pract.* 2020;6:2.
38. Zaninovic N, Berrios R, Clarke RN, Bodine R, Ye Z, Veeck LL. Blastocyst expansion, inner cell mass (ICM) formation, and trophoctoderm (TM) quality: is one more important for implantation? *Fertil Steril.* 1 sept 2001;76(3):S8.
39. Thompson SM, Onwubalili N, Brown K, Jindal SK, McGovern PG. Blastocyst expansion score and trophoctoderm morphology strongly predict successful clinical pregnancy and live birth following elective single embryo blastocyst transfer (eSET): a national study. *J Assist Reprod Genet.* déc 2013;30(12):1577-81.
40. Horcajadas JA, Mínguez P, Dopazo J, Esteban FJ, Domínguez F, Giudice LC, et al. Controlled ovarian stimulation induces a functional genomic delay of the endometrium with potential clinical implications. *J Clin Endocrinol Metab.* nov 2008;93(11):4500-10.
41. Yarali H, Polat M, Mumusoglu S, Yarali I, Bozdogan G. Preparation of endometrium for frozen embryo replacement cycles: a systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet.* oct 2016;33(10):1287-304.
42. Wright KP, Guibert J, Weitzen S, Davy C, Fauque P, Olivennes F. Artificial versus stimulated cycles for endometrial preparation prior to frozen-thawed embryo transfer. *Reprod Biomed Online.* sept 2006;13(3):321-5.
43. Alur-Gupta S, Hopeman M, Berger DS, Gracia C, Barnhart KT, Coutifaris C, et al. Impact of method of endometrial preparation for frozen blastocyst transfer on pregnancy outcome: a retrospective cohort study. *Fertil Steril.* 2018;110(4):680-6.

44. Greco E, Litwicka K, Arrivi C, Varricchio MT, Caragia A, Greco A, et al. The endometrial preparation for frozen-thawed euploid blastocyst transfer: a prospective randomized trial comparing clinical results from natural modified cycle and exogenous hormone stimulation with GnRH agonist. *J Assist Reprod Genet.* juill 2016;33(7):873-84.
45. Ghobara T, Gelbaya TA, Ayeleke RO. Cycle regimens for frozen-thawed embryo transfer. *Cochrane Database Syst Rev.* 05 2017;7:CD003414.
46. Groenewoud ER, Cohlen BJ, Macklon NS. Programming the endometrium for deferred transfer of cryopreserved embryos: hormone replacement versus modified natural cycles. *Fertil Steril.* 2018;109(5):768-74.
47. Mackens S, Santos-Ribeiro S, van de Vijver A, Racca A, Van Landuyt L, Tournaye H, et al. Frozen embryo transfer: a review on the optimal endometrial preparation and timing. *Hum Reprod Oxf Engl.* 01 2017;32(11):2234-42.
48. Cédric-Durnerin I, Isnard T, Mahdjoub S, Sonigo C, Seroka A, Comtet M, et al. Serum progesterone concentration and live birth rate in frozen-thawed embryo transfers with hormonally prepared endometrium. *Reprod Biomed Online.* mars 2019;38(3):472-80.
49. Wang X, Zhen J, Sun Z, Yu Q, Deng C, Zhou Y, et al. Effects of fifth day (D5) or sixth day (D6) frozen-thawed blastocysts on neonatal outcomes. *Zygote Camb Engl.* oct 2016;24(5):684-91.
50. Mäkinen S, Söderström-Anttila V, Vainio J, Suikkari A-M, Tuuri T. Does long in vitro culture promote large for gestational age babies? *Hum Reprod Oxf Engl.* mars 2013;28(3):828-34.
51. Zhu J, Lin S, Li M, Chen L, Lian Y, Liu P, et al. Effect of in vitro culture period on birthweight of singleton newborns. *Hum Reprod Oxf Engl.* mars 2014;29(3):448-54.

## Annexes

---

Annexe 1. Développement embryonnaire .....	53
Annexe 2. Classification de Gardner et Schoolcraft, 1999 .....	54
Annexe 2.1. Degré d'expansion du blastocèle.....	54
Annexe 2.2. Qualité de la Masse cellulaire interne et du Trophectoderme .....	54
Annexe 3.....	55
Annexe 3.1. Évaluation de la qualité embryonnaire dans le groupe J5 .....	55
Annexe 3.2. Évaluation de la qualité embryonnaire dans le groupe J6 .....	56
Annexe 4. Taux de grossesse clinique des transferts de blastocystes J5 <i>versus</i> J6, selon le type de congélation issu de la Méta-analyse de <i>Bourdon et al (26)</i> .....	57

## Annexe 1. Développement embryonnaire

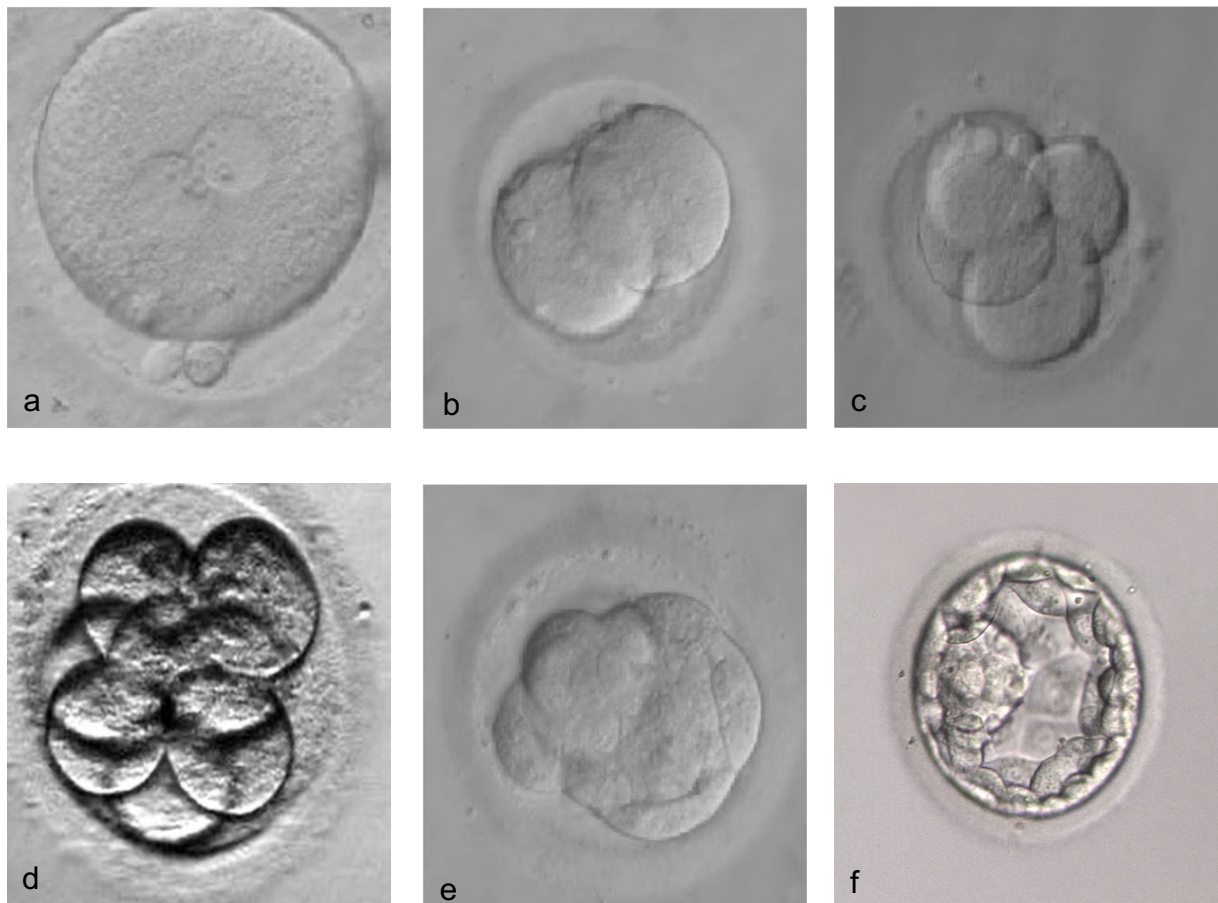


Figure 7. Développement embryonnaire

a : zygote b : 2 cellules c : 4 cellules d : 8 cellules e : morula f : blastocyste

## Annexe 2. Classification de Gardner et Schoolcraft, 1999

### Annexe 2.1. Degré d'expansion du blastocèle

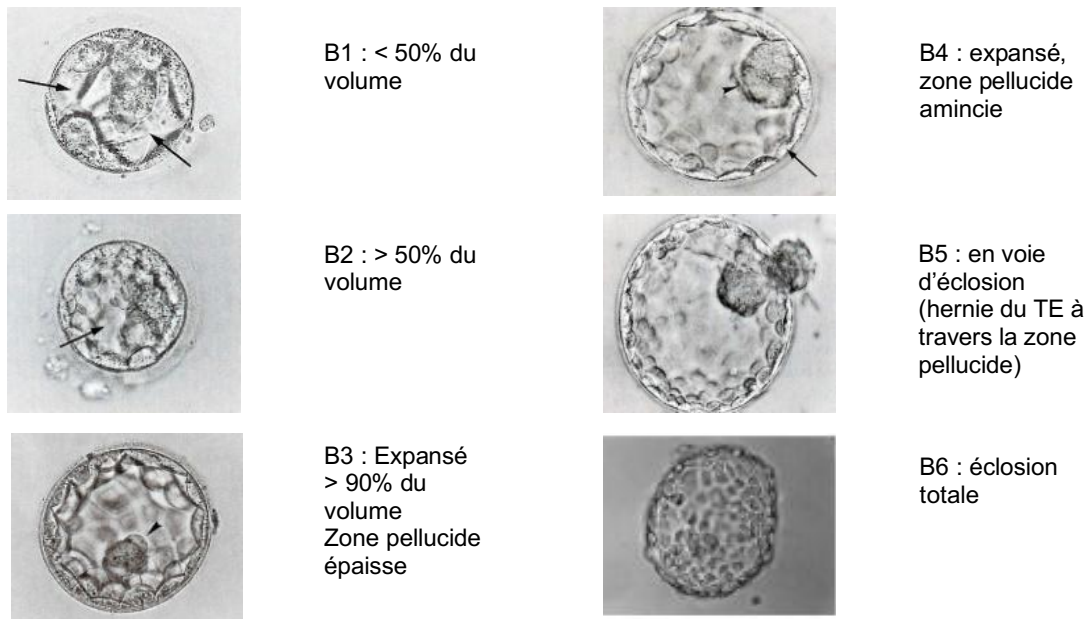


Figure 8. Classification de Gardner et Schoolcraft, 1999. Degré d'expansion du blastocèle.

### Annexe 2.2. Qualité de la Masse cellulaire interne et du Trophectoderme

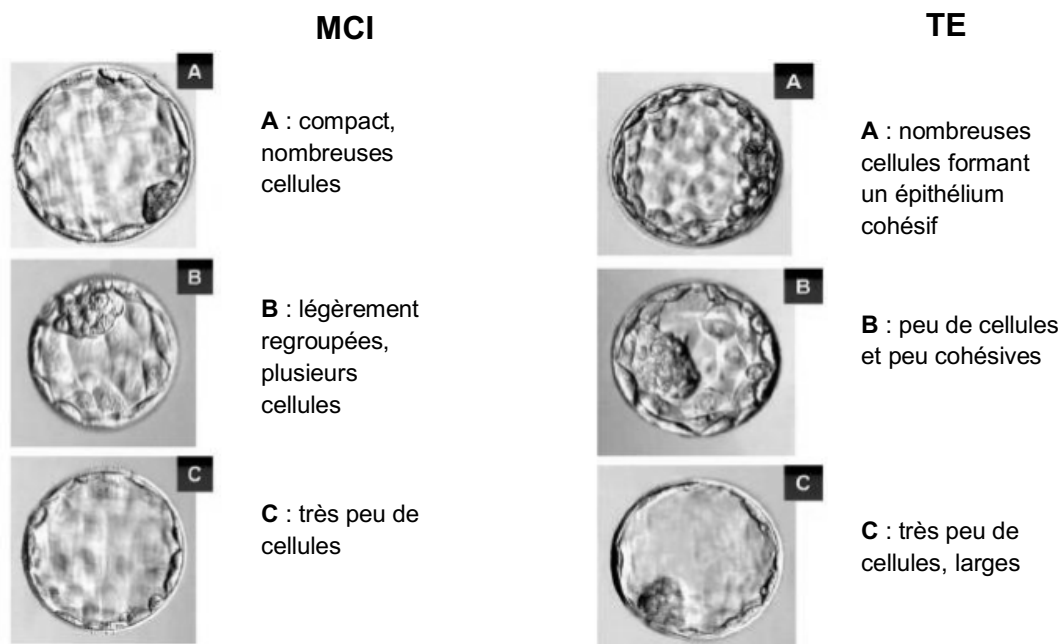


Figure 9. Classification de Gardner et Schoolcraft, 1999. MCI et TE.

### Annexe 3.

#### Annexe 3.1. Évaluation de la qualité embryonnaire dans le groupe J5

Tableau 12. Impact de la qualité embryonnaire dans le groupe J5

J5 (n = 566)				
Degrés d'expansion du blastocèle	B3 (n = 284)	B4 (n = 238)	B5 (n = 46)	p
Grossesse biochimique	62 (21,83%)	66 (27,73%)	13 (28,26%)	ns
Naissance vivante	38 (13,38%)	46 (19,33%)	10 (21,74%)	ns
Qualité embryonnaire	Bonne <sup>a</sup> (n = 316)	Moyenne <sup>b</sup> (n = 104)	Mauvaise <sup>c</sup> (n = 146)	
Grossesse biochimique	91 (28,80%)	26 (25%)	24 (16,44%)	<b>0,006</b> <sup>a&gt;c</sup>
Naissance vivante	62 (19,62%)	18 (17,31%)	14 (9,59%)	<b>0,013</b> <sup>a&gt;c</sup>
MCI	A <sup>a</sup> (n = 159)	B <sup>b</sup> (n = 223)	C <sup>c</sup> (n = 184)	
Grossesse biochimique	52 (32,70%)	55 (24,66%)	34 (18,48%)	<b>0,004</b> <sup>a&gt;c</sup>
Naissance vivante	36 (22,64%)	36 (16,14%)	22 (11,96%)	<b>0,017</b> <sup>a&gt;c</sup>
TE	A <sup>a</sup> (n = 140)	B <sup>b</sup> (n = 214)	C <sup>c</sup> (n = 212)	
Grossesse biochimique	42 (30%)	59 (27,57%)	40 (18,87%)	<b>0,02</b> <sup>a,b&gt;c</sup>
Naissance vivante	29 (20,71%)	41 (19,16%)	24 (11,32%)	<b>0,025</b> <sup>a,b&gt;c</sup>
Clivage précoce	Oui (n = 187)	Non (n = 381)		
Grossesse biochimique	54 (28,88%)	87 (22,83%)		ns
Naissance vivante	40 (21,39%)	54 (14,17%)		<b>0,044</b>

MCI = masse cellulaire interne, TE = Trophectoderme. A,B,C = classification de la MCI et du TE selon Gardner et Schoolcraft.

Bonne qualité = AA, AB, BA et BB ; Qualité moyenne = AC, CA, BC et CB ; Mauvaise qualité = CC.

Les résultats sont décrits en pourcentage.  $p < 0,05$  a été choisi comme seuil de significativité, ns = non significatif

Les éléments en exposant <sup>a,b,c</sup> définissent la significativité.

### Annexe 3.2. Évaluation de la qualité embryonnaire dans le groupe J6

Tableau 13. Impact de la qualité embryonnaire dans le groupe J6

J6 (n = 198)				
Degrés d'expansion du blastocèle	B3 <sup>a</sup> (n = 70)	B4 <sup>b</sup> (n = 98)	B5 <sup>c</sup> (n = 30)	P
Grossesse biochimique	8 (11,43%)	9 (9,18%)	7 (23,33%)	<b>0,047</b> <sup>c&gt;b</sup>
Naissance vivante	5 (7,14%)	5 (5,10%)	5 (16,67%)	ns
Qualité embryonnaire	Bonne <sup>a</sup> (n = 73)	Moyenne <sup>b</sup> (n = 47)	Mauvaise <sup>c</sup> (n = 78)	
Grossesse biochimique	13 (17,81%)	7 (14,89%)	4 (5,13%)	<b>0,02</b> <sup>a&gt;c</sup>
Naissance vivante	9 (12,33%)	3 (6,38%)	3 (3,85%)	ns
MCI	A <sup>a</sup> (n = 27)	B <sup>b</sup> (n = 67)	C <sup>c</sup> (n = 104)	
Grossesse biochimique	7 (25,93%)	8 (11,94%)	9 (8,65%)	<b>0,02</b> <sup>a&gt;c</sup>
Naissance vivante	6 (22,22%)	4 (5,97%)	5 (4,81%)	ns
TE	A <sup>a</sup> (n = 29)	B <sup>b</sup> (n = 70)	C <sup>c</sup> (n = 99)	
Grossesse biochimique	7 (24,14%)	11 (15,17%)	6 (6,06%)	<b>0,008</b> <sup>a,b&gt;c</sup>
Naissance vivante	4 (13,79%)	7 (10%)	4 (4,04%)	ns
Clivage précoce	Oui (n = 33)	Non (n = 165)		
Grossesse biochimique	3 (9,09%)	21 (12,73%)		ns
Naissance vivante	1 (3,03%)	14 (8,48%)		ns

MCI = masse cellulaire interne, TE = Trophectoderme. A,B,C = classification de la MCI et du TE selon Gardner et Schoolcraft.

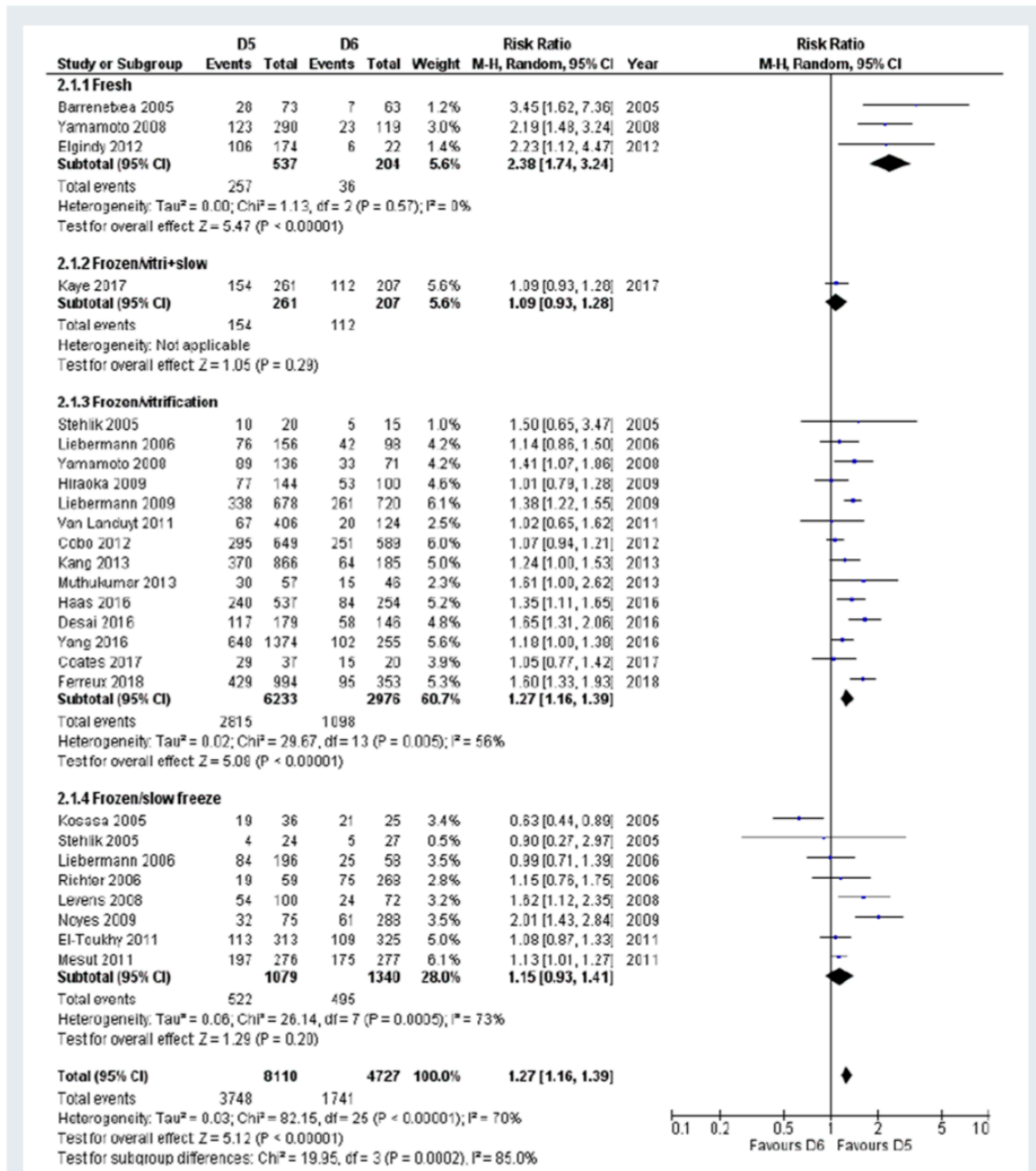
Bonne qualité = AA, AB, BA et BB ; Qualité moyenne = AC, CA, BC et CB ; Mauvaise qualité = CC.

Les résultats sont décrits en pourcentage.  $p < 0,05$  a été choisi comme seuil de significativité, ns = non significatif.

Les éléments en exposant <sup>a,b,c</sup> définissent la significativité.



**Annexe 4. Taux de grossesse clinique des transferts de blastocystes J5 versus J6, selon le type de congélation issu de la Méta-analyse de Bourdon et al (26)**



**Figure 3 Forest plot of studies of D5 versus D6 blastocyst transfers for the outcome of CPR, according to the type of transfer.**

**Figure 10. Taux de grossesse clinique des transferts de blastocystes J5 versus J6 selon le type de congélation. (Méta-analyse de Bourdon et al.)**

## Serment d'Hippocrate

---

En présence des maîtres de cette école, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je dispenserai mes soins sans distinction de race, de religion, d'idéologie ou de situation sociale.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser les crimes.

Je serai reconnaissant envers mes maîtres, et solidaire moralement de mes confrères. Conscient de mes responsabilités envers les patients, je continuerai à perfectionner mon savoir.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir de l'estime des hommes et de mes condisciples, si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

## Comparaison des taux de naissance vivante issue des transferts de blastocystes congelés à J5 versus J6

---

Introduction : Certains embryons se développent plus lentement et n'atteignent le stade de blastocyste qu'au 6<sup>ème</sup> jour de développement. Ce travail a pour but d'évaluer l'effet de ce retard de blastulation sur les résultats des transferts d'embryons congelés et d'analyser la qualité de chaque blastocyste afin de déterminer les paramètres permettant de sélectionner l'embryon le plus apte à s'implanter. De plus nous avons étudié l'impact du mode de préparation endométrial.

Matériel et méthode : Il s'agit d'une étude rétrospective monocentrique, incluant 766 blastocystes vitrifiés, transférés de janvier 2018 à décembre 2019 dans le centre d'AMP du CHU de Clermont-Ferrand. Deux groupes ont été comparés, 568 embryons appartenant au groupe J5 et 166 au groupe J6.

Résultats : Le taux de naissance vivante était plus élevé dans le groupe J5 comparé au groupe J6 (16,55% *versus* 7,58%). Il n'y avait pas de différence significative concernant le taux de fausse couche. Les embryons étaient de meilleure qualité dans le groupe J5 (55,83% *versus* 36,87%). Le mode de préparation endométrial n'a pas impacté le taux de naissance vivante.

Conclusion : Le retard de développement des blastocystes a un impact négatif sur le taux de naissance vivante et cela serait corrélé à leur qualité embryonnaire. Les résultats sont par ailleurs moins affectés par le mode de préparation endométrial. Une sélection plus sévère des blastocystes présentant un retard de développement pourrait être envisager mais d'autres investigations sur les causes de ce retard de blastulation seraient intéressantes.

---

Mots-clés : Transfert d'embryon congelé, taux de naissance vivante, blastocystes J5 versus blastocystes J6, vitrification, qualité embryonnaire

## Comparison of live birth rates from frozen blastocyst transfers at D5 versus D6

---

Introduction: Some embryos develop more slowly and don't reach the blastocyst stage until the 6<sup>th</sup> day of development. The aim of this work is to evaluate the effect of this blastulation delay on the results of frozen embryo transfers and to analyze the quality of each blastocyst in order to determine the parameters for selecting the most suitable embryo for implantation. We also studied the impact of the endometrial preparation method.

Material and method: This is a monocentric retrospective study, including 766 vitrified blastocysts, transferred from January 2018 to December 2019 in AMP center of the Clermont-Ferrand University Hospital. Two groups were compared, 568 embryos belonging to group day 5 and 166 to group day 6.

Results: The live birth rate was higher in group D5 compared to group D6 (16,55% *versus* 7,58%). There was no significant difference in the miscarriage rate. The embryos were better quality in group D5 (55,83% *versus* 36,87%). The endometrial preparation method did not impact the live birth rate.

Conclusion: Blastocyst development delay has a negative impact on the live birth rate and this would be correlated with embryo quality. The results are also less affected by the method of endometrial preparation. A more severe selection of blastocysts with developmental delay could be considered but more investigations into the causes of this blastulation delay would be interesting.

---

Keywords : Frozen embryo transfer, live birth rate, blastocyst day 5 versus day 6, vitrification, embryo quality

