



HAL
open science

**Facteurs prédictifs d'embryons sans projet parental :
étude de cohorte rétrospective de 1621 ponctions
ovocytaires au CHRU de Nancy**

Brieuc Lefaure

► **To cite this version:**

Brieuc Lefaure. Facteurs prédictifs d'embryons sans projet parental : étude de cohorte rétrospective de 1621 ponctions ovocytaires au CHRU de Nancy. Sciences du Vivant [q-bio]. 2017. hal-01932240

HAL Id: hal-01932240

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01932240>

Submitted on 23 Nov 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

2017

MÉMOIRE
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES
DE BIOLOGIE MÉDICALE

Présentée et soutenue publiquement
dans le cadre du troisième cycle de Médecine Spécialisée
par

Brieuc LEFAURE

Le 3 octobre 2017

**FACTEURS PREDICTIFS D'EMBRYONS SANS PROJET PARENTAL :
ETUDE DE COHORTE RETROSPECTIVE DE 1621 PONCTIONS
OVOCYTAIRES AU CHRU DE NANCY**

Conformément aux dispositions du décret n°90-810
du 10 septembre 1990, ce mémoire tient lieu de

THÈSE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR DE MÉDECINE

Examineurs de la thèse :

M. le Professeur Olivier MOREL

Président de thèse

Mme le Professeur Danièle BENSOUSSAN

Juge

Mme le Docteur Isabelle KOSCINSKI

Juge – Directrice de thèse

Mme le Docteur Catherine DILIGENT

Juge



**UNIVERSITÉ
DE LORRAINE**



FACULTÉ de MÉDECINE
NANCY

**Président de l'Université de Lorraine :
Professeur Pierre MUTZENHARDT**

**Doyen de la Faculté de Médecine
Professeur Marc BRAUN**

Vice-doyens

Pr Karine ANGIOI-DUPREZ, Vice-Doyen

Pr Marc DEBOUVERIE, Vice-Doyen

Asseseurs :

Premier cycle : Pr Guillaume GAUCHOTTE

Deuxième cycle : Pr Marie-Reine LOSSER

Troisième cycle : Pr Marc DEBOUVERIE

Innovations pédagogiques : Pr Bruno CHENUUEL

Formation à la recherche : Dr Nelly AGRINIER

Affaires juridiques et Relations extérieures : Dr Frédérique CLAUDOT

Vie Facultaire et SIDES : Pr Laure JOLY

Relations Grande Région : Pr Thomas FUCHS-BUDER

Chargés de mission

Bureau de docimologie : Dr Guillaume VOGIN

Commission de prospective facultaire : Pr Pierre-Edouard BOLLAERT

Orthophonie : Pr Cécile PARIETTI-WINKLER

PACES : Dr Mathias POUSSEL

Plan Campus : Pr Bruno LEHEUP

International : Pr Jacques HUBERT

=====

DOYENS HONORAIRES

Professeur Jean-Bernard DUREUX - Professeur Jacques ROLAND - Professeur Patrick NETTER - Professeur Henry COUDANE

=====

PROFESSEURS HONORAIRES

Etienne ALIOT - Jean-Marie ANDRE - Alain AUBREGE - Gérard BARROCHE - Alain BERTRAND - Pierre BEY
 Marc-André BIGARD - Patrick BOISSEL - Pierre BORDIGONI - Jacques BORRELLY - Michel BOULANGE
 Jean-Louis BOUTROY - Serge BRIANÇON - Jean-Claude BURDIN - Claude BURLET - Daniel BURNEL - Claude CHARDOT
 Jean-François CHASSAGNE - François CHERRIER - Jean-Pierre CRANCE - Gérard DEBRY - Emile de LAVERGNE
 Jean-Pierre DESCHAMPS - Jean DUHEILLE - Jean-Bernard DUREUX - Gilbert FAURE - Gérard FIEVE - Bernard FOLIGUET
 Jean FLOQUET - Robert FRISCH - Alain GAUCHER - Pierre GAUCHER - Professeur Jean-Luc GEORGE - Alain GERARD
 Hubert GERARD - Jean-Marie GILGENKRANTZ - Simone GILGENKRANTZ - Gilles GROSIDIER - Oliéro GUERCI
 Philippe HARTEMANN - Gérard HUBERT - Claude HURIET - Christian JANOT - Michèle KESSLER - François KOHLER
 Jacques LACOSTE - Henri LAMBERT - Pierre LANDES - Marie-Claire LAXENAIRE - Michel LAXENAIRE - Alain LE FAOU
 Jacques LECLERE - Pierre LEDERLIN - Bernard LEGRAS - Jean-Pierre MALLIÉ - Philippe MANGIN - Jean-Claude MARCHAL
 - Yves MARTINET - Pierre MATHIEU - Michel MERLE - Pierre MONIN - Pierre NABET - Patrick NETTER - Jean-Pierre NICOLAS -
 Pierre PAYSANT - Francis PENIN - Gilbert PERCEBOIS - Claude PERRIN - Luc PICARD - François PLENAT - Jean-Marie POLU
 Jacques POUREL - Jean PREVOT - Francis RAPHAEL - Antoine RASPILLER - Denis REGENT - Michel RENARD
 Jacques ROLAND - Daniel SCHMITT - Michel SCHMITT - Michel SCHWEITZER - Daniel SIBERTIN-BLANC - Claude SIMON
 Danièle SOMMELET - Jean-François STOLTZ - Michel STRICKER - Gilbert THIBAUT - Gérard VAILLANT - Paul VERT
 Hervé VESPIGNANI - Colette VIDAILHET - Michel VIDAILHET - Jean-Pierre VILLEMOT - Michel WEBER

=====

PROFESSEURS ÉMÉRITES

Professeur Etienne ALIOT - Professeur Gérard BARROCHE - Professeur Serge BRIANÇON - Professeur Jean-Pierre CRANCE - Professeur Gilbert FAURE - Professeur Bernard FOLIGUET – Professeur Alain GERARD - Professeur Gilles GROSDIDIER

Professeur Philippe HARTEMANN - Professeur François KOHLER - Professeur Alain LE FAOU - Professeur Jacques LECLERE - Professeur Yves MARTINET – Professeur Patrick NETTER - Professeur Jean-Pierre NICOLAS – Professeur Luc PICARD - Professeur François PLENAT - Professeur Jean-François STOLTZ

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

(Disciplines du Conseil National des Universités)

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{ère} sous-section : *(Anatomie)*

Professeur Marc BRAUN – Professeure Manuela PEREZ

2^{ème} sous-section : *(Histologie, embryologie et cytogénétique)*

Professeur Christo CHRISTOV

3^{ème} sous-section : *(Anatomie et cytologie pathologiques)*

Professeur Jean-Michel VIGNAUD – Professeur Guillaume GAUCHOTTE

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1^{ère} sous-section : *(Biophysique et médecine nucléaire)*

Professeur Gilles KARCHER – Professeur Pierre-Yves MARIE – Professeur Pierre OLIVIER

2^{ème} sous-section : *(Radiologie et imagerie médicale)*

Professeur René ANXIONNAT - Professeur Alain BLUM - Professeur Serge BRACARD - Professeur Michel CLAUDON

Professeure Valérie CROISÉ-LAURENT - Professeur Jacques FELBLINGER - Professeur Pedro GONDIM TEIXEIRA

44^{ème} Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{ère} sous-section : *(Biochimie et biologie moléculaire)*

Professeur Jean-Louis GUEANT - Professeur Bernard NAMOUR - Professeur Jean-Luc OLIVIER

2^{ème} sous-section : *(Physiologie)*

Professeur Christian BEYAERT - Professeur Bruno CHENUÉL - Professeur François MARCHAL

4^{ème} sous-section : *(Nutrition)*

Professeur Didier QUILLIOT - Professeure Rosa-Maria RODRIGUEZ-GUEANT - Professeur Olivier ZIEGLER

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{ère} sous-section : *(Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière)*

Professeur Alain LOZNIEWSKI – Professeure Evelyne SCHVOERER

2^{ème} sous-section : *(Parasitologie et Mycologie)*

Professeure Marie MACHOUART

3^{ème} sous-section : *(Maladies infectieuses ; maladies tropicales)*

Professeur Thierry MAY - Professeure Céline PULCINI - Professeur Christian RABAUD

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{ère} sous-section : *(Épidémiologie, économie de la santé et prévention)*

Professeur Francis GUILLEMIN - Professeur Denis ZMIROU-NAVIER

3^{ème} sous-section : *(Médecine légale et droit de la santé)*

Professeur Henry COUDANE

4^{ème} sous-section : *(Biostatistiques, Informatique médicale et technologies de communication)*

Professeure Eliane ALBUISSON - Professeur Nicolas JAY

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{ère} sous-section : *(Hématologie ; transfusion)*

Professeur Pierre FEUGIER

2^{ème} sous-section : *(Cancérologie ; radiothérapie)*

Professeur Thierry CONROY - Professeur François GUILLEMIN - Professeur Didier PEIFFERT - Professeur Frédéric MARCHAL

3^{ème} sous-section : *(Immunologie)*

Professeur Marcelo DE CARVALHO-BITTENCOURT - Professeure Marie-Thérèse RUBIO

4^{ème} sous-section : *(Génétique)*

Professeur Philippe JONVEAUX - Professeur Bruno LEHEUP

48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE

1^{ère} sous-section : (Anesthésiologie-réanimation)

Professeur Gérard AUDIBERT - Professeur Hervé BOUAZIZ - Professeur Thomas FUCHS-BUDER
Professeure Marie-Reine LOSSER - Professeur Claude MEISTELMAN

2^{ème} sous-section : (Réanimation)

Professeur Pierre-Édouard BOLLAERT - Professeur Sébastien GIBOT - Professeur Bruno LÉVY

3^{ème} sous-section : (Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie)

Professeur Pierre GILLET - Professeur Jean-Yves JOUZEAU

4^{ème} sous-section : (Thérapeutique ; addictologie)

Professeur François PAILLE - Professeur Patrick ROSSIGNOL – Professeur Faiez ZANNAD

49^{ème} Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP ET RÉÉDUCATION

1^{ère} sous-section : (Neurologie)

Professeur Marc DEBOUVERIE - Professeur Louis MAILLARD - Professeur Luc TAILLANDIER - Professeure Louise TYVAERT

2^{ème} sous-section : (Neurochirurgie)

Professeur Jean AUQUE - Professeur Thierry CIVIT - Professeure Sophie COLNAT-COULBOIS - Professeur Olivier KLEIN

3^{ème} sous-section : (Psychiatrie d'adultes ; addictologie)

Professeur Jean-Pierre KAHN - Professeur Raymund SCHWAN

4^{ème} sous-section : (Pédopsychiatrie ; addictologie)

Professeur Bernard KABUTH

5^{ème} sous-section : (Médecine physique et de réadaptation)

Professeur Jean PAYSANT

50^{ème} Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE ET CHIRURGIE PLASTIQUE

1^{ère} sous-section : (Rhumatologie)

Professeure Isabelle CHARY-VALCKENAERE - Professeur Damien LOEUILLE

2^{ème} sous-section : (Chirurgie orthopédique et traumatologique)

Professeur Laurent GALOIS - Professeur Didier MAINARD - Professeur Daniel MOLE - Professeur François SIRVEAUX

3^{ème} sous-section : (Dermato-vénéréologie)

Professeur Jean-Luc SCHMUTZ

4^{ème} sous-section : (Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie)

Professeur François DAP - Professeur Gilles DAUTEL - Professeur Etienne SIMON

51^{ème} Section : PATHOLOGIE CARDIO-RESPIRATOIRE ET VASCULAIRE

1^{ère} sous-section : (Pneumologie ; addictologie)

Professeur Jean-François CHABOT - Professeur Ari CHAOUAT

2^{ème} sous-section : (Cardiologie)

Professeur Edoardo CAMENZIND - Professeur Christian de CHILLOU DE CHURET - Professeur Yves JUILLIERE

Professeur Nicolas SADOUL

3^{ème} sous-section : (Chirurgie thoracique et cardiovasculaire)

Professeur Thierry FOLLIGUET - Professeur Juan-Pablo MAUREIRA

4^{ème} sous-section : (Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire)

Professeur Sergueï MALIKOV - Professeur Denis WAHL – Professeur Stéphane ZUILY

52^{ème} Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF ET URINAIRE

1^{ère} sous-section : (Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie)

Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI - Professeur Laurent PEYRIN-BIROULET

3^{ème} sous-section : (Néphrologie)

Professeur Luc FRIMAT - Professeure Dominique HESTIN

4^{ème} sous-section : (Urologie)

Professeur Pascal ESCHWEGE - Professeur Jacques HUBERT

53^{ème} Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE, CHIRURGIE GÉNÉRALE ET MÉDECINE GÉNÉRALE

1^{ère} sous-section : (Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie)

Professeur Athanase BENETOS - Professeur Jean-Dominique DE KORWIN - Professeure Gisèle KANNY

Professeure Christine PERRET-GUILLAUME – Professeur Roland JAUSSAUD – Professeure Laure JOLY

2^{ème} sous-section : (Chirurgie générale)

Professeur Ahmet AYAV - Professeur Laurent BRESLER - Professeur Laurent BRUNAUD

3^{ème} sous-section : (Médecine générale)

Professeur Jean-Marc BOIVIN – Professeur Paolo DI PATRIZIO

54^{ème} Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION

1^{ère} sous-section : (Pédiatrie)

Professeur Pascal CHASTAGNER - Professeur François FEILLET - Professeur Jean-Michel HASCOET
Professeur Emmanuel RAFFO - Professeur Cyril SCHWEITZER

2^{ème} sous-section : (Chirurgie infantile)

Professeur Pierre JOURNEAU - Professeur Jean-Louis LEMELLE

3^{ème} sous-section : (Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale)

Professeur Philippe JUDLIN - Professeur Olivier MOREL

4^{ème} sous-section : (Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale)

Professeur Bruno GUERCI - Professeur Marc KLEIN - Professeur Georges WERYHA

55^{ème} Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU

1^{ère} sous-section : (Oto-rhino-laryngologie)

Professeur Roger JANKOWSKI - Professeure Cécile PARIETTI-WINKLER

2^{ème} sous-section : (Ophtalmologie)

Professeure Karine ANGIOI - Professeur Jean-Paul BERROD

3^{ème} sous-section : (Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie)

Professeure Muriel BRIX

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

61^{ème} Section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL

Professeur Walter BLONDEL

64^{ème} Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Professeure Sandrine BOSCHI-MULLER - Professeur Pascal REBOUL

65^{ème} Section : BIOLOGIE CELLULAIRE

Professeure Céline HUSELSTEIN

=====

PROFESSEUR ASSOCIÉ DE MÉDECINE GÉNÉRALE

Professeur associé Sophie SIEGRIST

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{ère} sous-section : (Anatomie)

Docteur Bruno GRIGNON

2^{ème} sous-section : (Histologie, embryologie et cytogénétique)

Docteure Chantal KOHLER

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1^{ère} sous-section : (Biophysique et médecine nucléaire)

Docteur Antoine VERGER (stagiaire)

2^{ème} sous-section : (Radiologie et imagerie médicale)

Docteur Damien MANDRY

44^{ème} Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{ère} sous-section : (Biochimie et biologie moléculaire)

Docteure Shyue-Fang BATTAGLIA - Docteure Sophie FREMONT - Docteure Isabelle AIMONE-GASTIN

Docteure Catherine MALAPLATE-ARMAND - Docteur Marc MERTEN - Docteur Abderrahim OUSSALAH

2^{ème} sous-section : (Physiologie)

Docteure Silvia DEMOULIN-ALEXIKOVA - Docteur Mathias POUSSEL – Docteur Jacques JONAS (stagiaire)

3^{ème} sous-section : (Biologie Cellulaire)

Docteure Véronique DECOT-MAILLERET

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{ère} sous-section : (Bactériologie – Virologie ; hygiène hospitalière)

Docteure Corentine ALAUZET - Docteure Hélène JEULIN - Docteure Véronique VENARD

2^{ème} sous-section : (Parasitologie et mycologie)

Docteure Anne DEBOURGOGNE

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{ère} sous-section : (*Epidémiologie, économie de la santé et prévention*)

Docteure Nelly AGRINIER - Docteur Cédric BAUMANN - Docteure Frédérique CLAUDOT - Docteur Alexis HAUTEMANIÈRE

2^{ème} sous-section (*Médecine et Santé au Travail*)

Docteure Isabelle THAON

3^{ème} sous-section (*Médecine légale et droit de la santé*)

Docteur Laurent MARTRILLE

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{ère} sous-section : (*Hématologie ; transfusion*)

Docteure Aurore PERROT – Docteur Julien BROSEUS

2^{ème} sous-section : (*Cancérologie ; radiothérapie*)

Docteure Lina BOLOTINE – Docteur Guillaume VOGIN

4^{ème} sous-section : (*Génétique*)

Docteure Céline BONNET

48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE

2^{ème} sous-section : (*Réanimation ; Médecine d'urgence*)

Docteur Antoine KIMMOUN

3^{ème} sous-section : (*Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie*)

Docteur Nicolas GAMBIER - Docteure Françoise LAPICQUE - Docteur Julien SCALA-BERTOLA

4^{ème} sous-section : (*Thérapeutique ; Médecine d'urgence ; addictologie*)

Docteur Nicolas GIRERD

50^{ème} Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE ET CHIRURGIE PLASTIQUE

1^{ère} sous-section : (*Rhumatologie*)

Docteure Anne-Christine RAT

3^{ème} sous-section : (*Dermato-vénéréologie*)

Docteure Anne-Claire BURSZTEJN

4^{ème} sous-section : (*Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie*)

Docteure Laetitia GOFFINET-PLEUTRET

51^{ème} Section : PATHOLOGIE CARDIO-RESPIRATOIRE ET VASCULAIRE

3^{ème} sous-section : (*Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire*)

Docteur Fabrice VANHUYSE

52^{ème} Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF ET URINAIRE

1^{ère} sous-section : (*Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie*)

Docteur Jean-Baptiste CHEVAUX – Docteur Anthony LOPEZ (stagiaire)

53^{ème} Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE, CHIRURGIE GÉNÉRALE ET MÉDECINE GÉNÉRALE

2^{ème} sous-section : (*Chirurgie générale*)

Docteur Cyril PERRENOT (stagiaire)

3^{ème} sous-section : (*Médecine générale*)

Docteure Elisabeth STEYER

54^{ème} Section : DEVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION

5^{ème} sous-section : (*Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale*)

Docteure Isabelle KOSCINSKI

55^{ème} Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU

1^{ère} sous-section : (*Oto-Rhino-Laryngologie*)

Docteur Patrice GALLET

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

5^{ème} Section : SCIENCES ÉCONOMIQUES

Monsieur Vincent LHUILLIER

7^{ème} Section : SCIENCES DU LANGAGE : LINGUISTIQUE ET PHONETIQUE GENERALES

Madame Christine DA SILVA-GENEST

19^{ème} Section : SOCIOLOGIE, DÉMOGRAPHIE

Madame Joëlle KIVITS

64^{ème} Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Madame Marie-Claire LANHERS - Monsieur Nick RAMALANJAONA

65^{ème} Section : BIOLOGIE CELLULAIRE

Madame Nathalie AUCHET - Madame Natalia DE ISLA-MARTINEZ - Monsieur Jean-Louis GELLY - Madame Ketsia HESS
Monsieur Hervé MEMBRE - Monsieur Christophe NEMOS

66^{ème} Section : PHYSIOLOGIE

Monsieur Nguyen TRAN

=====
MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE

Docteur Pascal BOUCHE – Docteur Olivier BOUCHY - Docteur Arnaud MASSON – Docteur Cédric BERBE
Docteur Jean-Michel MARTY

=====
DOCTEURS HONORIS CAUSA

Professeur Charles A. BERRY (1982)
Centre de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)
Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982)
Brown University, Providence (U.S.A)
Professeure Mildred T. STAHLMAN (1982)
Vanderbilt University, Nashville (U.S.A)
Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989)
Institut d'Anatomie de Würzburg (R.F.A)
Université de Pennsylvanie (U.S.A)
Professeur Mashaki KASHIWARA (1996)
*Research Institute for Mathematical Sciences de
Kyoto (JAPON)*

Professeure Maria DELIVORIA-PAPADOPOULOS
(1996)
Professeur Ralph GRÄSBECK (1996)
Université d'Helsinki (FINLANDE)
Professeur Duong Quang TRUNG (1997)
Université d'Hô Chi Minh-Ville (VIËTNAM)
Professeur Daniel G. BICHET (2001)
Université de Montréal (Canada)
Professeur Marc LEVENSTON (2005)
Institute of Technology, Atlanta (USA)

Professeur Brian BURCHELL (2007)
Université de Dundee (Royaume-Uni)
Professeur Yunfeng ZHOU (2009)
Université de Wuhan (CHINE)
Professeur David ALPERS (2011)
Université de Washington (U.S.A)
Professeur Martin EXNER (2012)
Université de Bonn (ALLEMAGNE)

REMERCIEMENTS

A notre Maître et Président

Monsieur le Professeur Olivier MOREL,

Professeur en Médecine, Service de Gynécologie Obstétrique, CHRU de Nancy

Vous nous faites l'honneur d'accepter la présidence du jury de cette thèse
Soyez assuré de notre plus profond respect et de notre reconnaissance.

A notre Maître et Juge

Madame le Professeur Danièle BENSOUSSAN

Professeur en Pharmacie, Unité de Thérapie Cellulaire et banque de Tissu, CHRU Nancy

Pour nous faire l'honneur de juger cette thèse
Que cette thèse soit le reflet de notre profond respect et de notre gratitude.

A notre Juge

Madame le Docteur Isabelle KOSCINSKI

Maître de Conférence des Universités et Docteur en Médecine, Laboratoire de Biologie de la Reproduction, CHRU de Nancy

Vous m'avez fait l'honneur de me confier ce travail, de le diriger et de le juger Merci pour vos conseils et votre disponibilité qui ont permis l'aboutissement de ce travail.

A notre Juge

Madame le Docteur Catherine DILIGENT

Docteur en Médecine, Laboratoire de Biologie de la Reproduction, CHRU de Nancy

Je te remercie pour ces bons moments passés au laboratoire,
pour ton soutien et pour tout ce que tu m'as transmis.

A ma Famille,

A **mes parents**, merci pour l'amour que vous nous donnez, pour les valeurs que vous nous avez inculquées... Maman, des dictées du dimanche matin aux bons petits plats en p1, tu es notre premier soutien. Papa, tu es mon exemple, cette date du 3 octobre n'a pas été choisie au hasard... tu nous as emmenés à toutes nos rentrées scolaires, la prochaine aura lieu en novembre, et elle aura un parfum tout particulier, j'ai hâte

A **Jaumie**, merci pour ton amour, tu es toujours là pour me soutenir... je suis fier de toi et j'attends avec impatience la venue de Léon(e) et ce que cela implique

A mes sœurs, **Agathe**, pour toutes ces années de médecine à tes côtés, c'est en grande partie grâce à toi que j'ai réussi cette première année; **Chloé**, « Cookie », notre expérimentatrice en chef, Martin à de la chance d'avoir une tante comme toi, il va pouvoir tester plein de bêtises; et **Margaux**, la prochaine thèse de la famille sera la tienne (enfin j'espère :p), vivement ton pot pour toi la reine de l'apéro ! On me dit toujours qu'avoir trois sœurs n'a pas dû être facile tous les jours, mais je n'échangerais ça pour rien au monde. Ce soir, c'est moi qui offre le champagne mais j'espère boire le vôtre très prochainement ☺

A **Thomas, Charles et Martinos**, vivement les soirées Champions League à Epinal City

A **Kiki**, ton diabète t'a empêchée de voir les slides aujourd'hui, mais tu dois avoir hâte de goûter les petits fours !

A **Papi Jean-Pierre**, j'aurais aimé que tu sois présent aujourd'hui, je pense fort à toi

A **Mamie Jo**, mamie gâteaux, mamie iPhone et MacBook Pro, merci pour tous ces mercredis après-midi de folie aux Forges et pour ces beaux étés à Beauvallon (passés et à venir)

A **Papi et Mamie Marlène**, pour tous ces pneus crevés au petit parc, je mets une bouteille de champagne de côté pour fêter cet évènement ensemble

A **Philou, Nathalie et Tintin** (plus qu'un cousin), sans oublier **Paul**, et toute l'animalerie ;-)

A **Fab' la rage** et **Beber**, merci pour ces belles soirées tarot, les balades en bateau, à quand l'initiation au wakeboard ?

A **Coline, Julien et Eva**, vous formez une belle famille

A **Martine**, ma marraine

Aux **Chatron**, notre deuxième famille

A mes Amis,

A **Paul-Emile, FRIGOOO !!** Mon binôme de baby-foot ! J'ai vibré à tes côtés à l'asso, on laissera à jamais notre trace à la fac et j'en suis fier. Tu m'as vendu du rêve jusque dans les Alpes avec tes 8 célèbres passages au water-slide qui resteront dans les annales !

A **Sachat'**, tu aurais pu être chirurgien dentiste mais tu ne seras qu'un vulgaire biologiste comme moi, en tout cas je ne regrette pas ces belles années d'externat entre la corne d'or (qui a déposé le bilan depuis qu'on a déménagé), ton appart rue Jeanne d'Arc et les tournois de fléchettes chez Rémy !

A **Vuthy**, notre Chinois préféré, un homme toujours surprenant mais tellement attachant

A **Nico**, le BG, notre Major, je n'oublierai jamais cette bière à l'Irlandais, l'internat n'avait pas encore commencé... Seulement deux semestres réellement à tes côtés, mais j'espère que nous rattraperons ce retard

A **Alex**, ce petit « Biolia » glissé au coin d'un PSM en 2013 et ce semestre en hématologie resteront gravés dans ma mémoire. Ils ne savent pas encore la chance qu'ils ont de t'avoir à Marlenheim, Dr Saula JR !

A **Anaëlle**, did's le bourdon, notre maman, notre skieuse russe, sérieuse jusqu'au bout ! J'ai hâte de voir ta thèse, elle va être canon après ces trois années de préparation ☺

A **Brice**, notre futur PU-PH, un compétiteur hors pair, une gentillesse débordante, nos jorky vont me manquer

A **Hélène** et à tous ses amours, heureusement qu'ils ne sont pas tous présents ce soir, ça m'aurait coûté cher en champagne !!

A **Charles**, ce pilote, toujours de bonne humeur, j'espère que ton hallux s'est remis des jorky de Nancy

A **Rémy** et à toutes les femmes qui bavaient en te regardant à Brabois, quel mâle !

A **Alain** (Président!) et **Loïc**, les maîtres incontestés de l'œnologie

A **PFT**, El Profesor, quel savoir ! Tu m'impressionneras toujours

A **Kebb's** (spéciale dédicace merci pour ton aide l'informaticien kebbabos), **l'agent Mouginot** et **Charlotte Felici**, la plus petite promo en effectif mais le plus grand nombre de point garde de l'histoire de la biologie de Nancy

A **Delphine** (Professeur Gérard!) et **Benoit** (All-in!), **Lucie** (et ses Chabasseries !), **Alexandra** et **Fx**, et aux autres internes de biologie de Nancy, merci pour ces belles années

A **Sam'** et **Lauriane**, pour nous prouver que certains internes travaillent pour de vrai

Aux ophtalmos (**Marie-Laure**, **Dr Leroy**, **Fanny**, **Nabil**), pour les fessées qu'on vous a mises au billard ☺

A **Litch'**, pour avoir partagé des grands moments autour d'une bonne entrecôte maitre d'hôtel au Café de Paris, rue Buci ! Litchinko Frigooooo !!!

A **Maude**, Shakira, les déodatiens ont beaucoup de chance de t'avoir

A **Paul-Edouard Lambolez**, prépare ton fer 2 j'arrive à Epinal !

A **Thibaut Jacquemer**, tu es parti trop tôt, je pense à toi queuedel

Au laboratoire d'AMP de Nancy, l'incontournable **Coco tabasco**, **BB** et sa mythique double injection de spz, la tornade **Sab** (le travail trépasse), **Songul** (j'ai changé de parfum j'espère qu'il te plait ☺), **Florence**, quel plaisir de travailler avec toi, **MOB** et ses célèbres houuuuuu !!!, **miss Bourquin** un amour, **Martine** la reine de la spermologie, **Kamal** et **Sylvie** les novices... les biologistes, **Catherine**, **Isabelle**, **Christel** et **Laure**, merci pour ce que vous m'avez transmis, vos sourires et votre bonne humeur (prenez soin de mon petit Nicolas ☺)

Aux gynécologues d'AMP de Nancy, merci pour votre accueil, ces staffs du mardi vont me manquer.

A mes co-internes d'AMP, **Professeur de Souza**, ces bons moments passés à tes côtés lors des staff clinico-bio ☺, **Dr Rouche**, ce beau mâle tellement poilu mais sexy à souhait.

Mention spéciale à **Pénélope**, ta place est réservée à Epinal (mais n'oublie pas, vouvoiement et café obligatoires), **Isabelle** et **Marie-Line**

A **Delphine Mansuy**, je ne sais toujours pas si l'article devait être écrit en anglais britannique ou américain, mais un grand merci d'avoir corrigé mon anglais vosgien ☺

A **Sylvain Salignac**, **Marie T-H**, **Brigitte Dousset**, **Anne Debourgogne** merci pour ces bons moments passés dans les laboratoires du CHRU (et ailleurs... le Bonaparte)

A **Jean-Luc Olivier** et **Julien Perrin**, pour votre implication dans l'organisation de l'internat en biologie à Nancy, j'ai été heureux de partager des responsabilités à vos côtés

A **JB**, **Marius**, **Laetitia**, **Isabelle**, **Françoise**, **Elodie**, **Maïté**, **Cerise**, **Sophie**, **Zabeth'**, **Nathalie** et toutes les personnes rencontrées au CMCO durant mon inter-CHU strasbourgeois

Je remercie aussi l'ensemble des biologistes et des techniciens pour le temps qu'ils ont accordé à notre formation.

SERMENT

« **A**u moment d'être admis à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçu à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré et méprisé si j'y manque ».

Table des matières

| | |
|---|-----------|
| ABREVIATIONS | 16 |
| PRESENTATION DU SUJET | 17 |
| 1 INTRODUCTION..... | 18 |
| 2 LA CRYOCONSERVATION EMBRYONNAIRE | 19 |
| 2.1 Généralités..... | 19 |
| 2.2 Le principe..... | 21 |
| 2.3 La congélation lente | 22 |
| 2.4 La vitrification embryonnaire | 23 |
| 2.5 Dispositifs pour la vitrification..... | 25 |
| 2.6 Les cryoprotecteurs..... | 27 |
| 3 LA LEGISLATION | 28 |
| 3.1 Statut de l'embryon en France | 28 |
| 3.2 L'AMP à l'étranger..... | 28 |
| 4 QUEL AVENIR POUR LES EMBRYONS CONGELES ? | 30 |
| 4.1 Le projet parental | 30 |
| 4.2 La représentation de l'embryon | 31 |
| 5 LES EMBRYONS CONGELES DANS LE CENTRE D'AMP DU CHRU DE NANCY | 33 |
| ARTICLE | 36 |
| INTRODUCTION | 38 |
| MATERIALS AND METHODS..... | 39 |
| RESULTS | 41 |
| DISCUSSION | 46 |
| REFERENCES | 49 |
| CONCLUSION ET PERSPECTIVES | 51 |
| 1 LA CULTURE PROLONGEE | 52 |
| 2 LA VITRIFICATION OVOCYTAIRE | 53 |
| 3 LE DON D'OVOCYTES..... | 57 |
| BIBLIOGRAPHIE | 60 |

Abréviations

ABM : Agence de la biomédecine

AMP : Aide médicale à la procréation

ARS : Agence régionale de santé

ART : *Assisted reproductive technology*

BHN : acte de biologie hors nomenclature

BLEFCO : Biologistes des Laboratoires d'Etudes de la Fécondation et de la Conservation de l'Oeuf

CECOS : Centre d'Etudes et de Conservation des Œufs et du Sperme

CHRU : Centre Hospitalier Régional Universitaire

CP : Culture prolongée

CSP : Code de la santé publique

DMSO : Diméthylsulfoxyde

FIV : Fécondation *in vitro*

ICSI : *IntraCytoplasmic Sperm Injection*

IVF : *in vitro fertilization*

HAS : Haute Autorité de Santé

MII : métaphase II

MIG : Mission d'intérêt général

NABM : Nomenclature des actes de biologie médicale

PCOS : *Polycystic ovary syndrome*

RIHN : Référentiel des actes innovants hors nomenclature

SA : Semaine d'aménorrhée

SER : *surplus embryo risk*

SOPK : Syndrome des ovaires polykystiques

TEC : Transfert d'embryon congelé

TEF : Transfert d'embryon frais

TGI : Tribunal de grande instance

UV : Ultra-violet

PRESENTATION DU SUJET

1 Introduction

L'assistance médicale à la procréation (AMP) permet à de nombreux couples en âge de procréer et infertiles de devenir parents. L'infertilité, définie comme l'impossibilité pour un couple de concevoir après 12 mois de rapports sans contraception, est fréquente puisqu'elle concerne près d'un couple sur sept (1). Actuellement, un tiers des infertilités est lié à des causes féminines (dysovulation, causes tubaires, utérines, cervicales, endocrines), un cinquième à des facteurs masculins (diminution de la qualité du sperme, cryptorchidie, cancer, causes génétiques) et dans presque 40% des cas, elles sont mixtes. Néanmoins, l'infertilité reste inexpliquée dans 8% des cas (2) (Figure 1).

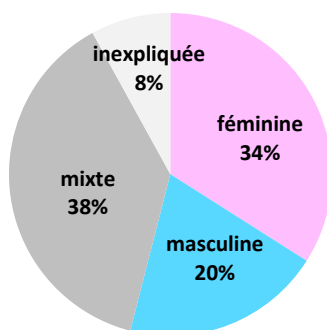


Figure 1 : Origine de l'infertilité

Différentes techniques d'aide à la procréation sont envisageables en fonction de l'âge maternel, des paramètres spermatiques, de la réserve ovarienne, des antécédents de tentatives d'AMP au sein du couple.

En France, en 2014 (Figure 2), 56 468 inséminations ont été réalisées (quelles soient intra-utérines ou plus rarement intra-cervicales), 61 894 FIV avec ou sans micro-injection et 25 416 transferts d'embryons congelés (3).

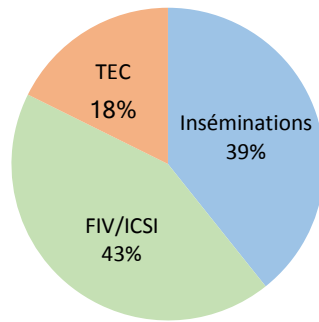


Figure 2 : Répartitions des techniques d'AMP en France en 2014

Ainsi 3% des naissances en France (soit 25 208 enfants) ont été permises après recours aux techniques d'AMP en 2014.

Parmi ces enfants issus d'AMP, près d'un sur cinq l'était suite au transfert d'un embryon congelé.

2 La cryoconservation embryonnaire

2.1 Généralités

Peu après la réussite de la première FIV en 1978, des techniques de cryoconservation d'embryons humains se sont développées afin de pallier au problème des embryons surnuméraires générés par la FIV et non transférés *in utero*. En effet, les premières naissances après utilisation de technique de congélation/décongélation embryonnaire datent de 1984 (4).

Aujourd'hui, dans l'intention d'optimiser l'AMP, la loi permet aux couples de consentir à ce que soit tentée la fécondation d'un nombre d'ovocytes pouvant rendre nécessaire la conservation d'embryons (5). Néanmoins, un couple peut refuser la congélation embryonnaire. Différentes stratégies sont alors possibles : la stimulation pauci-folliculaire, la congélation d'une partie de la cohorte ovocytaire et/ou la mise en fécondation d'un nombre limité d'ovocytes (6).

La conservation des embryons surnuméraires est donc un élément clef des techniques d'AMP actuelles. Il est ainsi possible de réaliser plusieurs cycles de transfert d'embryons à

partir d'un seul cycle de stimulation. Cela augmente les chances de grossesse par stimulation ovarienne.

L'autre avantage de la congélation embryonnaire consiste à favoriser le remplacement d'un seul embryon et limite donc le risque de grossesses gémellaires. De plus, lorsque le transfert frais n'est pas possible pour des raisons médicales telles que l'hyperstimulation ovarienne, cela permet de différer le remplacement de l'embryon et donc de préserver les chances de grossesse. En revanche, cette stratégie du transfert d'embryon unique induit une augmentation du nombre d'embryons congelés (7).

La conservation d'embryons surnuméraires est aussi sujette à controverse. Certains courants religieux y sont opposés, certains pays n'autorisent pas cette conservation d'embryons (c'était le cas de la Suisse jusqu'en 2016).

Près d'une stimulation sur trois aboutit à la conservation d'embryons surnuméraires (8,9). En 2011, le code de la santé publique a été modifié visant à « privilégier les pratiques et procédés qui permettent de limiter le nombre des embryons conservés » (10). Néanmoins, ce nombre d'embryons congelés continue d'augmenter. Au 31 décembre 2014, 208 829 embryons étaient stockés en France dans de l'azote liquide (3). Ce chiffre est en augmentation de 16% en 4 ans (Figure 3).

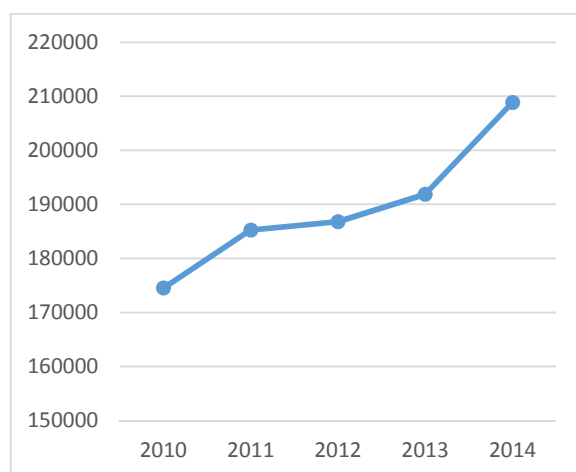


Figure 3 : Evolution du nombre d'embryons congelés en France

2.2 Le principe

La cryoconservation permet d'arrêter de façon réversible le métabolisme cellulaire. En effet, la conservation de cellules à des températures inférieures à -150°C inhibe les réactions enzymatiques et réduit les mouvements moléculaires. Cela permet de suspendre le temps cellulaire, autorisant un stockage prolongé, théoriquement de façon illimitée, mais permettant un retour à la viabilité après réchauffement cellulaire.

Les blastomères d'un embryon, sont essentiellement composés d'eau. Lorsque l'embryon est exposé à de basses températures, l'état des liquides intracellulaires est modifié. Les étapes de refroidissement et de réchauffement sont plus ou moins rapides selon la technique utilisée. Ce sont les étapes critiques de la cryoconservation.

Lors du refroidissement, la formation de cristaux de glace pure peut être responsable de dommages cellulaires (membrane plasmique et organites intracellulaires). De plus, lors de la cristallisation, les électrolytes initialement en solution dans l'eau sont exclus du cristal et peuvent donc se retrouver en concentration anormalement élevée potentiellement toxique pour les protéines.

Lors du réchauffement, la libération de l'eau sous forme liquide peut engendrer des mouvements d'eau vers la cellule par diminution de l'osmolarité. Cela peut faire gonfler la cellule et entraîner sa lyse par choc osmotique.

Les objectifs d'une bonne technique de cryoconservation sont donc de limiter la formation de cristaux de glace ainsi que les phénomènes de concentration/dilution des électrolytes.

Par ailleurs, tous les embryons ne sont pas de bons candidats à la cryoconservation. Leur qualité intrinsèque est un élément essentiel. S'ils présentent une cinétique de segmentation anormale ou un haut degré de fragmentation, alors leurs taux de survie et d'implantation après réchauffement sont très faibles.

Deux techniques de congélation sont décrites : la congélation dite « lente » et la vitrification. Elles se distinguent par leur vitesse de descente en température, mais nécessitent toutes les deux l'ajout de cryoprotecteurs pour déshydrater les cellules et protéger les organites intracellulaires.

2.3 La congélation lente

Encore utilisée aujourd'hui pour cryoconserver les spermatozoïdes, la congélation lente fut la première technique utilisée pour congeler les embryons il y a plus de 50 ans (11). Son principe repose sur le passage de l'eau extracellulaire, puis intracellulaire, d'un état liquide à un état solide. Néanmoins, le défaut de cette technique réside dans la cristallisation aléatoire de l'eau dans l'échantillon congelé, responsable de lyse cellulaire observée lors de la décongélation. Pour diminuer ce risque de cristallisation, une exposition longue à des concentrations faibles et croissantes en cryoprotecteurs est préconisée. Ces cryoprotecteurs se substituent en partie à l'eau intracellulaire, entraînant la déshydratation des blastomères. La descente en température se fait de manière progressive. Elle nécessite un congélateur programmable, permettant de contrôler la vitesse de descente en température dans la cuve d'azote liquide.

Cette descente en température se fait selon trois phases. Tout d'abord, à partir de la température ambiante, le refroidissement est de l'ordre de $-2^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Lorsque la température avoisine les -7°C , l'induction du premier cristal de congélation (appelée « seeding ») est réalisée de façon manuelle, sous contrôle visuel, à distance de l'embryon, permettant ainsi de limiter les phénomènes de surfusion. Ensuite, le refroidissement progresse de $-0.3^{\circ}\text{C}/\text{min}$ jusqu'à atteindre une température proche de -30°C . Puis la vitesse de refroidissement s'accélère, pour atteindre une température comprise entre -70°C et -140°C . Enfin, les paillettes sont plongées dans l'azote liquide pour leur conservation. La durée totale de cette technique de congélation est comprise entre 1h30 et 2h (Figure 4).

La décongélation se fait plus rapidement puisque les paillettes sont sorties de l'azote liquide et laissées à température ambiante pendant quelques minutes, permettant leur réchauffement lent. Les embryons sont ensuite réhydratés dans des bains de concentrations décroissantes en cryoprotecteurs avant d'être remis en milieu de culture. Enfin, les embryons sont observés au microscope inversé pour vérifier le taux de survie embryonnaire. Si plus de 50% des blastomères se sont lysés lors de la décongélation, l'embryon est considéré comme non viable et ne pourra donc pas être transféré. Edgar et al. ont observé des taux d'implantation de 1% en cas de lyse supérieure à 50%, *versus* 11.3% lorsque 100%

des blastomères étaient intacts (12). Ces résultats ont été confirmés par d'autres études (13,14).

Le taux de survie embryonnaire après décongélation est variable selon les études et également en fonction du stade embryonnaire. Aux stades précoces, il se situe autour de 65% (15,16). Au stade plus tardif de blastocyste, Van den Abbeel et al. ont observé des variations entre 56% et 82% de survie en fonction du type de blastocystes (17).

La congélation embryonnaire, autorisée en France depuis 1994, a permis d'augmenter le taux cumulé de grossesses évolutives. Néanmoins, les taux de grossesses évolutives après transfert d'embryon congelé (par congélation lente) sont plus faibles comparativement à ceux observés lors du transfert d'embryon frais (16). Lors du rapport d'activité d'AMP de 2010, le taux de grossesses échographiques lors des tentatives d'ICSI intraconjugales était de 25,5% lors des transferts frais contre 18,3% lors des transferts d'embryons congelés (18).

Par ailleurs, les données montrent que les enfants nés après décongélation d'embryons sont en bonne santé et ne présentent pas d'augmentation de malformations néonatales comparativement à la population générale (19,20).

2.4 La vitrification embryonnaire

Cette technique plus récente est autorisée en France depuis novembre 2010. La vitrification permet le passage direct de l'eau d'un état liquide à un état solide amorphe dit vitreux (21). L'intérêt est de limiter au maximum la cristallisation (22).

La descente en température varie de $-2500^{\circ}\text{C}/\text{min}$ à $-20\ 000^{\circ}\text{C}/\text{min}$ en fonction du matériel utilisé (dispositif fermé ou ouvert). Après avoir été exposé à de fortes concentrations de cryoprotecteurs durant quelques secondes, l'embryon, déposé sur son support, est directement plongé dans l'azote liquide ([Figure 4](#)).

La dévitrification se fait de façon très rapide également. L'embryon extrait de l'azote liquide est, le plus rapidement possible, plongé dans un milieu à 37°C . Il est ensuite réhydraté dans

des bains contenant des concentrations décroissantes en cryoprotecteurs avant d'être remis dans un milieu de culture supplémenté en albumine humaine.

La qualité de la vitrification repose sur trois critères : la vitesse de refroidissement, la viscosité du milieu et le volume du dépôt sur le support (plus il est faible plus la vitesse de refroidissement de l'embryon est grande) (23).

Lors du réchauffement, la survie embryonnaire est évaluée d'abord immédiatement par observation cellulaire (en comparaison de l'embryon observé avant vitrification) puis, deux heures plus tard. La ré-expansion cellulaire et de nouvelles divisions cellulaires attestent de sa vitalité.

Tous les stades embryonnaires (zygotes, embryons clivés ou blastocystes) peuvent être congelés par vitrification (24).

Au décours d'une tentative de fécondation *in vitro*, une deuxième vitrification après réchauffement d'un embryon segmenté et mis en culture jusqu'au stade blastocyste est également possible.

Cette technique de congélation « ultra-rapide » permet, par comparaison à la technique de congélation lente, d'augmenter les taux de survie embryonnaire après réchauffement (supérieurs à 90%), et par conséquent les chances de grossesse (15,25,26). Cette amélioration des techniques de congélation embryonnaire par vitrification, permet aujourd'hui d'atteindre des résultats semblables à ceux obtenus lors du transfert d'embryons frais (27,28).

Néanmoins, l'utilisation de cryoprotecteurs à forte concentration suscite des interrogations quant à leur potentielle embryotoxicité.

Par ailleurs, la vitrification ne nécessite pas d'appareillage spécifique, mais plus de moyens humains (temps technique) comparativement à la congélation lente, puisque la vitrification ne se fait qu'embryon par embryon. Ainsi, le coût technique d'un embryon vitrifié est environ cinq fois supérieur à celui d'un embryon congelé. Le prix de la congélation lente est inscrit à la NABM (B350 = 94€50 au 1^{er} janvier 2016). Une cotation spécifique RIHN pour la

vitrification embryonnaire a été créée (BHN800 = 216€ au 1^e janvier 2016). Sa cotation à la NABM devrait être effective fin 2017.

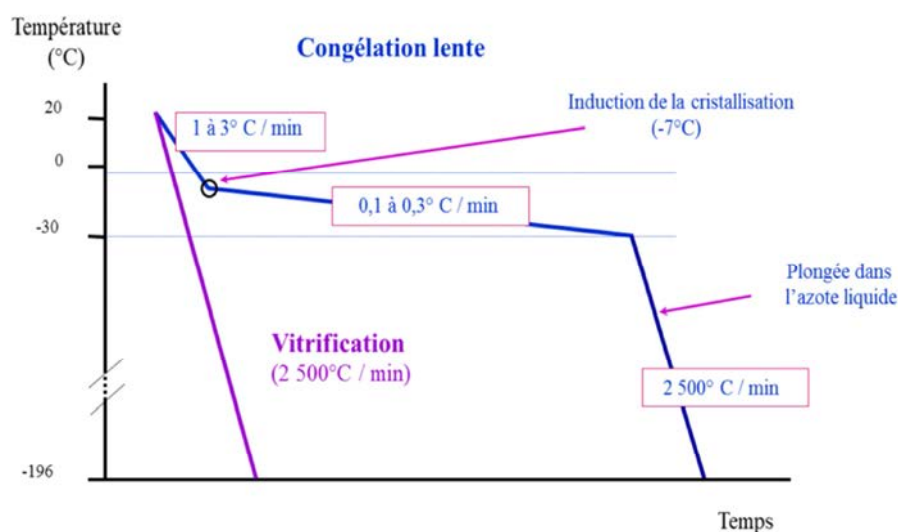


Figure 4 : Comparaison des vitesses de refroidissement selon la technique de congélation

2.5 Dispositifs pour la vitrification

Deux grands types de dispositifs existent : le dispositif dit « ouvert » et le dispositif dit « fermé ».

Le dispositif ouvert (Cryotop®, Cryoloop®, VitriFit®) met l'embryon directement au contact de l'azote liquide (Figure 5). La descente en température est donc maximale puisqu'aucune paroi n'est interposée. Elle est de l'ordre de $-20\,000^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Le risque de cette procédure est principalement sanitaire (lors du refroidissement mais aussi lors du stockage) puisqu'une contamination de l'échantillon par des microorganismes (virus, bactéries, champignons) est théoriquement possible (29–31). Néanmoins, à ce jour, aucun cas de contamination n'a été décrit dans le monde alors que de nombreux centres (principalement à l'étranger) utilisent ce dispositif. Afin de prévenir le risque de contamination, l'utilisation d'azote stérilisé est recommandée (32). L'autre avantage par rapport au dispositif dit « fermé » est la diminution de l'exposition aux cryoprotecteurs (33).

Le dispositif fermé (CryoBioSystem®, Vitrisafe®) évite tout risque de contamination puisque l'embryon est disposé à l'intérieur d'une paillette haute sécurité complètement hermétique

avant d'être plongé dans l'azote liquide (Figure 6). Cela a pour conséquence de diminuer la vitesse de refroidissement autour de $-2\,500^{\circ}\text{C}/\text{min}$. La propriété thermoconductrice et l'épaisseur des matériaux utilisés sont primordiales pour assurer une descente en température la plus rapide possible. De bons résultats sont obtenus lors de l'utilisation de dispositifs fermés (34,35), mais l'efficacité semble légèrement diminuée pour certaines études par rapport aux dispositifs ouverts, notamment pour vitrifier des ovocytes (36,37).

Enfin il existe un dispositif intermédiaire permettant de répondre au risque sanitaire du dispositif ouvert : il s'agit du **dispositif semi-ouvert**. L'échantillon est vitrifié directement au contact de l'azote liquide stérile avec un dispositif ouvert. Puis le stockage se fait dans une paillette soudée permettant d'isoler l'échantillon comme dans le dispositif fermé.

La plupart des centres d'AMP français utilisent un dispositif fermé pour la vitrification embryonnaire par principe de précaution bien que l'ABM n'ait pas statué en défaveur des dispositifs ouverts.

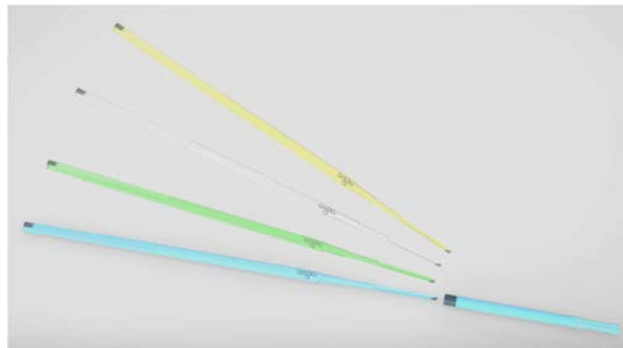


Figure 5 : Paillettes VitriFit Origio® / Dispositif ouvert

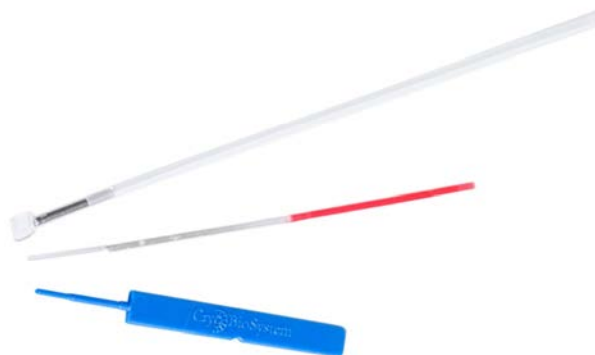


Figure 6 : Paillette CryoBioSystem® Haute Sécurité / Dispositif fermé

2.6 Les cryoprotecteurs

Les deux techniques de congélation utilisent les mêmes cryoprotecteurs. Seules leurs concentrations et leurs durées d'exposition diffèrent.

Lors de la congélation lente, le temps d'exposition aux cryoprotecteurs est relativement long (plusieurs minutes) et les concentrations plutôt faibles (inférieures à 1,5M).

Lors de la vitrification, l'exposition à de fortes concentrations de cryoprotecteurs (6 à 7,5M) doit être de courte durée (quelques dizaines de secondes) pour éviter la cytotoxicité.

Il existe 2 types de cryoprotecteurs : pénétrants et non pénétrants.

Les cryoprotecteurs pénétrants sont des solvants organiques possédant un faible poids moléculaire et une forte viscosité. Ils sont solubles dans l'eau et permettent d'abaisser la température de solidification (effet antigel). Ils sont dits pénétrants puisqu'ils ont la propriété de traverser la membrane cellulaire. Ainsi, en se substituant à une partie de l'eau intracellulaire, ils diminuent la proportion d'eau susceptible d'être cristallisée. Ils empêchent également l'hyperconcentration saline responsable de contractions cellulaires.

Le DMSO, le glycérol, l'éthylène glycol, le butylène glycol, le propylène glycol sont des exemples de cryoprotecteurs pénétrants. Leur cytotoxicité à forte concentration oblige à une exposition limitée.

Les cryoprotecteurs non pénétrants sont soit des sucres (lactose, galactose, tréhalose, saccharose) soit des polymères (polyéthylène glycol, dextran, polyvinylpyrrolidone). Ils possèdent un fort pouvoir osmotique. Leur présence dans le compartiment extracellulaire entraîne une déshydratation intracellulaire. Ils évitent également une réhydratation intracellulaire trop rapide lors du réchauffement. Leur association aux cryoprotecteurs pénétrants permet de limiter les vitesses de pénétration de ces derniers afin de protéger la membrane cellulaire.

L'utilisation de mélanges de cryoprotecteurs permet d'utiliser des concentrations plus basses de chacun d'entre eux et d'en diminuer leur potentiel effet toxique.

3 La législation

3.1 Statut de l'embryon en France

Une personne juridique est définie par un état civil lorsqu'il y a naissance d'un nouveau-né vivant et viable après 22 SA ou supérieur à 500 grammes. D'un point de vue législatif, l'embryon ne répond pas à ce statut de personne juridique. Néanmoins, son statut de personne humaine en devenir lui confère une protection. Les droits fondamentaux prévoient le respect de l'être humain dès le commencement de la vie et le respect de la dignité de la personne humaine (Article 16 du Code Civil).

En France, les embryons ne peuvent être conçus *in vitro* que « dans le cadre et selon les objectifs d'une assistance médicale à la procréation » (Article L2141-3 CSP). Ils ne peuvent, en aucun cas, être conçus à des fins commerciales ou industrielles (Article L2151-3 CSP) ni à des fins d'expérimentation ou de recherche (Article L2151-2 CSP).

3.2 L'AMP à l'étranger

La majorité des pays ont légiféré en matière d'AMP. Néanmoins, la législation encadrant ces pratiques varie selon les pays, notamment du fait de leur histoire (Tableau 1). L'Union Européenne ne possède ainsi pas de droit commun au sujet de l'AMP. Par exemple, en Belgique, en Espagne et au Royaume-Uni (mais aussi au Canada et aux Etats-Unis), l'AMP est ouverte aux femmes célibataires ou en couple homosexuel (38).

La cryoconservation embryonnaire :

L'Allemagne n'autorise que la congélation de cellules fécondées au stade zygote (18h post fécondation). Les autres pays autorisent la cryoconservation embryonnaire au stade précoce et au stade tardif (en Suisse, la législation identique à celle de l'Allemagne jusqu'à fin 2016 autorise également maintenant la congélation embryonnaire au stade tardif).

Le don d'embryons et d'ovocytes :

Autorisé en France et au Royaume-Uni, le don d'embryons n'est pas autorisé en Allemagne, en Autriche, au Danemark, en Lituanie, en Slovénie et en Suède. L'Allemagne n'autorise pas non plus le don d'ovocytes.

La recherche sur embryons humains :

La recherche sur l'embryon humain était interdite en France (sauf dérogations ponctuelles) jusqu'en 2013. Aujourd'hui elle y est autorisée après examen du projet de recherche et autorisation délivrée par l'ABM. Pour être accepté, le protocole de recherche clinique doit avoir une pertinence scientifique et une finalité médicale, tout en respectant les principes éthiques relatifs aux embryons humains.

La constitution d'embryons à des fins de recherche est interdite par la convention internationale d'Oviedo.

En Espagne, la recherche à partir des embryons surnuméraires ne faisant plus l'objet d'un projet parental, est autorisée. Néanmoins, un statut de « pré-embryon » a été fixé par la loi espagnole jusqu'au 14^{ème} jour post fécondation. Au-delà de cette limite, la recherche n'est plus autorisée.

Au Royaume-Uni, la création d'embryons pour la recherche est autorisée depuis 2001 dès lors que l'étude ne peut pas être réalisée avec des embryons surnuméraires.

La législation sur la recherche sur embryons humains aux Etats-Unis est différente selon les états.

En Allemagne et en Italie, la recherche sur embryons humains est interdite.

Tableau 1 : Comparaison des droits en AMP selon les pays

| | Cryoconservation Embryonnaire | Accueil d'embryon | Recherche sur l'embryon | Don d'ovocyte |
|--------------------|--------------------------------------|--------------------------|--------------------------------|----------------------|
| France | oui | oui | oui | oui |
| Allemagne | zygote uniquement | non | non | non |
| Espagne | oui | oui | oui | oui |
| Royaume-Uni | oui | oui | oui | oui mais pas anonyme |
| Etats-Unis | oui | oui | oui | oui |

4 Quel avenir pour les embryons congelés ?

4.1 Le projet parental

Cette terminologie, propre à l'AMP, est apparue lors de la loi relative à la bioéthique du 6 août 2004. Ce terme traduit la volonté de devenir parent. Son rôle initial était de définir une partie du cadre légal entourant l'AMP : un couple formé par un homme et une femme pouvant prouver une vie commune d'au minimum deux années (aujourd'hui la preuve de la durée n'est plus nécessaire, la notion de stabilité perdue). Le projet parental permet également au couple de se prononcer sur le devenir des embryons surnuméraires conçus lors de leur tentative de FIV.

La conservation des embryons dans le cadre d'un projet parental est initialement fixée pour une durée de 5 ans.

L'article L2141-4 du CSP indique que : « Les deux membres du couple dont des embryons sont conservés sont consultés chaque année par écrit sur le point de savoir s'ils maintiennent leur projet parental ». Quatre possibilités s'offrent à eux (Figure 7) :

- 1) La conservation des embryons pour poursuite du projet parental
- 2) L'arrêt de la conservation, ce qui revient à la destruction
- 3) Le don à la recherche
- 4) Le don à un couple en démarche d'accueil d'embryon

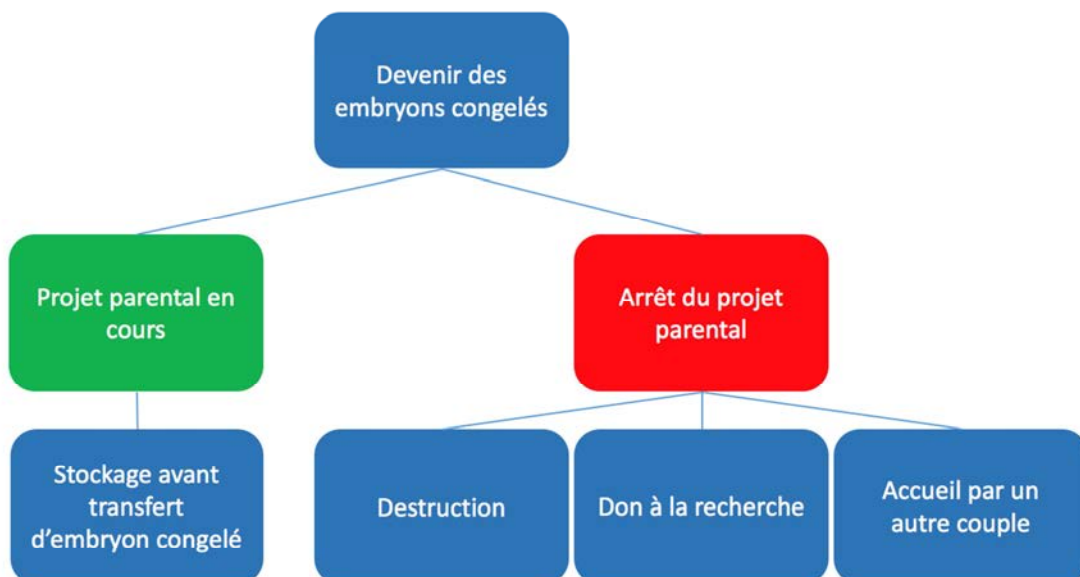


Figure 7 : Devenir des embryons congelés

Cette décision doit correspondre à un accord des deux membres du couple. Lors d'un arrêt de projet parental, la décision se fait par écrit et doit faire l'objet d'une confirmation écrite après un délai de réflexion d'au moins trois mois.

4.2 La représentation de l'embryon

Le choix d'arrêter un projet parental est complexe pour les couples qui doivent se positionner et aboutir à un accord commun, même s'ils sont séparés. De nombreuses questions se posent sur la valeur donnée à l'embryon humain à ce stade de développement, ainsi que sur les rapports de filiation vis-à-vis de ces embryons. La décision de mettre fin à la congélation est particulièrement difficile pour les couples mais aussi pour le personnel soignant ayant pris part à leur génération.

Pour certains couples, l'embryon est déjà un bébé, une personne humaine. La destruction ou le don à la recherche n'est, par conséquent, pas envisageable. Pour d'autres couples, l'embryon n'est qu'un amas cellulaire en division.

La représentation que chaque couple aura de ses embryons va conditionner leur sort en cas d'arrêt du projet parental (39–41).

Les possibilités offertes au couple lorsqu'il n'aura plus de projet parental sont expliquées lors de la consultation précédant la première FIV. Ces informations, délivrées au début de la prise en charge en AMP, sont à la fois délicates à expliquer par le corps médical ; mais également difficilement entendues par un couple qui, à cet instant, ne souhaite qu'être parents et ne se projette pas dans la situation des embryons surnuméraires embarrassants. Un livret d'information de l'ABM sur le devenir des embryons congelés est remis au couple lors de cette consultation. Il semblerait toutefois que les informations délivrées soient suffisantes. Les couples prennent majoritairement leur décision sans consulter leur entourage ni même le corps médical (42).

Le don d'embryon

Le don d'embryon qui semble, à première vue, être la solution pour le devenir des embryons sans projet parental, est problématique pour bon nombre de couples. En 2007, seulement

10 à 15% des couples ayant des embryons surnuméraires ont choisi le don d'embryon à un autre couple (43).

Depuis le 2 novembre 1999, l'accueil d'embryon (et donc le don d'embryons) est autorisé en France. Ses modalités ont été précisées par différents décrets (4 février 2000, 11 avril 2001, 22 décembre 2006). Il est volontaire, anonyme et gratuit. Il permet de répondre à la demande de certains couples présentant une double infertilité, masculine et féminine, le double don n'étant pas autorisé en France : « Un embryon [...] ne peut être conçu avec des gamètes ne provenant pas d'un au moins des membres du couples » (Article L2141-3 CSP). Pour certains, il a également été initié afin de résoudre le problème éthique que pose la destruction des embryons surnuméraires sans projet parental (44).

Contrairement au don de gamètes, le don d'embryon n'est pas une démarche de première intention. En effet, les embryons sont initialement produits dans le but de traiter une infertilité, d'assouvir un désir d'enfant. C'est donc une démarche par défaut.

Aujourd'hui, l'accueil d'embryon est encore très marginal (45). En France en 2014, 141 tentatives d'accueil d'embryon ont été réalisées pour plus de 87 310 tentatives en fécondation in vitro toutes techniques confondues (soit 0,16%) (3).

Les difficultés de l'accueil d'embryon résident d'abord dans la représentation que le couple a de ses embryons. La réalisation de leur projet parental semble aussi impacter leur décision. En effet, dans notre centre, 63% des embryons donnés entre 2009 et 2015 pour l'accueil par un autre couple l'étaient après réalisation du projet parental. Enfin les démarches administratives pour donner ses embryons à un autre couple (intervention du TGI, confirmation du choix par écrit 3 mois après la date de du premier entretien, réalisation des examens sanguins, consultation auprès d'un psychiatre) peuvent décourager certaines personnes (46).

Absence de décision

Dans certains cas, aucune décision n'est prise quant à l'avenir des embryons surnuméraires, laissant le couple et le personnel médical dans une situation délicate.

Ainsi certains embryons congelés sont dits « orphelins » lorsqu'il n'y a pas de réponse du couple qui, soit ne souhaite pas répondre (par embarras la plupart du temps), soit a changé d'adresse sans le notifier au centre d'AMP.

D'autres embryons sont inutilisables pour le couple géniteur du fait d'un âge maternel dépassé, d'un couple séparé ou plus rarement d'un conjoint décédé.

Enfin, certains embryons ne sont pas « cessibles » pour l'accueil du fait d'antécédents génétiques d'un des membres du couple ou de sa famille, d'antécédent de maladie infectieuse (embryons issus de tentatives à risque viral), d'un âge maternel supérieur à 38 ans ou paternel supérieur à 45 ans lors de la conception, ou lorsqu'il existe une anomalie de la spermatogénèse extrêmement sévère, entraînant par exemple la nécessité d'extraire des spermatozoïdes à partir d'une biopsie testiculaire (Recommandations de Bonnes Pratiques en accueil d'embryons délibération 2010-CO-57 de l'ABM)

L'article L2141-4 du CSP précise que « Dans le cas où l'un des membres du couple consulté 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 ».

Néanmoins, la destruction d'embryons répondant à ces critères n'est que très rarement appliquée par les centres d'AMP. En effet, un centre d'AMP français a eu l'expérience d'un couple souhaitant un transfert d'embryon congelé malgré plus de neuf années sans réponse aux relances (47).

5 Les embryons congelés dans le centre d'AMP du CHRU de Nancy

En 2015, parmi les 251 couples interrogés sur le devenir de leur embryons surnuméraires, 218 ont souhaité poursuivre leur projet parental, 21 ont souhaité mettre fin à ce projet parental dont 4 par don d'embryon à un autre couple, 7 par destruction et 10 par don à la recherche. Par ailleurs 12 couples n'ont pas répondu à notre relance ([Figure 8](#)).

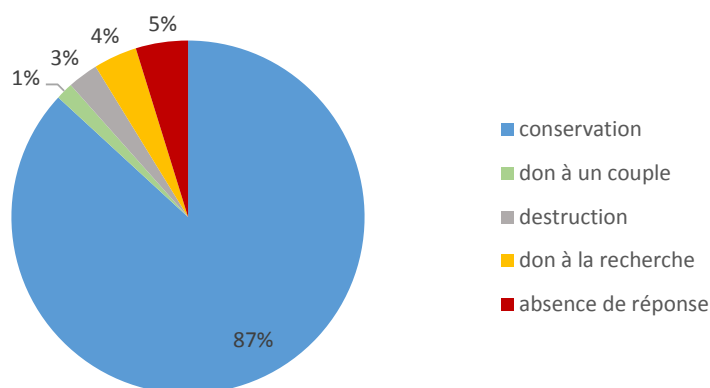


Figure 8 : Décision des couples concernant leurs embryons congelés en 2015 au centre d'AMP du CHRU de Nancy

Entre 2009 et 2015, 88 couples (correspondants à 317 embryons) ont fait le choix d'arrêter leur projet parental dans notre centre. 34 ont choisi la destruction, 38 le don à la recherche et 16 le don à un autre couple (Figure 9).

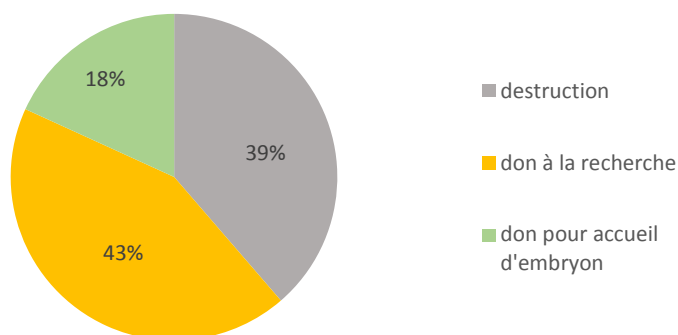


Figure 9 : Décision des couples lors d'arrêt du projet parental entre 2009 et 2015 au centre d'AMP du CHRU de Nancy

Au 31 décembre 2014, 631 embryons sont stockés dans les cuves d'azote du centre d'AMP du CHRU de Nancy dans l'attente de la réalisation du projet parental de plus de 200 couples.

Toutes les démarches entourant l'avenir du projet parental sont très chronophages pour les praticiens des centres d'AMP. Elles ont également un retentissement psychologique pour les couples possédant des embryons surnuméraires.

La persistance d'embryons à l'issue du projet parental, que celui-ci ait été ou non satisfait, est problématique dans le choix qu'elle impose. La question sur la valeur d'un embryon, sur celle de son patrimoine génétique et sur les notions de parentalité sont au cœur de la réflexion. Le choix du don comme celui de la destruction embryonnaire peuvent induire une grande souffrance chez ces couples. Les démarches d'AMP sont une épreuve, avant, mais également après l'obtention d'embryons pour bon nombre de couples.

La congélation embryonnaire crée une dissociation dans le temps entre le projet parental et sa réalisation avec pour conséquence possible une disparition de ce projet. Les embryons surnuméraires ainsi conçus posent question, bien que l'apport de la cryoconservation embryonnaire dans les techniques d'AMP ne puisse pas être remis en cause. Existe-t-il des facteurs de risques identifiables spécifiques aux couples à risque d'embryons surnuméraires sans projet parental ? Si tel est le cas, quelle alternative thérapeutique pourrait-on leur proposer afin de limiter la conception de ces embryons ?

ARTICLE

**EMBARRASSING EMBRYOS: RISK FACTORS FOR CRYOPRESERVED EMBRYOS
WITHOUT PARENTHOOD PROJECT, PROPOSITION OF RISK EVALUATION**

Objective: To identify predictive factors of having cryopreserved embryos without parenthood project, and to determine this risk before attempt.

Design: Retrospective study.

Setting: Infertility practice.

Patient(s): One thousand six hundred and twenty-one IVF cycles from Nancy CHRU ART center between January 2009 and December 2014.

Intervention(s): None.

Main outcome measure(s): Cryopreserved embryo without parenthood project.

Result(s): Eleven per cent of cycles resulted in unwanted cryopreserved embryos. Women age under thirty-eight, oocyte retrieval of more than six mature oocytes, being mother from a previous relationship and having a child before attempt constituted risk factors of having cryopreserved embryos without parenthood project. For each IVF attempt, a score can be determined, giving the probability to have orphan cryopreserved embryos.

Conclusion(s): Evaluation score could help ART center having an idea of surplus embryo risk in order to propose an alternative strategy consisting in realizing the IVF on only a part of retrieved oocytes and vitrification of other oocytes.

Keywords: embryo; parenthood project; oocyte; vitrification; supernumerary

Capsule: Determination of a score given the probability for each attempt to lead to cryopreserved embryos without parenthood project.

INTRODUCTION

The primary aim of in vitro fertilization (IVF) treatment is to achieve a term live healthy birth. In 2014, 18,621 babies were born out of IVF in France, representing 2% of all births. Among these babies, one of four comes from cryopreserved embryo [1]. The development of advanced techniques in cryopreserved embryos has made the cryopreservation of supernumerary embryos an integral part of IVF treatments. Vitrification, authorized in France since 2010, has increased survival rate and live birth rate from thawed embryos [2-5]. As a result, freeze-all policy, used in case of ovarian hyperstimulation syndrome but also in some other cancelations of fresh embryo transfer because of inappropriate endometrium, has become as efficient as the strategy using fresh embryo transfer [6-8].

On the one hand, cryopreserved embryos are additional pregnancy chances promoting single embryo transfer. On the other hand, supernumerary cryopreserved embryos pose an ethical problem when the couple has no more parenthood project or in case of partners separation or death of one of them [9].

Regarding the last five years, frozen embryo transfers have increased by 30% in France while oocytes retrievals have increased by 3% [1]. Nevertheless, French embryo storage increases every year (16% during the same period). Due to this increase, a French law specified in 2011 to promote techniques limiting surplus embryos [10].

Almost one in three IVF cycles leads to supernumerary embryos [11,12]. Supernumerary embryos are defined as all embryos generated and cryopreserved during an IVF attempt in order to transfer them during a subsequent cycle.

Before IVF treatment, patients give their written consent for cryopreservation of supernumerary embryos. But contrary to other countries such as Belgium, Japan or the UK, French couples do not have to commit, before beginning IVF treatment, to the fate of these possible cryopreserved embryos.

Information about possible options is delivered by specialized fertility medical doctors before IVF attempt. Extensive patient written information is also handed out at that time. But the first questioning occurs only one year after embryo cryopreservation. One reason for it is that the patient's choice, concerning the fate of their surplus embryos, may change over time (between the beginning of their IVF treatment and their final decision) [13,14].

Each couple with cryopreserved embryos is yearly asked by mail. If parenthood project is still present, storage is maintained. If not, a decision has to be made: both partners must agree on their embryos fate. Options available are: anonymous donation to another infertile couple (including cessation of the filiation), donation for science or stopping cryopreservation (meaning thaw and discard).

However, such a decision is a dilemma. Decision depends on different factors: IVF success, parenthood evolution, life circumstances, information received, personal values, religious beliefs. Embryo representation is also a crucial factor that leads couples to make a decision about surplus embryos fate. Embryo can be seen as a cell cluster, a potential person, a project, a hope, a child [15-17].

This may explain the lack of response when assisted reproductive technology (ART) center reached couples [18]. In France, stopping embryos cryopreservation is authorized after 5 years without response [19]. Nevertheless, big responsibility lies on ART centers when such a decision must be made.

Today, more than 200,000 embryos are stored in liquid nitrogen in French ART centers. Issues related to the legal regulation and ethical use of these surplus embryos spark discussion. In order to avoid making a decision, could we identify predictive factors of surplus embryo making in order to give optimized information and propose an alternative strategy?

MATERIALS AND METHODS

A retrospective study was conducted at Nancy CHRU ART center over a period of 7 years, involving IVF cycles (with and without microinjection).

All oocyte retrievals of CHRU Nancy ART center from January 2009 to December 2014 were included. Associated cryopreserved embryo transfers until December 2015 were added. Exclusion criteria were: oocyte retrievals performed for a fertility preservation program, failure sperm collection and intercurrent illness resulting on oocytes cryopreservation, cryopreserved embryos transferred in another assisted reproductive center (i.e. lost to follow-up patients).

In the chronology of decision making, the decision to continue the storage of cryopreserved embryos precedes the decision of the end of parenthood project in a large majority of cases. IVF cycles associated with still stored cryopreserved embryos were therefore excluded from the final statistical analysis. In order to research predictive factor of cryopreserved embryos without parenthood project, two groups have been created. The first group includes cycles when no more supernumerary embryos were cryopreserved. The second group includes cycles when parenthood project was over but still had cryopreserved embryos.

Transfer policy:

Day-3 embryo transfer and cryopreservation was used in our center. Embryo vitrification has been used since 2013 (Irvine Scientific Vit kit[®] with Cryo Bio System[®] high security straws), slow freezing was used before.

An informatics extraction data from software has been used (MédiFirst-AMP v1.4.2 – Société MédiFirst France).

Informations on IVF attempts collected were: woman age, man age, stimulation protocol, sperm origin, attempt rank, presence of polycystic ovary syndrome (PCOS), being parents together or during another relationship before attempt, number of metaphase II (MII) oocytes (noted at either the day of the pick-up for intra-cytoplasmic sperm injection (ICSI) cycles or the next day, at the fertilization check, for IVF cycles), number and way of used embryos, transfers outcomes.

Women age categories (less than 30, 30-35, 35-38, 38 and over) and MII oocytes categories (less than 6, 6-7, 8-13, 14 and over) have been created for statistical analysis.

Characteristics of cycles were described by percentage for categorical variables and mean and standard deviation (SD) for continued variables. For comparison, parametric statistics (Chi-square test and ANOVA F-statistic) or non-parametric statistics (Fisher exact, Wilcoxon tests) were used as appropriate. Logistic regression models were used to predict the probability to have remaining embryo. Goodness-of-fit was determined by Hosmer-Lemeshow test ($p=0.7160$). Alpha risk was 5% for all analysis. These statistical analyses were performed using SAS 9.4 software (SAS Institute, Inc, Cary, N.C.).

Written informed consent was obtained from all participants. Nancy CHRU Ethical Committee approved this study.

RESULTS

Of an initial total of 1,833 oocytes retrievals, 1,621 were eligible for statistical analysis. Characteristics of the analysis cohort are presented in Table 1. More than half of all cycles were conducted on women younger than 35. Mean women age was 33.6 ± 4.9 whenever men age was 36.7 ± 6.7 ; 78% result in fresh embryo transfer; 6% in none usable oocyte found; the other 16% result in freeze all (6%) or culture failure (10%). Fresh embryo transfer leads to 257 pregnancies, and 193 live birth.

Attempts were 88% with partner ejaculated sperm; 9% with testicular extracted sperm; 3% with donor sperm. More than 70% of cycles were first or second rank attempts.

Eight hundred twenty-eight oocytes retrievals have led to cryopreserved embryos. All cryopreserved embryos were transferred in 67% of cases (n=554), 22% of couples kept cryopreserved embryos (n=186). A total of 88 couples, representing 317 cryopreserved embryos, had no more parenthood project, so cryopreservation was stopped (11%); 16 chose anonymous donation to other couples; 38 of them chose donation to research; 34 chose to discard their embryos (**Figure 1**).

ICSI was used in most cycles (83%). PCOS represents 10% of included cycles. Mean of 7.8 oocytes were found and 5.6 were MII. A mean of 2.7 usable embryos (mean embryos which can be either transferred or frozen) were observed.

No significant differences were observed regarding men age between the two groups. Women aged under 38 were at risk of surplus cryopreserved embryos ($p=0.0176$). There were no significant differences between cycles concerning treatment type (IVF compared to ICSI). Attempt rank did not influence the risk of surplus embryo. Having a child from a previous relationship did not seem to be a risk factor for men ($p=0.4044$) whereas it was for women ($p=0.0461$). Couples already parents together were more likely to have surplus embryos ($p=0.0099$) and this even more if previous child was obtained after ART i.e. insemination or IVF ($p=0.0017$) (**Table 1**).

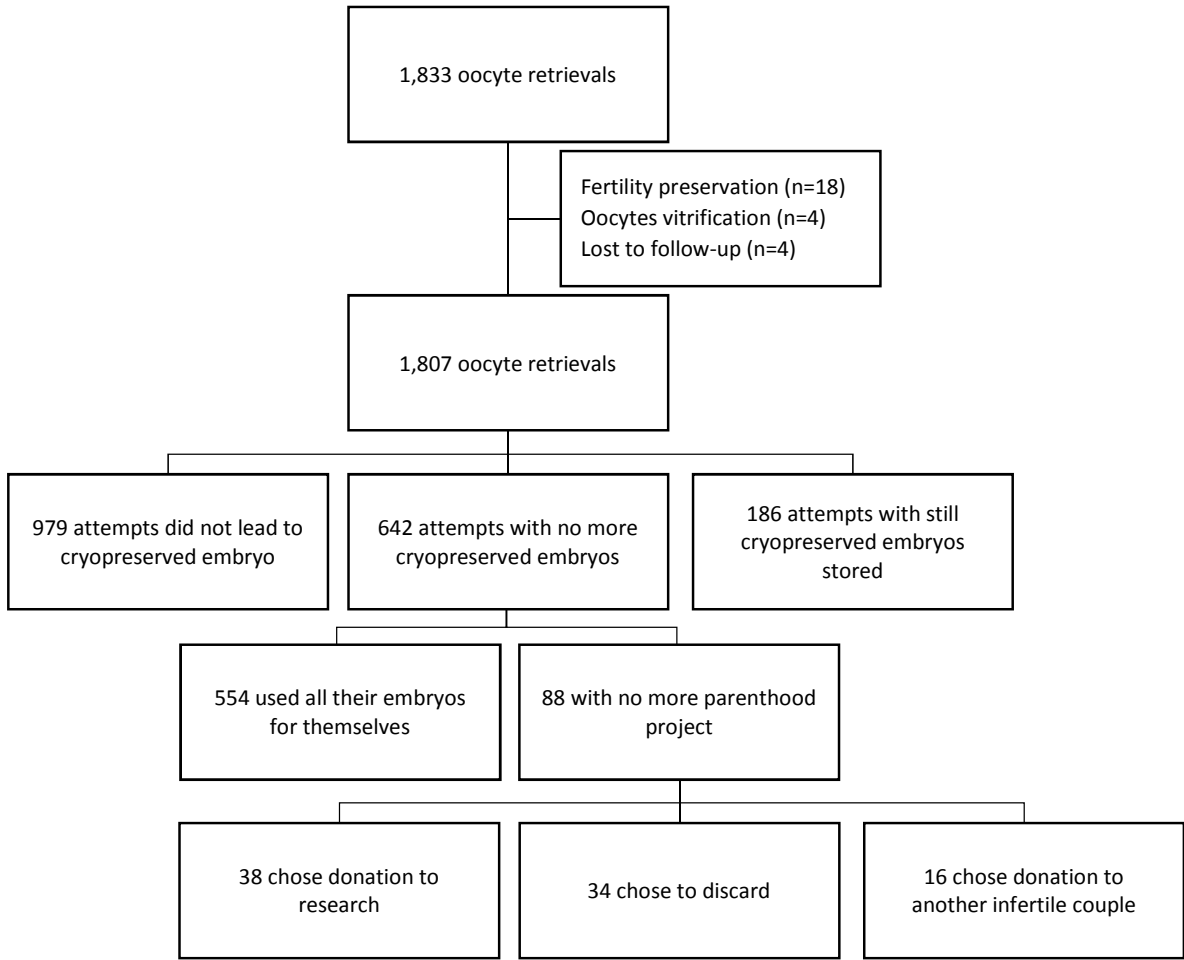


Figure 1: Population flowchart

Table 1: Population characteristics and comparison between the two groups

| | Total N= 1621 | | | Group 1 N=1533 (94.6%) | | | Group 2 N=88 (5.4%) | | | <i>p value*</i> |
|--|------------------|--------|-----|------------------------------|--------|-----|---------------------------|--------|-----|-----------------|
| | N | %/mean | SD | N | %/mean | SD | N | %/mean | SD | |
| Women age | 1621 | 33.6 | 4.9 | 1533 | 33.6 | 5 | 88 | 33 | 4.1 | 0.2477 |
| Women age | | | | | | | | | | 0,0176 |
| <38 years | 1273 | 78,5 | | 1195 | 78 | | 78 | 88,6 | | |
| >=38 years | 348 | 21,5 | | 338 | 22 | | 10 | 11,4 | | |
| Women age (4 categories) | | | | | | | | | | 0.0983 |
| <30 y.o. | 406 | 25 | | 384 | 25 | | 22 | 25 | | |
| [30-35[y.o. | 544 | 33.6 | | 508 | 33.1 | | 36 | 40.9 | | |
| [35-38[y.o. | 323 | 19.9 | | 303 | 19.8 | | 20 | 22.7 | | |
| >=38 y.o. | 348 | 21.5 | | 338 | 22 | | 10 | 11.4 | | |
| Men age | 1621 | 36.7 | 6.7 | 1533 | 36.8 | 6.8 | 88 | 36.5 | 6.6 | 0.7677 |
| Attempt outcome | | | | | | | | | | <0.0001 |
| No pregnancy | 1013 | 62.5 | | 977 | 63.7 | | 36 | 40.9 | | |
| Live birth | 193 | 11.9 | | 150 | 9.8 | | 43 | 48.9 | | |
| Pregnancy loss | 64 | 3.9 | | 60 | 3.9 | | 4 | 4.5 | | |
| No fresh transfer | 262 | 16.2 | | 257 | 16.8 | | 5 | 5.7 | | |
| No MII oocyte found | 89 | 5.5 | | 89 | 5.8 | | 0 | 0 | | |
| Treatment type | | | | | | | | | | 0.6626 |
| IVF | 278 | 17.1 | | 265 | 17.3 | | 13 | 14.8 | | |
| ICSI | 1343 | 82.9 | | 1268 | 82.7 | | 75 | 85.2 | | |
| Sperm origin | | | | | | | | | | 0.8197 |
| Partner ejaculated | 1431 | 88.3 | | 1352 | 88.2 | | 79 | 89.8 | | |
| Donor | 50 | 3.1 | | 47 | 3.1 | | 3 | 3.4 | | |
| Partner testicular | 140 | 8.6 | | 134 | 8.7 | | 6 | 6.8 | | |
| Attempt rank | | | | | | | | | | 0.9751 |
| 1 | 691 | 42.6 | | 651 | 42.5 | | 40 | 45.5 | | |
| 2 | 454 | 28 | | 431 | 28.1 | | 23 | 26.1 | | |
| 3 | 272 | 16.8 | | 256 | 16.7 | | 16 | 18.2 | | |
| 4 | 134 | 8.3 | | 128 | 8.3 | | 6 | 6.8 | | |
| 5 | 49 | 3 | | 46 | 3 | | 3 | 3.4 | | |
| 6 | 16 | 1 | | 16 | 1 | | 0 | 0 | | |
| 7 | 5 | 0.3 | | 5 | 0.3 | | 0 | 0 | | |
| Stimulation protocol | | | | | | | | | | 0.2654 |
| Agonist | 961 | 59.3 | | 914 | 59.6 | | 47 | 53.4 | | |
| Antagonist | 660 | 40.7 | | 619 | 40.4 | | 41 | 46.6 | | |
| PCOS | | | | | | | | | | 0.5883 |
| No | 1458 | 89.9 | | 1377 | 89.8 | | 81 | 92 | | |
| Yes | 163 | 10.1 | | 156 | 10.2 | | 7 | 8 | | |
| Fertility history | | | | | | | | | | |
| Women with child(ren) from previous union(s) | 130 | 8,0 | | 118 | 7.7 | | 12 | 13.6 | | 0.0461 |
| Men with child(ren) from previous union(s) | 128 | 7.9 | | 119 | 7.8 | | 9 | 10.2 | | 0.4044 |
| Couple with child(ren) together before attempt | 324 | 20,0 | | 297 | 19.4 | | 27 | 30.7 | | 0.0099 |
| Couple with ART child(ren) together before attempt | 170 | 10.5 | | 152 | 9.9 | | 18 | 20.5 | | 0.0017 |
| Oocytes retrieved | 1621 | 7.8 | 5.2 | 1533 | 7.5 | 5.1 | 88 | 12 | 5.9 | <0.0001 |
| MII oocytes retrieved | 1621 | 5.6 | 4.2 | 1533 | 5.4 | 4.2 | 88 | 9.1 | 4.4 | <0.0001 |
| No. of MII oocytes retrieved | | | | | | | | | | <0.0001 |
| < 6 | 932 | 57.5 | | 914 | 59.6 | | 18 | 20.5 | | |
| >= 6 | 689 | 42.5 | | 619 | 40.4 | | 70 | 79.5 | | |
| No. of MII oocytes retrieved (4 categories) | | | | | | | | | | <0.0001 |
| < 6 | 932 | 57.5 | | 914 | 59.6 | | 18 | 20.5 | | |
| [6-7] | 251 | 15.5 | | 233 | 15.2 | | 18 | 20.5 | | |
| [8-13] | 349 | 21.5 | | 309 | 20.2 | | 40 | 45.5 | | |
| >=14 | 89 | 5.5 | | 77 | 5 | | 12 | 13.6 | | |

| | | | | | | | | | | |
|---|------|------|-----|------|-----|-----|----|------|-----|---------|
| Embryos obtained | 1621 | 3.8 | 3.4 | 1533 | 3.7 | 3.3 | 88 | 7.1 | 3.4 | <0.0001 |
| No. of fresh embryos transferred | 1621 | 1.3 | 0.8 | 1533 | 1.3 | 0.8 | 88 | 1.5 | 0.6 | 0.0055 |
| Cryopreserved embryos | 1621 | 1.4 | 2.3 | 1533 | 1.2 | 2.1 | 88 | 4.4 | 2.9 | <0.0001 |
| Usable embryos | 1621 | 2.7 | 2.5 | 1533 | 2.5 | 2.3 | 88 | 5.9 | 2.9 | <0.0001 |
| Cryopreserved embryos outcomes | | | | | | | | | | |
| All embryos transferred | 1533 | 94.6 | | 1533 | 100 | | 0 | 0 | | |
| Discarded | 34 | 2.1 | | 0 | 0 | | 34 | 38.6 | | |
| Donation to research | 38 | 2.3 | | 0 | 0 | | 38 | 43.2 | | |
| Donation to another couple | 16 | 1 | | 0 | 0 | | 16 | 18.2 | | |

*Chi-square test or Fisher's exact test for qualitative variables, Student's t-test or Wilcoxon test for quantitative variables

Group 1: Cycles without cryopreserved embryo remaining

Group 2: Cycles with no more parenthood project but still cryopreserved embryos

Four categories of MII were created (less than 6, 6-7, 8-13, 14 and over) to check if oocytes number was strongly associated with surplus embryos. An odd ratio (OR) gradient was observed (from 3.9 to 7.9) (**Table 2**).

Statistical criteria and adjustment variables were used to select six variables: women age, sperm origin, fertility history, PCOS and number of MII oocytes. Women age and the number of MII oocytes are linked but there are no statistically correlated ($\rho=-0.29$). To predict the probability to have remaining embryo, a logistic regression model was used (**Table 3**).

The logistic regression model fits the log odds of a positive response (probability modeled is the Risk of having Surplus Embryos (SER)) as a linear combination of the predictor variables as following:

$$\text{logit}(p) = \log[p/(1-p)] = A + S + PK + H + O - 4.1695$$

where coefficient A corresponds to woman age (0.2239 between 30 and 35 years old; 0.3646 between 35 and 38 years old; -0.1878 for 38 and older); coefficient S corresponds to sperm origin (0.1014 if donor sperm is used for attempt; -0.3558 if testicular partner sperm is used for attempt); coefficient PK corresponds to -0.5497 if woman has a PCOS (and 0 in other cases); coefficient H corresponds to fertility history (0.8110 if woman has at least one child from a previous union; 0.6191 if couple has at least one child together); coefficient O corresponds to the number of MII oocytes retrieved (1.3709 for 6 or 7 oocytes retrieved; 1.9109 between 8 and 13 oocytes retrieved; 2.1258 for at least 14 oocytes retrieved).

For example, a 36-year-old woman suffering from PCOS, realizing her second IVF attempt for a second child with donor sperm of her 35-year-old husband, with 11 oocytes retrieved, has a risk of 15.15% to have surplus embryos ($SER = \text{logit}(p) = 0.3646 + 0.1014 - 0.5497 + 0.6191 + 1.9109 - 4.1695 = -1.7232$ and thus $p = \exp(\text{logit}(p)) / [1 + \exp(\text{logit}(p))] = 0.1515$).

Table 2: Risk factors of having cryopreserved embryo without parenthood project (bivariate regression)

| | N | Group 2 | | Bivariate regression | | p value | |
|--|------|---------|------|----------------------|------------|---------|-----|
| | | n | % | Odds ratio | CI (95%) | | |
| | | | | | Inf | | Sup |
| Women age (4 categories) | | | | | | 0.1117 | |
| <30 y.o. | 406 | 22 | 5.4 | 1 | | | |
| [30-35[y.o. | 544 | 36 | 6.6 | 1.2 | 0.7 - 2.1 | | |
| [35-38[y.o. | 323 | 20 | 6.2 | 1.2 | 0.6 - 2.2 | | |
| >=38 y.o. | 348 | 10 | 2.9 | 0.5 | 0.2 - 1.1 | | |
| Men age | 1621 | 88 | 5.4 | 1 | 1 - 1 | 0.7675 | |
| Attempt outcome | | | | | | <0.0001 | |
| No pregnancy | 1013 | 36 | 3.6 | 1 | | | |
| Live birth | 193 | 43 | 22.3 | 7.7 | 4.8 - 12.4 | | |
| Pregnancy loss | 64 | 4 | 6.3 | 2.0 | 0.7 - 5.5 | | |
| No fresh transfer | 262 | 5 | 1.9 | 0.6 | 0.2 - 1.4 | | |
| No MII oocyte found | 89 | 0 | 0 | 0.1 | 0.01 - 2.5 | | |
| Treatment type | | | | | | 0.5436 | |
| IVF | 278 | 13 | 4.7 | 1 | | | |
| ICSI | 1343 | 75 | 5.6 | 1.2 | 0.7 - 2.2 | | |
| Sperm origin | | | | | | 0.8153 | |
| Partner ejaculated | 1431 | 79 | 5.5 | 1 | | | |
| Donor | 50 | 3 | 6 | 1.1 | 0.3 - 3.6 | | |
| Partner testicular | 140 | 6 | 4.3 | 0.8 | 0.3 - 1.8 | | |
| Stimulation protocol | | | | | | 0.2497 | |
| Agonist | 961 | 47 | 4.9 | 1 | | | |
| Antagonist | 660 | 41 | 6.2 | 1.3 | 0.8 - 2 | | |
| PCOS | | | | | | 0.502 | |
| No | 1458 | 81 | 5.6 | 1 | | | |
| Yes | 163 | 7 | 4.3 | 0.8 | 0.3 - 1.7 | | |
| Fertility history | | | | | | | |
| Women with child(ren) from previous union(s) | 130 | 12 | 9.2 | 1.9 | 1.0 - 3.6 | 0.0495 | |
| Couple with child(ren) together before attempt | 324 | 27 | 8.3 | 1.8 | 1.2 - 2.9 | 0.0109 | |
| Oocytes retrieved | 1621 | 88 | 5.4 | 1.1 | 1.1 - 1.2 | <0.0001 | |
| MII oocytes retrieved | 1621 | 88 | 5.4 | 1.2 | 1.1 - 1.2 | <0.0001 | |
| No. of MII oocytes retrieved (4 categories) | | | | | | <0.0001 | |
| < 6 | 932 | 18 | 1.9 | 1 | | | |
| [6-7] | 251 | 18 | 7.2 | 3.9 | 2 - 7.7 | | |
| [8-13] | 349 | 40 | 11.5 | 6.6 | 3.7 - 11.6 | | |
| >=14 | 89 | 12 | 13.5 | 7.9 | 3.7 - 17 | | |

Group 2: Cycles with no more parenthood project but still cryopreserved embryos

Table 3: Logistic regression model

| Parameters | Coefficient |
|--|-------------|
| Intercept | -4.1695 |
| Women age | |
| [30-35[y.o. | 0.2239 |
| [35-38[y.o. | 0.3646 |
| >=38 y.o. | -0.1878 |
| Sperm origin | |
| Donor | 0.1014 |
| Partner testicular | -0.3558 |
| PCOS | -0.5497 |
| Fertility history | |
| Women with child(ren) with previous union(s) | 0.8110 |
| Couple with child(ren) together before attempt | 0.6191 |
| No. of MII oocytes retrieved | |
| [6-7] | 1.3709 |
| [8-13] | 1.9109 |
| >=14 | 2.1258 |

Hosmer-Lemeshow test: $p = 0.7160$

DISCUSSION

The aim of this study was to identify the risk factors of having cryopreserved embryos without any parenthood project. The number of cryopreserved embryos depends on ovarian reserve, fecundation rate and the quality of generated embryos. Six mature oocytes seems to be the ideal number to achieve a live birth as already reported [20]. In our study, being a mother before oocyte retrieval has been found to be another predictive factor for surplus embryo.

Although the large majority of couples will use their supernumerary cryopreserved embryos in the hope of founding a family, some couples will stop cryopreservation. A couple that initially accepted to cryopreserve embryos may undergo life-changing events (such as multiple births, divorce or the loss of a spouse). An ethical issue may appear due to the end of parenthood project. In our study, 11% of cycles resulted in stopping embryo storage. Similar proportion has been observed in other papers [13].

We observed that the more oocytes you have, the more surplus embryos are generated. There is a strong association between number of MII oocytes and surplus cryopreserved embryos.

Proposing oocyte vitrification beyond 6 MII oocytes found for women already mothers can be an alternative to conceive embryos. Our score can help having an idea of this risk.

In the same way as men can freeze their spermatozoas, women could cryopreserve their oocytes if the number is enough for good chances having a child.

Moreover, unlike sperm donation, egg donation program involves invasive medical procedures and treatment for women, including risks of ovarian stimulation and transvaginal oocyte retrieval. France is suffering from a shortage of egg donors, even if nulliparous French women can cryopreserve for their own if they accept egg donation as compensation since 2016 [21]. Some countries such as the UK propose egg-sharing program for women in exchange for free fertility care. However, this economic pressure raises ethical issues [22].

Our alternative strategy can be helpful for both limiting ethical problem of surplus cryopreserved embryos and increasing oocytes donation. On the one side, if parenthood project is still present after a birth, or if transfers do not give the wanted child, the woman could use cryopreserved oocytes for her own to make embryos without having a new stimulation. On the other side, if parenthood project is over, the woman could donate her oocytes or stop their cryopreservation, which is ethically better than to discard embryos.

Nonetheless, applying such a program requires to dispose of vitrification facilities, allowing to offer the same IVF success with frozen/thawed oocytes or fresh retrieved oocytes. This is linked to the dispositive employed: vitrification techniques using open devices seem more efficient than closed devices and maximize oocyte freezing [23]. Recent meta-analyses concluded with no significant difference between fresh and vitrified oocytes for pregnancy rate [24,25]. In these studies, open vitrification systems were mainly used in order to increase cooling rate.

Determining the probability of having surplus cryopreserved embryos before attempt can help both couple and medical doctor in order to propose oocyte cryopreservation. The threshold at which oocytes will be frozen, rather than to conceive embryos, can be chosen using this score. It is strongly linked with the risk accepted by the couple to have surplus embryos. For some of them it would be 10%, for other 20%...

We do not find such a score in scientific literature. A multicenter study must be conducted in order to confirm the use of this score.

One of ART centers' troubles is the conceiving of unwanted embryos. After having a child, couples may have embryos but no more parenthood project. Stopping cryopreservation is known to be difficult. With the SER score, identify couples who must have surplus embryos can be useful in order to propose an alternative strategy. Oocytes vitrification shows good results, that is the reason why it could be offered to well-identified couples. An additional benefit of such a strategy is to promote oocyte donation increasing potential donors number.

REFERENCES

- [1] Agence de la biomédecine - Rapport médical et scientifique de l'assistance médicale à la procréation et de la génétique humaines en France - Activité d'Assistance Médicale à la Procréation 2014. Available at: External link <http://www.agence-biomedecine.fr/annexes/bilan2015/donnees/procreation/01-amp/synthese.htm>. Accessed August 31, 2017
- [2] Code de la santé publique - Article L. 2141-3 - Modifié par LOI n° 2011-814 du 7 juillet 2011 - art. 36.
- [3] Son W-Y, Chung J-T, Gidoni Y, Holzer H, Levin D, Chian R-C, et al. Comparison of survival rate of cleavage stage embryos produced from in vitro maturation cycles after slow freezing and after vitrification. *Fertil Steril*. 2009 Sep;92(3):956–8.
- [4] Loutradi KE, Kolibianakis EM, Venetis CA, Papanikolaou EG, Pados G, Bontis I, et al. Cryopreservation of human embryos by vitrification or slow freezing: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2008 Jul;90(1):186–93.
- [5] AbdelHafez FF, Desai N, Abou-Setta AM, Falcone T, Goldfarb J. Slow freezing, vitrification and ultra-rapid freezing of human embryos: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online*. 2010 Feb;20(2):209–22.
- [6] Cook HM, Levin O, Shamonki M, Bonser B, Burgh P. Fresh embryo transfer versus freeze-all cycle with subsequent embryo thaw and transfer in women undergoing their first in vitro fertilization (IVF) cycle: do pregnancy outcomes differ? *Fertil Steril*. 2009 Sep 1;92(3):S70–1.
- [7] Roque M, Lattes K, Serra S, Solà I, Geber S, Carreras R, et al. Fresh embryo transfer versus frozen embryo transfer in in vitro fertilization cycles: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2013 Jan;99(1):156–62.
- [8] Roque M, Valle M, Guimarães F, Sampaio M, Geber S. Freeze-all policy: fresh vs. frozen-thawed embryo transfer. *Fertil Steril*. 2015 May;103(5):1190–3.
- [9] Le Lannou D. Reflexions on embryo donation. *Gynecol Obstet Fertil*. 2007 Nov;35(11):1089–91.
- [10] LOI n° 2011-814 du 7 juillet 2011 relative à la bioéthique. 2011-814 juillet, 2011.
- [11] Mandelbaum J, Belaisch-Allart J, Junca AM, Antoine JM, Plachot M, Alvarez S, et al. Cryopreservation in human assisted reproduction is now routine for embryos but remains a research procedure for oocytes. *Hum Reprod Oxf Engl*. 1998 Jun;13 Suppl 3:161–74;discussion175–7.
- [12] Mansour R, Ishihara O, Adamson GD, Dyer S, de Mouzon J, Nygren KG, et al. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies world report: Assisted Reproductive Technology 2006. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2014 Jul;29(7):1536–51.
- [13] Elford K, Lawrence C, Leader A. Research implications of embryo cryopreservation choices made by patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2004 Apr;81(4):1154–5.
- [14] de Lacey S. Decision making about frozen supernumerary human embryos. *Hum Fertil Camb Engl*. 2013 Mar;16(1):31–4.
- [15] Nachtigall RD, Becker G, Friese C, Butler A, MacDougall K. Parents' conceptualization of their frozen embryos complicates the disposition decision. *Fertil Steril*. 2005 Aug;84(2):431–4.

- [16] Lysterly AD, Steinhauser K, Namey E, Tulsy JA, Cook-Deegan R, Sugarman J, et al. Factors that affect infertility patients' decisions about disposition of frozen embryos. *Fertil Steril*. 2006 Jun;85(6):1623–30.
- [17] Bruno C, Dudkiewicz-Sibony C, Berthaut I, Weil E, Brunet L, Fortier C, et al. Survey of 243 ART patients having made a final disposition decision about their surplus cryopreserved embryos: the crucial role of symbolic embryo representation. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2016 Jul;31(7):1508–14.
- [18] Karpel L, Achour-Frydman N, Frydman R, Flis-Trèves M. The destiny of cryopreserved embryos. *Gynecol Obstet Fertil*. 2007 Dec;35(12):1220–31.
- [19] Article L2141-4. Code de la santé publique.
- [20] McAvey B, Zapantis A, Jindal SK, Lieman HJ, Polotsky AJ. How many eggs are needed to produce an assisted reproductive technology baby: is more always better? *Fertil Steril*. 2011 Aug;96(2):332–5.
- [21] Arrêté du 24 décembre 2015 pris en application de l'article L. 2141-1 du code de la santé publique et modifiant l'arrêté du 3 août 2010 modifiant l'arrêté du 11 avril 2008 relatif aux règles de bonnes pratiques cliniques et biologiques d'assistance médicale à la procréation - Article 1.
- [22] Bracewell-Milnes T, Saso S, Abdalla H, Thum M-Y. A systematic review investigating psychosocial aspects of egg sharing in the United Kingdom and their potential effects on egg donation numbers. *Hum Fertil Camb Engl*. 2017 May 26;1–11.
- [23] Paffoni A, Guarneri C, Ferrari S, Restelli L, Nicolosi AE, Scarduelli C, et al. Effects of two vitrification protocols on the developmental potential of human mature oocytes. *Reprod Biomed Online*. 2011 Mar;22(3):292–8.
- [24] Potdar N, Gelbaya TA, Nardo LG. Oocyte vitrification in the 21st century and post-warming fertility outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online*. 2014 Aug;29(2):159–76.
- [25] 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*. 2017 Mar 1;23(2):139–55.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Différentes méthodes peuvent être utilisées afin de limiter le nombre d'embryons congelés. La plus utilisée en France aujourd'hui est la culture prolongée. La pauci-stimulation ovarienne est utilisée dans certains pays étrangers. La vitrification ovocytaire pourrait se démocratiser dans le futur.

1 La culture prolongée

La culture prolongée (CP) consiste à laisser évoluer les embryons jusqu'au 5^e voire 6^e jour *in vitro* (Figure 10). Les embryons ayant une évolution favorable atteignent alors le stade de blastocyste. Le transfert embryonnaire et la vitrification sont possibles à ce stade. La première naissance suite à la vitrification d'un blastocyste a été décrite en 2001 (48).

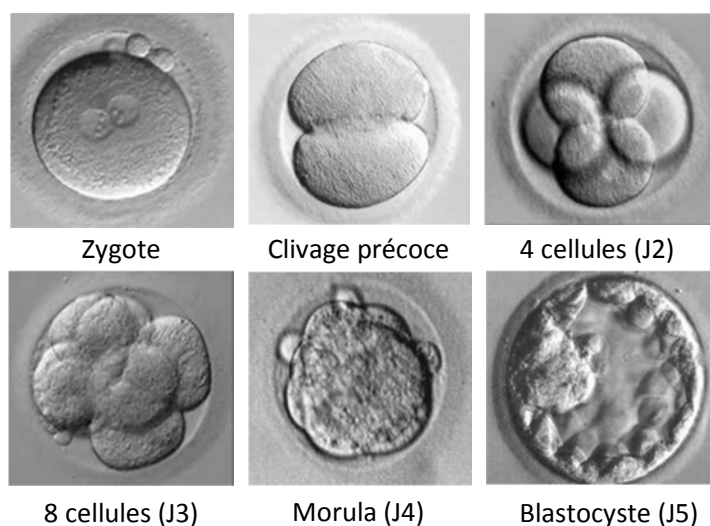


Figure 10 : Evolution embryonnaire

En France, le recours à la CP est de plus en plus fréquent dans les laboratoires d'AMP (91 centres en 2014) (3). La pratique de cette technique reste cependant hétérogène. Certains centres appliquent la CP à 100% de leurs cohortes embryonnaires, alors que d'autres ne l'appliquent que pour les embryons surnuméraires.

Cette technique a l'avantage de sélectionner les embryons capables d'atteindre *in vitro* un stade supérieur de maturation embryonnaire (donc un potentiel de développement supérieur) (49), ce qui ne reflète pas forcément exactement leurs capacités de développement *in utero*. Les embryons n'évoluant pas jusqu'au stade de blastocyste

arrêtent leur développement et/ou se lysent. La CP permet également de diminuer le nombre d'embryons à congeler (donc de réduire le coût de congélation par ponction ovocytaire) et de limiter le nombre de transferts d'embryons congelés par ponction ovocytaire.

Néanmoins, ses inconvénients résident dans le risque d'annulation de transfert (lorsqu'aucun blastocyste n'est obtenu à l'issue de la CP), mais surtout dans l'augmentation du temps d'exposition des embryons aux milieux de culture dont la composition n'est pas bien connue (50).

Dans la littérature, les taux cumulés de grossesse ne sont cependant pas clairement en faveur de la CP *versus* les transferts précoces à J2 ou J3 (51,52). En revanche, les taux de grossesse et de naissance par transfert de blastocyste sont supérieurs à ceux obtenus après transfert à J2 ou J3 (53,54). Le transfert d'un seul blastocyste est recommandé. Le nombre de grossesses multiples est ainsi très faible.

La culture prolongée permet de réduire le nombre d'embryons congelés et donc potentiellement le nombre d'embryons sans projet parental. Elle implique une maîtrise des conditions de culture au sein du laboratoire.

2 La vitrification ovocytaire

Contrairement à la congélation de sperme ou d'embryon, la congélation d'ovocyte ne fait pas partie de la routine de tous les centres d'AMP français. Congeler un ovocyte s'avère plus difficile que de congeler un embryon, du fait de sa taille, de sa structure ainsi que de la disposition de son matériel génétique (les chromosomes sont disposés sur la plaque équatoriale lorsque les ovocytes sont en métaphase II). Dans un premier temps, la technique de congélation lente (encore appelé « slow-cooling ») a été utilisée pour congeler les ovocytes. Les résultats étaient décevants en termes de survie et d'intégralité fonctionnelle. L'apport de la vitrification a été essentiel pour cryoconserver les ovocytes (28,55).

La première naissance après FIV utilisant des ovocytes vitrifiés a été décrite en 1999 au Japon (56). En Europe, c'est l'interdiction faite par l'Italie de congeler des embryons qui a motivé le développement des techniques de vitrification ovocytaire. Les taux de survie ovocytaire ont augmenté jusqu'à 90% (57).

La difficulté pour vitrifier des ovocytes peut faire discuter le système de vitrification avec dispositif dit « ouvert » afin d'augmenter la vitesse de refroidissement. Les études sont cependant discordantes à ce sujet (34,36,37).

Par ailleurs, deux récentes méta-analyses n'ont pas montré de différence significative concernant les taux de naissances vivantes par cycle entre ovocytes réchauffés *versus* ovocytes frais (28,58). Les dispositifs de vitrification dits « ouvert » étaient majoritairement utilisés dans ces études.

En France, les centres d'AMP ont peu d'expérience sur la vitrification ovocytaire pour deux raisons : elle n'est autorisée que depuis 2010 et l'autoconservation à visée sociétale est interdite. Elle est donc pratiquée principalement dans les deux indications suivantes : la préservation de fertilité (en cas de maladie et/ou de traitement potentiellement stérilisant) et le don d'ovocytes. Elle est très rarement utilisée dans une troisième situation en AMP : lors d'un échec de recueil de spermatozoïdes.

Ainsi, seulement 514 patientes ont eu recours à une conservation d'ovocytes dans le cadre de préservation de la fertilité en 2014. Les donneuses d'ovocytes représentaient quant à elles 501 ponctions cette même année (3).

Par ailleurs, la vitrification ovocytaire dans le don d'ovocyte permet de désynchroniser le temps du don du temps de la fécondation. L'anonymat de la donneuse est ainsi renforcé. L'organisation du don est plus aisée.

La vitrification ovocytaire permettrait de limiter le nombre d'ovocytes mis en fécondation lors d'une tentative de FIV. Proposer cette stratégie aux couples à fort risque d'embryons sans projet parental serait pertinent. Cela permettrait de réduire le nombre d'embryons sans projet parental évitant ainsi d'imposer un choix cornélien aux couples concernés. Le devenir des ovocytes surnuméraires serait laissé au jugement de la femme : la réalisation de nouveaux embryons avec son conjoint, le don à la recherche, le don à un autre couple ou encore la destruction de ses ovocytes ([Figure 11](#)).

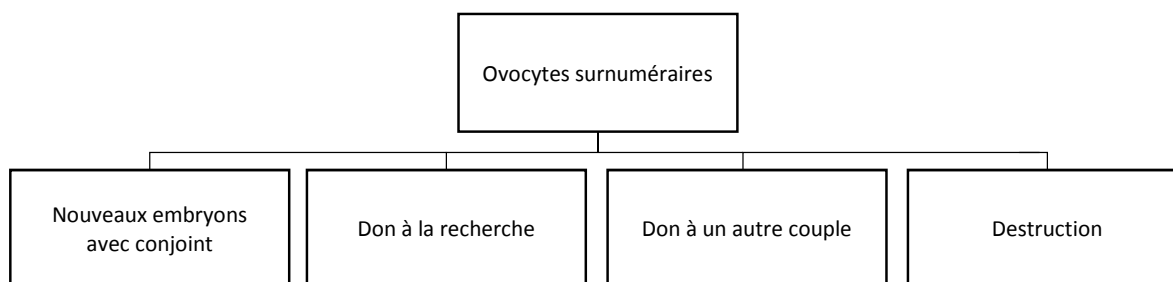


Figure 11 : Devenir des ovocytes surnuméraires

Le choix concernant le devenir de gamètes semble plus aisé que celui concernant le devenir d'un embryon. Détruire ses ovocytes semble plus « acceptable » mais aussi plus éthique que détruire des embryons (47).

Notre étude a identifié différents facteurs de risques d'embryons sans projet parental, à savoir : être une femme de moins de 38 ans, être une femme avec au moins un enfant hors couple, être un couple déjà parent d'au moins un enfant et avoir un nombre d'ovocytes matures ponctionnés supérieur ou égal à 6.

Le risque d'avoir des embryons congelés sans projet parental peut être calculé afin d'en discuter avec le couple avant la tentative (Tableau 2).

Tableau 2 : Modèle de régression logistique utilisé pour calculer la probabilité d'avoir des embryons congelés sans projet parental

| Paramètres | Coefficient |
|--|-------------|
| Intercept | -4.1695 |
| Age de la femme | |
| [30-35[ans | 0.2239 |
| [35-38[ans | 0.3646 |
| ≥ 38 ans | -0.1878 |
| Origine du sperme | |
| Don | 0.1014 |
| Testiculaire | -0.3558 |
| Présence d'un SOPK | -0.5497 |
| Antécédents de fertilité | |
| ≥ 1 enfant côté féminin (hors couple) | 0.8110 |
| ≥ 1 enfant du couple | 0.6191 |
| Nombre d'ovocytes matures ponctionnés | |
| [6-7] | 1.3709 |
| [8-13] | 1.9109 |
| ≥ 14 | 2.1258 |

Hosmer-Lemeshow test: p = 0.7160

Le calcul de la probabilité (p) se fait de la façon suivante :

$$\text{logit}(p) = \log[p/(1-p)] = A + S + PK + F + O - 4,1695$$

Le coefficient A correspond à l'âge de la femme

Le coefficient S correspond à l'origine du sperme

Le coefficient PK correspond à la présence d'un SOPK

Le coefficient F correspond aux antécédents de fertilité

Le coefficient O correspond au nombre d'ovocytes ponctionnés

Par exemple : une femme de 36 ans, souffrant d'un syndrome des ovaires polykystiques, qui réalise sa deuxième ICSI avec sperme de donneur pour un deuxième enfant, dont la ponction retrouve 11 ovocytes matures, a un risque de 15,15% d'avoir des embryons congelés sans projet parental ($\text{logit}(p) = 0,3646 + 0,1014 - 0,5497 + 0,6191 + 1,9109 - 4,1695 = -1,7232$ et donc $p = \exp(\text{logit}(p)) / [1 + \exp(\text{logit}(p))] = 0,1515$).

Dans notre cohorte de tentatives, la probabilité d'avoir des embryons congelés sans projet parental varie de 0,6% à 40,4% en utilisant cette méthode de calcul.

Dans le groupe « pas embryon sans projet parental », la moyenne du risque est de 5,4%.

Dans le groupe « embryons sans projet parental », la moyenne du risque est de 10,7%.

986 ponctions (61%) présentent un risque faible (0 à 5%) ; 336 ponctions (21%) un risque de 5 à 10% ; 194 ponctions (12%) un risque de 10 à 15% ; 61 ponctions (4%) un risque de 15 à 20% ; 32 ponctions (2%) un risque de 20 à 25% ; 9 ponctions (1%) un risque de 25 à 30% et 3 ponctions (<1%) un risque > 30%.

La question est : « Quel risque d'avoir des embryons congelés sans projet parental le couple est-il prêt à prendre ? » La solution étant alors de proposer la vitrification d'une partie de la cohorte ovocytaire lorsque ce risque paraît trop élevé.

En appliquant un seuil de risque de 10%, 18% des tentatives seraient concernées ; en appliquant un seuil de 15%, 6% des tentatives seraient concernées.

La politique d'un centre souhaitant appliquer cette stratégie de vitrification ovocytaire à partir d'un certain seuil d'ovocytes ponctionnés, devrait évidemment intégrer le surcoût engendré par la vitrification ovocytaire.

Ce surcoût est difficilement appréciable puisque le don d'ovocyte bénéficie d'une rémunération spécifique liée au nombre de dons réalisés par an (dotation MIG). Actuellement, le CHRU de Nancy ne dispose pas de l'autorisation de pratiquer l'AMP avec don d'ovocyte.

D'un point de vue médico-économique, la vitrification ovocytaire est remboursée par l'assurance maladie au même tarif que la vitrification embryonnaire (RIHN 1^e janvier 2016 C043 = 216€). Cependant le nombre d'ovocytes à vitrifier par cycle est très souvent supérieur au nombre d'embryons obtenus à l'issue de la culture. La vitrification ovocytaire a par conséquent un coût supérieur à la vitrification embryonnaire (coût à la charge du laboratoire). L'HAS a récemment saisi les sociétés savantes (notamment la fédération des CECOS et les BLEFCO) pour fournir un rapport de preuve d'efficacité des techniques de vitrification. Ces mêmes sociétés savantes finalisent leur proposition de cotation à la NABM et non plus en RIHN.

La vitrification ovocytaire tend à se développer en France. Pour preuve, le nombre de centres autorisés à pratiquer la vitrification ovocytaire est passé de 30 en 2012 à 52 en 2015.

3 Le don d'ovocytes

En France, les femmes âgées de 18 à 37 ans en bonne santé peuvent donner leurs ovocytes. Ce don est anonyme et gratuit.

Les centres autorisés pour le don d'ovocytes (Metz et Strasbourg dans la région Grand-Est) ont des difficultés pour satisfaire le nombre grandissant de couples inscrits sur liste d'attente (deux ans de délai minimum). On recense 501 donneuses et 1 052 transferts embryonnaires pour 861 couples receveurs en 2014 (3).

Devant la pénurie de donneuses d'ovocytes, différentes politiques sont appliquées par nos voisins européens. L'Espagne propose une rémunération financière aux donneuses. L'Angleterre propose « l'egg-sharing » qui consiste, pour un couple demandant une FIV, à autoriser le partage de la cohorte ovocytaire ponctionnée en donnant une partie des

ovocytes au titre du don d'ovocyte. En compensation, le couple infertile sera exonéré d'une grande partie des coûts relatifs à la FIV : il s'agit d'une rémunération indirecte.

En France, la loi de Bioéthique a été récemment modifiée afin d'optimiser le don d'ovocytes : ainsi, depuis octobre 2015, le don de gamètes est possible pour les adultes n'ayant pas encore procréé. En échange d'un don, les jeunes femmes nullipares peuvent conserver une partie de leurs ovocytes (59). Dans cette situation, les cinq premiers ovocytes matures recueillis seront forcément destinés au don. Au-delà de 10 ovocytes recueillis, la moitié sera vitrifiée dans le cadre de l'autoconservation. Le nombre d'ovocytes disponibles pour la patiente est donc souvent restreint alors qu'un nombre important d'ovocytes vitrifiés est nécessaire pour accomplir une naissance (60). Ce nombre dépend directement de l'âge de la patiente au moment du don.

L'autoconservation sociétale n'étant pas autorisée en France, la question de la réelle motivation du don altruiste peut être posée.

Notre stratégie alternative, consistant à réaliser la FIV avec un nombre défini d'ovocytes et à congeler les autres, permettrait de diminuer le nombre d'embryons sans projet parental mais aussi d'augmenter potentiellement le nombre d'ovocytes disponibles au don.

Le couple dont le projet parental n'aurait pas abouti pourrait bénéficier d'une nouvelle tentative de FIV à partir notamment des ovocytes congelés. Dans le cas où le projet parental aurait abouti, il est probable qu'en réponse aux lettres de relance qui leur sont adressées annuellement, un certain nombre de femmes choisissent de donner leurs ovocytes à des femmes infertiles.

Au final, cette question des embryons congelés sans projet parental devrait être intégrée à la réflexion définissant la politique d'un centre d'AMP.

La vitrification ovocytaire pourrait être proposée comme une alternative à la vitrification embryonnaire. L'objectif étant à la fois de limiter le problème éthique posé par les embryons sans projet parental, mais également d'augmenter le nombre d'ovocytes disponibles au don. Cependant, cela nécessite de maîtriser la technique de vitrification et d'identifier les couples à qui le proposer. L'utilisation du score de risque d'avoir un embryon sans projet parental devrait être validé dans une étude multicentrique qui proposerait le seuil idéal à appliquer.

Bibliographie

1. BEH n°7-8-9 (21 février 2012) / 2012 / BEH - Bulletin épidémiologique hebdomadaire [Internet]. Disponible sur: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Publications-et-outils/BEH-Bulletin-epidemiologique-hebdomadaire/2012/BEH-n-7-8-9-21-fevrier-2012>
2. Thonneau P, Marchand S, Tallec A, Ferial ML, Ducot B, Lansac J, et al. Incidence and main causes of infertility in a resident population (1,850,000) of three French regions (1988-1989). *Hum Reprod Oxf Engl.* juill 1991;6(6):811-6.
3. Agence de la biomédecine - Rapport médical et scientifique de l'assistance médicale à la procréation et de la génétique humaines en France - Activité d' Assistance Médicale à la Procréation 2014 [Internet]. Disponible sur: <http://www.agence-biomedecine.fr/annexes/bilan2015/donnees/procreation/01-amp/synthese.htm>
4. Zeilmaker GH, Alberda AT, van Gent I, Rijkmans CM, Drogendijk AC. Two pregnancies following transfer of intact frozen-thawed embryos. *Fertil Steril.* août 1984;42(2):293-6.
5. Code de la santé publique - Article L2141-3. Code de la santé publique.
6. Arrêté du 30 juin 2017 modifiant l'arrêté du 11 avril 2008 modifié relatif aux règles de bonnes pratiques cliniques et biologiques d'assistance médicale à la procréation | Legifrance [Internet]. [cité 29 juill 2017]. Disponible sur: <https://www.legifrance.gouv.fr/eli/arrete/2017/6/30/SSAP1719338A/jo>
7. Neubourg DD, Mangelschots K, Van Royen E, Vercruyssen M, Ryckaert G, Valkenburg M, et al. Impact of patients' choice for single embryo transfer of a top quality embryo versus double embryo transfer in the first IVF/ICSI cycle. *Hum Reprod Oxf Engl.* oct 2002;17(10):2621-5.
8. Mandelbaum J, Belaisch-Allart J, Junca AM, Antoine JM, Plachot M, Alvarez S, et al. Cryopreservation in human assisted reproduction is now routine for embryos but remains a research procedure for oocytes. *Hum Reprod Oxf Engl.* juin 1998;13 Suppl 3:161-74;discussion175-7.
9. Mansour R, Ishihara O, Adamson GD, Dyer S, de Mouzon J, Nygren KG, et al. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies world report: Assisted Reproductive Technology 2006. *Hum Reprod Oxf Engl.* juill 2014;29(7):1536-51.
10. Code de la santé publique - Article L2141-1. Code de la santé publique.
11. Whittingham DG. Survival of mouse embryos after freezing and thawing. *Nature.* 10 sept 1971;233(5315):125-6.
12. Edgar DH, Bourne H, Jericho H, McBain JC. The developmental potential of cryopreserved human embryos. *Mol Cell Endocrinol.* 27 nov 2000;169(1-2):69-72.
13. Burns WN, Gaudet TW, Martin MB, Leal YR, Schoen H, Eddy CA, et al. Survival of cryopreservation and thawing with all blastomeres intact identifies multicell embryos with superior frozen embryo transfer outcome. *Fertil Steril.* sept 1999;72(3):527-32.
14. Tang R, Catt J, Howlett D. Towards defining parameters for a successful single embryo transfer in frozen cycles. *Hum Reprod Oxf Engl.* mai 2006;21(5):1179-83.
15. Son W-Y, Chung J-T, Gidoni Y, Holzer H, Levin D, Chian R-C, et al. Comparison of survival rate of cleavage stage embryos produced from in vitro maturation cycles after slow freezing and after vitrification. *Fertil Steril.* sept 2009;92(3):956-8.

16. El-Toukhy T, Khalaf Y, Al-Darazi K, Andritsos V, Taylor A, Braude P. Effect of blastomere loss on the outcome of frozen embryo replacement cycles. *Fertil Steril.* mai 2003;79(5):1106-11.
17. Van den Abbeel E, Camus M, Verheyen G, Van Waesberghe L, Devroey P, Van Steirteghem A. Slow controlled-rate freezing of sequentially cultured human blastocysts: an evaluation of two freezing strategies. *Hum Reprod Oxf Engl.* oct 2005;20(10):2939-45.
18. Agence de la biomédecine - Rapport médical et scientifique 2010 [Internet]. [cité 26 nov 2016]. Disponible sur: <https://www.agence-biomedecine.fr/annexes/bilan2011/donnees/procreation/01-amp/synthese.htm>
19. Wennerholm UB, Bergh C, Hamberger L, Lundin K, Nilsson L, Wikland M, et al. Incidence of congenital malformations in children born after ICSI. *Hum Reprod Oxf Engl.* avr 2000;15(4):944-8.
20. Wennerholm U-B, Söderström-Anttila V, Bergh C, Aittomäki K, Hazekamp J, Nygren K-G, et al. Children born after cryopreservation of embryos or oocytes: a systematic review of outcome data. *Hum Reprod Oxf Engl.* sept 2009;24(9):2158-72.
21. Kuwayama M. Highly efficient vitrification for cryopreservation of human oocytes and embryos: the Cryotop method. *Theriogenology.* 1 janv 2007;67(1):73-80.
22. Rall WF, Fahy GM. Ice-free cryopreservation of mouse embryos at -196 degrees C by vitrification. *Nature.* 14 févr 1985;313(6003):573-5.
23. Yavin S, Arav A. Measurement of essential physical properties of vitrification solutions. *Theriogenology.* 1 janv 2007;67(1):81-9.
24. Cobo A, de los Santos MJ, Castellò D, Gámiz P, Campos P, Remohí J. Outcomes of vitrified early cleavage-stage and blastocyst-stage embryos in a cryopreservation program: evaluation of 3,150 warming cycles. *Fertil Steril.* nov 2012;98(5):1138-46.e1.
25. Loutradi KE, Kolibianakis EM, Venetis CA, Papanikolaou EG, Pados G, Bontis I, et al. Cryopreservation of human embryos by vitrification or slow freezing: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* juill 2008;90(1):186-93.
26. AbdelHafez FF, Desai N, Abou-Setta AM, Falcone T, Goldfarb J. Slow freezing, vitrification and ultra-rapid freezing of human embryos: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online.* févr 2010;20(2):209-22.
27. Roque M, Lattes K, Serra S, Solà I, Geber S, Carreras R, et al. Fresh embryo transfer versus frozen embryo transfer in in vitro fertilization cycles: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* janv 2013;99(1):156-62.
28. 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.* 1 mars 2017;23(2):139-55.
29. Bielanski A, Nadin-Davis S, Sapp T, Lutze-Wallace C. Viral contamination of embryos cryopreserved in liquid nitrogen. *Cryobiology.* mars 2000;40(2):110-6.
30. Balaban B, Yakin K, Isiklar A, Urman B. Utilization of high-security straws for embryo freezing in an in vitro fertilization program: a prospective, randomized study. *Fertil Steril.* mars 2007;87(3):691-6.

31. Vajta G, Rienzi L, Ubaldi FM. Open versus closed systems for vitrification of human oocytes and embryos. *Reprod Biomed Online*. avr 2015;30(4):325-33.
32. Argyle CE, Harper JC, Davies MC. Oocyte cryopreservation: where are we now? *Hum Reprod Update*. juin 2016;22(4):440-9.
33. 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.
34. Vanderzwalmen P, Zech N, Prapas Y, Panagiotidis Y, Papatheodorou A, Lejeune B, et al. [Closed carrier device: a reality to vitrify oocytes and embryos in aseptic conditions]. *Gynecol Obstet Fertil*. sept 2010;38(9):541-6.
35. Fasano G, Fontenelle N, Vannin A-S, Biramane J, Devreker F, Englert Y, et al. A randomized controlled trial comparing two vitrification methods versus slow-freezing for cryopreservation of human cleavage stage embryos. *J Assist Reprod Genet*. févr 2014;31(2):241-7.
36. Paffoni A, Guarneri C, Ferrari S, Restelli L, Nicolosi AE, Scarduelli C, et al. Effects of two vitrification protocols on the developmental potential of human mature oocytes. *Reprod Biomed Online*. mars 2011;22(3):292-8.
37. Papatheodorou A, Vanderzwalmen P, Panagiotidis Y, Prapas N, Zikopoulos K, Georgiou I, et al. Open versus closed oocyte vitrification system: a prospective randomized sibling-oocyte study. *Reprod Biomed Online*. juin 2013;26(6):595-602.
38. L'encadrement international - Agence de la biomédecine [Internet]. [cité 3 sept 2017]. Disponible sur: <https://www.agence-biomedecine.fr/L-encadrement-international>
39. Lyerly AD, Steinhauer K, Namey E, Tulskey JA, Cook-Deegan R, Sugarman J, et al. Factors that affect infertility patients' decisions about disposition of frozen embryos. *Fertil Steril*. juin 2006;85(6):1623-30.
40. Nachtigall RD, Becker G, Friese C, Butler A, MacDougall K. Parents' conceptualization of their frozen embryos complicates the disposition decision. *Fertil Steril*. août 2005;84(2):431-4.
41. Bruno C, Dudkiewicz-Sibony C, Berthaut I, Weil E, Brunet L, Fortier C, et al. Survey of 243 ART patients having made a final disposition decision about their surplus cryopreserved embryos: the crucial role of symbolic embryo representation. *Hum Reprod Oxf Engl*. juill 2016;31(7):1508-14.
42. Provoost V, Pennings G, De Sutter P, Dhont M. A private matter: how patients decide what to do with cryopreserved embryos after infertility treatment. *Hum Fertil Camb Engl*. déc 2012;15(4):210-6.
43. Wittemer C, Bettahar-Lebugle K. Etat des lieux de l'accueil d'embryons en France. *Médecine Thérapeutique Médecine Reprod Gynécologie Endocrinol*. 25 avr 2008;10(1):18-20.
44. Le Lannou D. Reflexions on embryo donation. *Gynecol Obstet Fertil*. nov 2007;35(11):1089-91.
45. Temstet R, Devaux A, Lourdel E, Cabry R, Brzakowski M, Copin H, et al. [Embryo donation: why is there a delay in the implementation in France? A discussion on the practical, ethical and psychological dilemmas]. *Gynecol Obstet Fertil*. août 2011;39(7-8):433-7.
46. Guérin JF. Les problèmes liés à l'organisation de l'accueil d'embryons : le point de vue du praticien « de terrain ». *Médecine Thérapeutique Médecine Reprod Gynécologie Endocrinol*. 25 avr

2008;10(1):24-6.

47. Karpel L, Achour-Frydman N, Frydman R, Flis-Trèves M. The destiny of cryopreserved embryos. *Gynecol Obstet Fertil.* déc 2007;35(12):1220-31.
48. Mukaida T, Nakamura S, Tomiyama T, Wada S, Kasai M, Takahashi K. Successful birth after transfer of vitrified human blastocysts with use of a cryoloop containerless technique. *Fertil Steril.* sept 2001;76(3):618-20.
49. Ménézo Y, Chouteau J, Veiga A. In vitro fertilization and blastocyst transfer for carriers of chromosomal translocation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* juin 2001;96(2):193-5.
50. Maheshwari A, Hamilton M, Bhattacharya S. Should we be promoting embryo transfer at blastocyst stage? *Reprod Biomed Online.* févr 2016;32(2):142-6.
51. Blake D, Proctor M, Johnson N, Olive D. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted conception. *Cochrane Database Syst Rev.* 19 oct 2005;(4):CD002118.
52. Guerif F, Lemseffer M, Bidault R, Gasnier O, Saussereau MH, Cadoret V, et al. Single Day 2 embryo versus blastocyst-stage transfer: a prospective study integrating fresh and frozen embryo transfers. *Hum Reprod Oxf Engl.* mai 2009;24(5):1051-8.
53. Papanikolaou EG, Camus M, Kolibianakis EM, Van Landuyt L, Van Steirteghem A, Devroey P. In vitro fertilization with single blastocyst-stage versus single cleavage-stage embryos. *N Engl J Med.* 16 mars 2006;354(11):1139-46.
54. Zech NH, Lejeune B, Puissant F, Vanderzwalmen S, Zech H, Vanderzwalmen P. Prospective evaluation of the optimal time for selecting a single embryo for transfer: day 3 versus day 5. *Fertil Steril.* juill 2007;88(1):244-6.
55. Glujovsky D, Riestra B, Sueldo C, Fiszbajn G, Repping S, Nodar F, et al. Vitrification versus slow freezing for women undergoing oocyte cryopreservation. *Cochrane Database Syst Rev.* 5 sept 2014;(9):CD010047.
56. Kuleshova L, Gianaroli L, Magli C, Ferraretti A, Trounson A. Birth following vitrification of a small number of human oocytes: case report. *Hum Reprod Oxf Engl.* déc 1999;14(12):3077-9.
57. Dessolle L, de Larouzière V, Ravel C, Berthaut I, Antoine J-M, Mandelbaum J. [Slow freezing and vitrification of human mature and immature oocytes]. *Gynecol Obstet Fertil.* sept 2009;37(9):712-9.
58. Potdar N, Gelbaya TA, Nardo LG. Oocyte vitrification in the 21st century and post-warming fertility outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online.* août 2014;29(2):159-76.
59. Arrêté du 24 décembre 2015 pris en application de l'article L. 2141-1 du code de la santé publique et modifiant l'arrêté du 3 août 2010 modifiant l'arrêté du 11 avril 2008 relatif aux règles de bonnes pratiques cliniques et biologiques d'assistance médicale à la procréation.
60. Goldman RH, Racowsky C, Farland LV, Munné S, Ribustello L, Fox JH. Predicting the likelihood of live birth for elective oocyte cryopreservation: a counseling tool for physicians and patients. *Hum Reprod Oxf Engl.* 01 2017;32(4):853-9.

RÉSUMÉ DE LA THÈSE

Introduction : La congélation embryonnaire crée une dissociation dans le temps entre le projet parental et sa réalisation avec pour conséquence possible une disparition de ce projet. Les embryons surnuméraires ainsi conçus posent question bien que l'apport de la cryoconservation embryonnaire dans les techniques d'AMP ne puisse pas être remis en cause. Existe-t-il des facteurs de risques identifiables spécifiques aux couples à risque d'embryons surnuméraires sans projet parental ? Si tel est le cas, quelle alternative thérapeutique pourrait-on leur proposer afin de limiter la conception de ces embryons ?

Matériel et Méthode : Etude rétrospective d'une cohorte de 1621 ponctions ovocytaires au CHRU de Nancy entre janvier 2009 et décembre 2014.

Résultats : L'âge de la femme, le nombre d'ovocytes matures et les antécédents de fertilité sont des facteurs de risque d'embryons surnuméraires sans projet parental. La présence d'un SOPK et l'origine du sperme peuvent également être pris en compte afin d'évaluer ce risque.

Discussion : La vitrification ovocytaire peut être proposée comme une alternative à la vitrification embryonnaire. L'objectif est à la fois de limiter le problème éthique posé par les embryons sans projet parental, mais aussi d'augmenter le nombre d'ovocytes disponibles au don. Identifier les couples à fort risque d'embryons sans projet parental à l'aide d'un score, permet de proposer la vitrification d'une partie de la cohorte ovocytaire.

RISK FACTORS FOR CRYOPRESERVED EMBRYOS WITHOUT PARENTHOOD PROJECT: RETROSPECTIVE COHORT STUDY OF 1,621 OOCYTES RETRIEVALS IN NANCY CHRU

THÈSE : MÉDECINE SPÉCIALISÉE – 2017

MOTS CLEFS : Embryon ; Projet parental ; Ovocyte ; Vitrification ; Surnuméraire

INTITULÉ ET ADRESSE :

UNIVERSITÉ DE LORRAINE
Faculté de Médecine de Nancy
9, Avenue de la Forêt de Haye
54505 VANDOEUVRE LES NANCY Cedex
