

UNIVERSITE DE STRASBOURG  
FACULTE DE MEDECINE, MAÏEUTIQUE ET SCIENCES DE LA SANTE

ANNEE : 2023

N° : 240

THÈSE  
PRÉSENTÉE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT  
DE DOCTEUR EN MÉDECINE  
Diplôme d'État  
Mention D.E.S Biologie Médicale  
PAR  
GONTARD Louise  
Née le 12/12/1993 à COLMAR

**Intérêt de la FIV ou de l'ICSI dans les infertilités non masculines, utilisation du modèle demi-FIV demi-ICSI au Laboratoire de Biologie de la Reproduction des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg**

Président de thèse : Marius TELETIN, Professeur  
Directeur de thèse : Jean-Baptiste DURAND, Docteur

UNIVERSITE DE STRASBOURG  
FACULTE DE MEDECINE, MAÏEUTIQUE ET SCIENCES DE LA SANTE

ANNEE : 2023

N° : 240

THÈSE  
PRÉSENTÉE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT  
DE DOCTEUR EN MÉDECINE  
Diplôme d'État  
Mention D.E.S Biologie Médicale  
PAR  
GONTARD Louise  
Née le 12/12/1993 à COLMAR

**Intérêt de la FIV ou de l'ICSI dans les infertilités non masculines, utilisation du modèle demi-FIV demi-ICSI au Laboratoire de Biologie de la Reproduction des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg**

Président de thèse : Marius TELETIN, Professeur  
Directeur de thèse : Jean-Baptiste DURAND, Docteur



FACULTÉ DE MÉDECINE,  
MAÏENTIQUE ET SCIENCES DE LA SANTÉ

DATE DE DÉPÔT DES CANDIDATURES  
01 Mars 2022 à 12h00 2022-2023

- Responsable de l'école de formation des internes
- Responsable de l'enseignement de la médecine
- Responsable de l'enseignement de la chirurgie
- Responsable de l'enseignement de la pédiatrie
- Responsable de l'enseignement de la gynécologie-obstétrique
- Responsable de l'enseignement de la dermatologie
- Responsable de l'enseignement de la médecine générale
- Responsable de l'enseignement de la médecine interne
- Responsable de l'enseignement de la médecine légale
- Responsable de l'enseignement de la médecine préventive
- Responsable de l'enseignement de la médecine sociale
- Responsable de l'enseignement de la médecine du travail
- Responsable de l'enseignement de la médecine sportive
- Responsable de l'enseignement de la médecine légale
- Responsable de l'enseignement de la médecine préventive
- Responsable de l'enseignement de la médecine sociale
- Responsable de l'enseignement de la médecine du travail
- Responsable de l'enseignement de la médecine sportive



UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER  
FACULTÉ DE MÉDECINE,  
MAÏENTIQUE ET SCIENCES DE LA SANTÉ

A1 - PROFESSEUR TITULAIRE DU COLLÈGE DE FRANCE

PROFESSEUR TITULAIRE DU COLLÈGE DE FRANCE (A1) - PROFESSEUR TITULAIRE DU COLLÈGE DE FRANCE (A1)

A2 - MEMBRE PERMANENT À L'INSTITUT UNIVERSITAIRE DE FRANCE (I.U.F.)

MEMBRE PERMANENT À L'INSTITUT UNIVERSITAIRE DE FRANCE (I.U.F.) - MEMBRE PERMANENT À L'INSTITUT UNIVERSITAIRE DE FRANCE (I.U.F.)

A3 - PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HÔPITALIERS (P.U.-P.H.)

Discipline	Code	Description des disciplines enseignées / enseignements	Code de la discipline / Code de la discipline
ANATOMIE	AN01	• Anatomie humaine (général)	AN01
ANATOMIE	AN02	• Anatomie humaine (spécialité)	AN02
ANATOMIE	AN03	• Anatomie humaine (spécialité)	AN03
ANATOMIE	AN04	• Anatomie humaine (spécialité)	AN04
ANATOMIE	AN05	• Anatomie humaine (spécialité)	AN05
ANATOMIE	AN06	• Anatomie humaine (spécialité)	AN06
ANATOMIE	AN07	• Anatomie humaine (spécialité)	AN07
ANATOMIE	AN08	• Anatomie humaine (spécialité)	AN08
ANATOMIE	AN09	• Anatomie humaine (spécialité)	AN09
ANATOMIE	AN10	• Anatomie humaine (spécialité)	AN10
ANATOMIE	AN11	• Anatomie humaine (spécialité)	AN11
ANATOMIE	AN12	• Anatomie humaine (spécialité)	AN12
ANATOMIE	AN13	• Anatomie humaine (spécialité)	AN13
ANATOMIE	AN14	• Anatomie humaine (spécialité)	AN14
ANATOMIE	AN15	• Anatomie humaine (spécialité)	AN15
ANATOMIE	AN16	• Anatomie humaine (spécialité)	AN16
ANATOMIE	AN17	• Anatomie humaine (spécialité)	AN17
ANATOMIE	AN18	• Anatomie humaine (spécialité)	AN18
ANATOMIE	AN19	• Anatomie humaine (spécialité)	AN19
ANATOMIE	AN20	• Anatomie humaine (spécialité)	AN20
ANATOMIE	AN21	• Anatomie humaine (spécialité)	AN21
ANATOMIE	AN22	• Anatomie humaine (spécialité)	AN22
ANATOMIE	AN23	• Anatomie humaine (spécialité)	AN23
ANATOMIE	AN24	• Anatomie humaine (spécialité)	AN24
ANATOMIE	AN25	• Anatomie humaine (spécialité)	AN25
ANATOMIE	AN26	• Anatomie humaine (spécialité)	AN26
ANATOMIE	AN27	• Anatomie humaine (spécialité)	AN27
ANATOMIE	AN28	• Anatomie humaine (spécialité)	AN28
ANATOMIE	AN29	• Anatomie humaine (spécialité)	AN29
ANATOMIE	AN30	• Anatomie humaine (spécialité)	AN30
ANATOMIE	AN31	• Anatomie humaine (spécialité)	AN31
ANATOMIE	AN32	• Anatomie humaine (spécialité)	AN32
ANATOMIE	AN33	• Anatomie humaine (spécialité)	AN33
ANATOMIE	AN34	• Anatomie humaine (spécialité)	AN34
ANATOMIE	AN35	• Anatomie humaine (spécialité)	AN35
ANATOMIE	AN36	• Anatomie humaine (spécialité)	AN36
ANATOMIE	AN37	• Anatomie humaine (spécialité)	AN37
ANATOMIE	AN38	• Anatomie humaine (spécialité)	AN38
ANATOMIE	AN39	• Anatomie humaine (spécialité)	AN39
ANATOMIE	AN40	• Anatomie humaine (spécialité)	AN40
ANATOMIE	AN41	• Anatomie humaine (spécialité)	AN41
ANATOMIE	AN42	• Anatomie humaine (spécialité)	AN42
ANATOMIE	AN43	• Anatomie humaine (spécialité)	AN43
ANATOMIE	AN44	• Anatomie humaine (spécialité)	AN44
ANATOMIE	AN45	• Anatomie humaine (spécialité)	AN45
ANATOMIE	AN46	• Anatomie humaine (spécialité)	AN46
ANATOMIE	AN47	• Anatomie humaine (spécialité)	AN47
ANATOMIE	AN48	• Anatomie humaine (spécialité)	AN48
ANATOMIE	AN49	• Anatomie humaine (spécialité)	AN49
ANATOMIE	AN50	• Anatomie humaine (spécialité)	AN50
ANATOMIE	AN51	• Anatomie humaine (spécialité)	AN51
ANATOMIE	AN52	• Anatomie humaine (spécialité)	AN52
ANATOMIE	AN53	• Anatomie humaine (spécialité)	AN53
ANATOMIE	AN54	• Anatomie humaine (spécialité)	AN54
ANATOMIE	AN55	• Anatomie humaine (spécialité)	AN55
ANATOMIE	AN56	• Anatomie humaine (spécialité)	AN56
ANATOMIE	AN57	• Anatomie humaine (spécialité)	AN57
ANATOMIE	AN58	• Anatomie humaine (spécialité)	AN58
ANATOMIE	AN59	• Anatomie humaine (spécialité)	AN59
ANATOMIE	AN60	• Anatomie humaine (spécialité)	AN60
ANATOMIE	AN61	• Anatomie humaine (spécialité)	AN61
ANATOMIE	AN62	• Anatomie humaine (spécialité)	AN62
ANATOMIE	AN63	• Anatomie humaine (spécialité)	AN63
ANATOMIE	AN64	• Anatomie humaine (spécialité)	AN64
ANATOMIE	AN65	• Anatomie humaine (spécialité)	AN65
ANATOMIE	AN66	• Anatomie humaine (spécialité)	AN66
ANATOMIE	AN67	• Anatomie humaine (spécialité)	AN67
ANATOMIE	AN68	• Anatomie humaine (spécialité)	AN68
ANATOMIE	AN69	• Anatomie humaine (spécialité)	AN69
ANATOMIE	AN70	• Anatomie humaine (spécialité)	AN70
ANATOMIE	AN71	• Anatomie humaine (spécialité)	AN71
ANATOMIE	AN72	• Anatomie humaine (spécialité)	AN72
ANATOMIE	AN73	• Anatomie humaine (spécialité)	AN73
ANATOMIE	AN74	• Anatomie humaine (spécialité)	AN74
ANATOMIE	AN75	• Anatomie humaine (spécialité)	AN75
ANATOMIE	AN76	• Anatomie humaine (spécialité)	AN76
ANATOMIE	AN77	• Anatomie humaine (spécialité)	AN77
ANATOMIE	AN78	• Anatomie humaine (spécialité)	AN78
ANATOMIE	AN79	• Anatomie humaine (spécialité)	AN79
ANATOMIE	AN80	• Anatomie humaine (spécialité)	AN80
ANATOMIE	AN81	• Anatomie humaine (spécialité)	AN81
ANATOMIE	AN82	• Anatomie humaine (spécialité)	AN82
ANATOMIE	AN83	• Anatomie humaine (spécialité)	AN83
ANATOMIE	AN84	• Anatomie humaine (spécialité)	AN84
ANATOMIE	AN85	• Anatomie humaine (spécialité)	AN85
ANATOMIE	AN86	• Anatomie humaine (spécialité)	AN86
ANATOMIE	AN87	• Anatomie humaine (spécialité)	AN87
ANATOMIE	AN88	• Anatomie humaine (spécialité)	AN88
ANATOMIE	AN89	• Anatomie humaine (spécialité)	AN89
ANATOMIE	AN90	• Anatomie humaine (spécialité)	AN90
ANATOMIE	AN91	• Anatomie humaine (spécialité)	AN91
ANATOMIE	AN92	• Anatomie humaine (spécialité)	AN92
ANATOMIE	AN93	• Anatomie humaine (spécialité)	AN93
ANATOMIE	AN94	• Anatomie humaine (spécialité)	AN94
ANATOMIE	AN95	• Anatomie humaine (spécialité)	AN95
ANATOMIE	AN96	• Anatomie humaine (spécialité)	AN96
ANATOMIE	AN97	• Anatomie humaine (spécialité)	AN97
ANATOMIE	AN98	• Anatomie humaine (spécialité)	AN98
ANATOMIE	AN99	• Anatomie humaine (spécialité)	AN99
ANATOMIE	AN100	• Anatomie humaine (spécialité)	AN100

















### C - ENSEIGNANTS ASSOCIÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE

#### C1 - PROFESSEURS ASSOCIÉS DES UNIVERSITÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE (mi-temps)

M. JAY, DOUGLAS  
M. WILSON, DOUGLAS  
M. WILSON, MONTREAL  
M. WILSON, MONTREAL  
M. WILSON, MONTREAL

#### C2 - MAÎTRE DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE - TITULAIRE

M. WILSON, MONTREAL  
M. WILSON, MONTREAL

#### C3 - MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS DES UNIVERSITÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE (mi-temps)

M. WILSON, MONTREAL  
M. WILSON, MONTREAL  
M. WILSON, MONTREAL  
M. WILSON, MONTREAL  
M. WILSON, MONTREAL

### D - PRATICIENS HÔPITALIERS - CHEFS DE SERVICE NON UNIVERSITAIRES

1. INTERNE GÉNÉRAL	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière</li> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière (poste de chef de clinique hospitalière)</li> </ul>
2. COORDONATEUR	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière (poste de chef de clinique hospitalière)</li> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière</li> </ul>
3. MÉDECIN GÉNÉRAL	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière</li> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière (poste de chef de clinique hospitalière)</li> </ul>
4. MÉDECIN GÉNÉRAL	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière</li> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière (poste de chef de clinique hospitalière)</li> </ul>
5. MÉDECIN GÉNÉRAL	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière</li> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière (poste de chef de clinique hospitalière)</li> </ul>
6. MÉDECIN GÉNÉRAL	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière</li> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière (poste de chef de clinique hospitalière)</li> </ul>
7. MÉDECIN GÉNÉRAL	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière</li> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière (poste de chef de clinique hospitalière)</li> </ul>
8. MÉDECIN GÉNÉRAL	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière</li> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière (poste de chef de clinique hospitalière)</li> </ul>
9. MÉDECIN GÉNÉRAL	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière</li> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière (poste de chef de clinique hospitalière)</li> </ul>
10. MÉDECIN GÉNÉRAL	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière</li> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière (poste de chef de clinique hospitalière)</li> </ul>
11. MÉDECIN GÉNÉRAL	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière</li> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière (poste de chef de clinique hospitalière)</li> </ul>
12. MÉDECIN GÉNÉRAL	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière</li> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière (poste de chef de clinique hospitalière)</li> </ul>
13. MÉDECIN GÉNÉRAL	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière</li> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière (poste de chef de clinique hospitalière)</li> </ul>
14. MÉDECIN GÉNÉRAL	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière</li> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière (poste de chef de clinique hospitalière)</li> </ul>
15. MÉDECIN GÉNÉRAL	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière</li> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière (poste de chef de clinique hospitalière)</li> </ul>
16. MÉDECIN GÉNÉRAL	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière</li> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière (poste de chef de clinique hospitalière)</li> </ul>
17. MÉDECIN GÉNÉRAL	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière</li> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière (poste de chef de clinique hospitalière)</li> </ul>
18. MÉDECIN GÉNÉRAL	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière</li> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière (poste de chef de clinique hospitalière)</li> </ul>
19. MÉDECIN GÉNÉRAL	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière</li> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière (poste de chef de clinique hospitalière)</li> </ul>
20. MÉDECIN GÉNÉRAL	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière</li> <li>- 1 poste de médecine générale hospitalière (poste de chef de clinique hospitalière)</li> </ul>







## **SERMENT D'HIPPOCRATE** (version historique)

En présence des maîtres de cette école, de mes chers condisciples, je promets et je jure au nom de l'Être suprême d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admise à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe.

Ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser les crimes.

Respectueuse et reconnaissante envers mes maîtres je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis restée fidèle à mes promesses. Que je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.

Au Président du jury de thèse,

Monsieur le Professeur Marius TELETIN,

Je te présente mes plus sincères remerciements pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury de thèse. Semestre après semestre, tes encouragements et ta bienveillance ont accompagné mon travail au quotidien et cela a grandement contribué à ma réussite dans cette formation. Je te suis également reconnaissante pour les enseignements que j'ai pu acquérir à tes côtés ainsi que pour les opportunités que tu m'as offertes. Par ces quelques lignes, je souhaite exprimer toute ma gratitude et mon profond respect à ton égard.

Au Directeur de thèse,

Monsieur le Docteur Jean-Baptiste DURAND,

Je te remercie chaleureusement d'avoir encadré ce travail de thèse. Je suis extrêmement reconnaissante pour ta patience et ta disponibilité. Tes suggestions et commentaires éclairés ont beaucoup enrichi mon travail. J'ai pu évoluer dans ma formation en travaillant à tes côtés grâce à ton expertise et à ton soutien qui m'ont permis de gagner en autonomie. Je tiens ainsi à te remercier pour ce travail mais aussi pour tous les bons moments que nous avons partagés au quotidien.



Aux membres du jury,

Monsieur le Professeur Jean-Marc LESSINGER,

Je vous remercie sincèrement d'avoir accepté de faire partie de ce jury de thèse. Je tiens également à vous faire part de ma reconnaissance pour l'encadrement que vous avez assuré tout au long de mon internat.

Madame la Professeure Catherine RONGIERES,

Je te remercie chaleureusement d'avoir pris part à ce jury de thèse. Je te suis reconnaissante pour ton soutien et ta disponibilité. Je tiens aussi à travers ces quelques mots exprimer ma gratitude envers l'ensemble de l'équipe clinique qui m'a accompagnée lors de mes stages.

Madame la Docteure Cécile GREZE,

Je te remercie infiniment d'avoir accepté de faire partie de ce jury de thèse. Je souhaite surtout exprimer au travers de ces lignes ma gratitude pour tout le travail que nous avons réalisé ensemble au quotidien. Ta volonté de partager, ta disponibilité et ton engagement envers ma formation m'ont permis d'acquérir de nombreuses compétences et le sens du travail rigoureusement accompli. Je me souviendrai de nos conversations nombreuses et enrichissantes qui se déroulaient souvent tard le soir, juste à l'encadrement de la porte de ton bureau. Enfin, je te remercie pour tes nombreux encouragements qui m'ont permis de grandir tant sur le plan professionnel que personnel.

A toute l'équipe du CMCO,

Aux biologistes,

Je vous adresse toute ma reconnaissance pour tout ce que vous m'avez transmis au cours de ces deux dernières années. En plus de Marius, Jean-Baptiste et Cécile je souhaite dire un grand merci à Laetitia (pour ta douceur et ta réserve d'ours en guimauve), à Arthur (pour ton expertise toujours juste et « objective »), à Françoise (pour ta générosité et ta grande empathie dont je retiens précieusement les leçons sur la relation avec le patient) et à Isabelle (pour vos enseignements).

Aux techniciennes et techniciens,

Comment résumer en quelques phrases l'immense reconnaissance que j'ai envers vous. Merci de m'avoir tant appris à la paillasse mais surtout un grand merci de m'avoir accueillie au sein de votre équipe et de m'avoir conviée à partager d'aussi agréables moments en votre compagnie. Merci pour vos encouragements, votre soutien et vos sourires à toute épreuve qui ont énormément contribué à mon épanouissement au sein de ce laboratoire. Alors un très grand merci à Andréa, Magali, Barbara, Claudia, Marie, Chloé, Marine, Sandra, Jennifer, Nathalie, Estelle, Angélique, Melody et Batista.

A toute l'équipe clinico-biologique,

Je remercie toutes les secrétaires, aides-soignantes, sages-femmes, gynécologues, cadre ainsi que l'équipe du DPI pour m'avoir aussi bien accueillie au sein ce service. Je garderai en mémoire toute la bienveillance et la bonne humeur dont vous avez fait preuve au cours des deux années que j'ai passé auprès de vous.

A mes proches,

A mes parents,

Je ne saurais exprimer en quelques mots ma gratitude pour tout ce que je vous dois depuis le premier jour. Je vous remercie pour votre présence, votre infaillible soutien et l'amour que vous m'offrez de manière inconditionnelle.

A ma sœur Marie,

Je te fais part de ma plus profonde reconnaissance envers ton soutien immuable. Même si des kilomètres nous séparent tu restes un pilier essentiel dans ma vie. Je suis extrêmement fière de la femme que tu deviens et tu es un vrai modèle au quotidien (bien que tu sois ma grande petite sœur).

A ma famille,

Je suis extrêmement chanceuse d'avoir une famille aussi grande et riche. A ma grand-mère, marraine, parrain, tantes, oncles et très nombreux cousins, je vous exprime toute mon affection. J'ai une pensée émue pour les êtres chers qui ne sont plus parmi nous mais qui ont tant compté, en particulier un certain prof de maths qui a toujours rêvé de devenir chirurgien pour « réparer les gueules cassées » et que j'aurai aimé rendre fier en ce jour.

A Florian,

Je ne pourrai exprimer en une seule ligne tout ce que je ressens pour toi. Je te remercie du fond du cœur d'avoir passé du temps à mes côtés pour faire avancer ce travail, en particulier tes cours de statistiques et tes nombreuses relectures. Par ailleurs je ressens une profonde gratitude pour chaque instant que nous avons vécu ensemble. La vie que je partage à tes côtés m'apporte énormément et me fait grandir jour après jour. Tu fais de moi une femme heureuse et épanouie.

A mes co-internes et amis,

Un grand merci pour tous les moments et fous rires que nous avons partagés ensemble depuis mon premier semestre : Elise, Guilaine, Samih, les deux Baptiste, les deux Antoine, Laurent, Adrien, Dihia, Simo et tous les autres que j'ai croisé au cours de mes stages. Aux merveilleuses co-internes qui ont égaillé mon passage au CMCO, un grand merci pour votre bonne humeur au quotidien : Marion, Elise, Inès, Virginie, Laura et Clara. Enfin un grand merci aux membres du trio infernal (autrement nommé le « wild side ») pour tous nos échanges sur le sens de la vie : Marion et Clara.

## Table des matières

---

Introduction.....	24
I. Partie 1 : Généralités.....	25
1. Physiologie de la fécondation et du développement embryonnaire.....	25
a. Le spermatozoïde .....	25
b. L'ovocyte .....	31
c. La fécondation.....	36
d. Le développement embryonnaire.....	38
2. Définitions et épidémiologie en infertilité .....	39
a. Fertilité et fécondité : définitions et épidémiologie.....	39
b. Infertilité : définition et épidémiologie .....	40
c. Facteurs d'infertilité .....	41
i. Facteurs médicaux.....	41
ii. Facteurs environnementaux .....	43
iii. Facteurs sociétaux.....	44
3. L'Assistance Médicale à la Procréation .....	45
a. Définition et historique de l'assistance médicale à la procréation (AMP).....	45
b. La fécondation in vitro classique (FIV).....	46
c. L'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI) .....	47
d. La technique demi-FIV demi-ICSI.....	48
II. Partie 2 : Etat des lieux et intérêt des demi-FIV demi-ICSI.....	50
1. Introduction et contexte .....	50
a. Risque de lyse ovocytaire .....	50
b. Temps technique et coût.....	51
c. Infertilités d'origine non masculine.....	51
d. Santé des enfants .....	52
2. Objectif .....	53
3. Matériel et Méthodes .....	53
a. Protocole demi-FIV demi-ICSI.....	53
b. Type d'étude et description de la population .....	62
c. Indicateurs évalués.....	62
i. Indicateurs biologiques .....	62
ii. Indicateurs cliniques.....	63
d. Analyses statistiques .....	64
4. Résultats .....	64

a.	Description de la population .....	64
b.	Cohorte totale .....	66
c.	Infertilité idiopathique .....	67
d.	Syndrome des ovaires polykystiques .....	68
e.	Endométriose .....	69
f.	Age maternel supérieur ou égal à 37 ans.....	69
g.	Réserve ovarienne diminuée.....	70
5.	Discussion .....	71
a.	Activité du centre d'AMP des HUS .....	71
b.	Pas de supériorité de l'ICSI dans les infertilités non masculines.....	72
c.	Infertilité idiopathique .....	73
d.	Echecs de fécondation en FIV.....	74
e.	Forces et limites de cette étude.....	75
i.	Forces de l'étude .....	75
ii.	Limites de l'étude .....	76
f.	Perspectives.....	77
	Conclusion .....	79
	Annexes .....	80
	Bibliographie.....	87

## Table des figures & tableaux

---

<i>Figure n°1 : Conduit épидidymaire et canalicules du testicule (a) et Vue dorsale de la vessie, prostate et vésicules séminales (b), d'après Bommas et al, De Boeck, 2008.....</i>	26
<i>Figure n°2 : Spermatogenesis in humans, d'après R. P. Amann, J. Androl, 2008.....</i>	29
<i>Figure n°3 : Diagrammatic representation of microscopic anatomy of different parts of sperm tail. N. Kumar et al, Biol. Reprod., 2021.....</i>	30
<i>Figure n°4 : Histologie de l'ovaire : cortex (C) et médullaire (M) (adapté de histologyguide.com) .....</i>	31
<i>Figure n°5 : Simplified representation of mammalian folliculogenesis and oocyte growth. E. Collado-Fernandez et al, Int. J. Dev. Biol., 2012.....</i>	34
<i>Figure n°6 : Life history of ovarian follicles : endowment and maintenance, initial recruitment, maturation, atresia or cyclic recruitment, ovulation, and exhaustion. E. A. McGee et al, Endocrine Reviews, 2000.....</i>	35
<i>Figure n°7 : Chronologie du développement embryonnaire (Source : LBDR, HUS) .....</i>	39
<i>Figure n°8 : Box and whisker plot of sperm concentration data of European men of the past 50 years. P. Sengupta et al, Hum. Exp. Toxicol., 2018. ....</i>	44
<i>Figure n°9 : Fécondation in vitro classique en boîte de culture 4 puits et en microgouttes.....</i>	47
<i>Figure n°10 : Injection intracytoplasmique d'un spermatozoïde (ICSI) (Source : LBDR, HUS) .....</i>	48
<i>Figure n°11 : Nombre de ponctions par type d'AMP intraconjugale aux HUS .....</i>	49
<i>Figure n°12 : Distribution of treatments in Europe, 1997–2018, Proportion of IVF versus ICSI cycles. C. Wyns et al, Hum. Reprod. Open, 2022. ....</i>	50
<i>Figure n°13 : Mise en fécondation par ICSI (Source : LBDR, HUS) .....</i>	56
<i>Figure n°14 : Classification de Gardner et Schoolcraft, 1999 .....</i>	59
<i>(Source : LBDR, HUS et Morphologie de l'embryon humain, P. Boyer et al, Springer, 2011) .....</i>	59
<i>Figure n°15 : Les différentes étapes des tentatives demi-FIV demi-ICSI.....</i>	61
<i>Tableau n°1 : Caractéristiques de la population étudiée.....</i>	65

## Table des annexes

---

ANNEXE 1 : Cohorte totale (n=719) : indicateurs de performance biologiques et cliniques .....	80
ANNEXE 2 : Infertilité idiopathique (n=273) : indicateurs de performance biologiques et cliniques ...	81
ANNEXE 3 : SOPK (n=108) : indicateurs de performance biologiques et cliniques .....	82
ANNEXE 4 : Endométriose (n=79) : indicateurs de performance biologiques et cliniques .....	83
ANNEXE 5 : Age maternel $\geq$ 37 ans (n=195) : indicateurs de performance biologiques et cliniques ...	84
ANNEXE 6 : RO diminuée (n=89) : indicateurs de performance biologiques et cliniques.....	85
ANNEXE 7 : Infertilité idiopathique (n=273) : indicateurs de performance biologiques et cliniques, infertilité primaire et secondaire .....	86

## Liste des abréviations

---

ABM : Agence de la Biomédecine

AMH : Hormone Anti-Müllérienne

AMP : Assistance Médicale à la Procréation

CCO : Complexe Cumulo-Ovocytaire

CFA : Compte Folliculaire Antral

CMCO : Centre Médico-Chirurgical Obstétrique

DNC : Délai Nécessaire à Concevoir

GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone ou Gonadolibérine

HCG : Hormone Chorionique Gonadotrope

FIV : Fécondation In Vitro

GEU : Grossesse Extra-Utérine

GP : Globule Polaire

HUS : Hôpitaux Universitaires de Strasbourg

ICSI : Intra Cytoplasmic Sperm Injection ou Injection Intra-Cytoplasmique de spermatozoïde

IUI : Insémination Intra-Utérine

IMG : Interruption Médicale de Grossesse

IOP : Insuffisance Ovarienne Prématuration

LBDR : Laboratoire de Biologie de la Reproduction

LH : Hormone Lutéinisante

MCI : Masse Cellulaire Interne

MI : Ovocyte en métaphase de première division de méiose

MII : Ovocyte en métaphase de deuxième division de méiose

OATS : Oligo-Asthéno-Tératospermie

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PN : Pronucléus

RO : Réserve Ovarienne

SOPK : Syndrome des Ovaires Polykystiques

SUZI : SubZonal Insemination ou Injection Sub-Zonale de spermatozoïdes

TE : Trophectoderme

TEC : Transfert d'Embryon Congelé

TEF : Transfert d'Embryon Frais

ZP : Zone Pellucide



## Introduction

L'infertilité est définie comme l'impossibilité d'établir une grossesse clinique après douze mois de rapports sexuels réguliers non protégés (1). L'assistance médicale à la procréation (AMP) est un ensemble de pratiques cliniques et biologiques ayant pour but de répondre à un projet parental dans ces situations d'infertilité. Parmi les techniques d'AMP il existe deux principales techniques de mise en fécondation in vitro : la fécondation in vitro classique (FIV) et l'injection intracytoplasmique de spermatozoïde (ICSI).

Les indications de la FIV sont l'infertilité tubaire, l'endométriose, les dysoovulations, l'infertilité idiopathique, l'infertilité liée à un facteur masculin modéré et l'échec des autres traitements (traitements médicaux et chirurgicaux, inductions de l'ovulation, inséminations intra-utérines) (2). Les indications principales de l'ICSI sont les infertilités masculines sévères et les échecs de fécondation en FIV classique (3). On observe cependant depuis plusieurs années une augmentation de l'utilisation de l'ICSI et un élargissement de son domaine d'utilisation à l'infertilité idiopathique, l'âge maternel avancé ou encore la baisse de la réserve ovarienne. Or dans ces indications, l'ICSI n'est pas associée à une augmentation du taux de naissances vivantes (4–6).

La technique demi-FIV demi-ICSI consiste à séparer aléatoirement les complexes cumulo-ovocytaires (CCO) prélevés lors de la ponction ovocytaire en deux groupes : une partie des CCO est mise en fécondation par FIV classique et l'autre par ICSI. Développée initialement dans le cadre de la recherche pour comparer les performances entre la FIV et l'ICSI en éliminant les biais de sélection liés à la population, elle est aujourd'hui utilisée en routine dans certains centres d'AMP dans l'objectif de réduire les échecs de fécondation.

L'objectif de ce travail de thèse est de déterminer la technique de mise en fécondation optimale dans les infertilités d'origine non masculine. Pour cela, seront comparés les indicateurs de performance biologiques et cliniques de la FIV et de l'ICSI obtenus à partir d'une analyse exhaustive des tentatives demi-FIV demi-ICSI réalisées au Laboratoire de Biologie de la Reproduction (LBDR) des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg (HUS).

## I. Partie 1 : Généralités

### 1. Physiologie de la fécondation et du développement embryonnaire

#### a. Le spermatozoïde

Le spermatozoïde est la cellule reproductrice masculine produite par les testicules. Les testicules sont les gonades masculines et appartiennent au tractus génital masculin. Ce sont des structures paires ovoïdes situées dans le scrotum. Le testicule est entouré d'une tunique superficielle, la vaginale, et d'une tunique profonde, l'albuginée, un tissu conjonctif dense. De l'albuginée partent plusieurs septa qui délimitent environ 300 lobules testiculaires. Chaque lobule testiculaire contient 1 à 4 tubes séminifères très contournés qui se poursuivent en tubes droits, l'anastomose des différents tubes droits du testicule constituant le rete testis. Du rete testis partent une vingtaine de canaux efférents vers l'épididyme. La convergence de ces canaux efférents donne le canal épидидymaire puis déférent. Les canaux déférents rejoignent les vésicules séminales au niveau du carrefour vésiculo-déférentiel où ces canaux prennent le nom de canaux éjaculateurs avant de se jeter dans l'urètre (7,8) (*Fig. 1*).

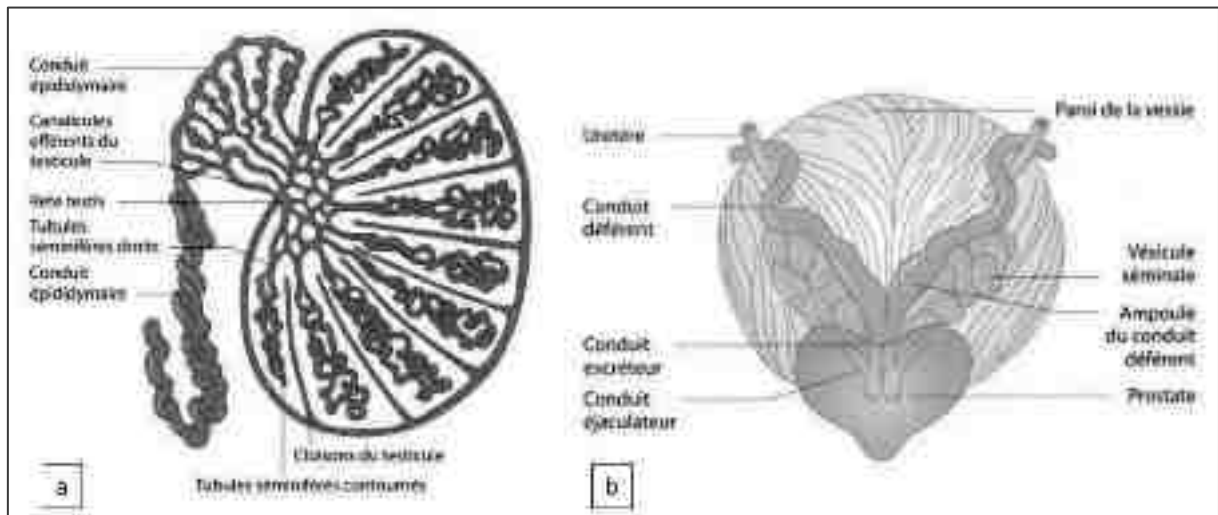


Figure n°1 : Conduit épидидymaire et canalicules du testicule (a) et Vue dorsale de la vessie, prostate et vésicules séminales (b), d'après Bommas et al, De Boeck, 2008

La paroi des tubes séminifères est constituée à l'extérieur d'une tunique comprenant des fibres de collagène et 3 à 4 couches de myofibroblastes pérítubulaires. Les contractions péristaltiques de ces cellules sont nécessaires à propulser les spermatozoïdes jusqu'aux voies excrétrices extra-testiculaires. Une membrane basale sépare cette tunique de l'épithélium séminifère. Cet épithélium présente deux sortes de cellules : d'une part les cellules de la lignée séminale que l'on retrouve à plusieurs stades de différenciation (depuis les spermatogonies souches jusqu'aux spermatozoïdes) et d'autre part des cellules somatiques, les cellules de Sertoli. Les cellules de Sertoli sont de grandes cellules pyramidales ancrées dans la membrane basale et mesurant toute la hauteur du tube séminifère. Des jonctions serrées relient les cellules de Sertoli entre elles et participent à la formation de la barrière hémato-testiculaire (9). Les cellules de Sertoli ont un rôle dans le maintien de l'architecture du tube séminifère, un rôle de protection et de nutrition des cellules germinales et un rôle dans la régulation de la spermatogenèse (10). Entre les tubes séminifères se dispose un tissu conjonctif lâche qui contient des capillaires sanguins et lymphatiques et les cellules de Leydig. Les cellules de Leydig constituent une glande endocrine diffuse qui a une fonction de sécrétion

des androgènes (11). Ainsi le testicule a une double fonction : une fonction exocrine de gamétogénèse et une fonction endocrine de stéroïdogénèse.

La spermatogénèse désigne l'ensemble des phénomènes qui transforme une cellule germinale diploïde en gamètes haploïdes, les spermatozoïdes. Il s'agit d'un phénomène cyclique de différenciation cellulaire qui se déroule de la puberté à la senescence. Chaque cycle dure environ 74 jours chez l'homme (12). Il existe plusieurs cycles de spermatogénèse asynchrones au sein des tubes séminifères ce qui conduit à une production continue de spermatozoïdes (*Fig. 2*). La spermatogénèse prend place dans l'épithélium séminifère et sa progression se déroule de manière centripète, depuis la membrane basale vers la lumière des tubes (13).

La spermatogénèse démarre par la multiplication des spermatogonies souches qui sont disposées à la périphérie des tubes séminifères, contre la lame basale. On distingue plusieurs types de spermatogonies : les spermatogonies A-dark et A-pale (selon l'aspect de leur contenu nucléaire). Les spermatogonies A-dark ont une activité mitotique limitée et ont un rôle de régénération de la population de cellules germinales souches. Certaines spermatogonies A-pale sont des cellules progénitrices qui assurent le renouvellement de la lignée, d'autres sont programmées pour assurer la différenciation cellulaire et atteindre le stade de spermatogonies B. Cette entrée en division des spermatogonies A-pale se produit en groupes cellulaires tous les 16 jours et les cellules de la même génération maintiennent des connexions cytoplasmiques entre elles jusqu'à la spermiogénèse. Ce mécanisme assure une parfaite synchronisation dans le développement gamétique et prend le nom d'onde spermatogénétique (14). Les spermatogonies B se divisent par mitose pour donner les spermatocytes I. Les spermatocytes I entrent en méiose pour donner les spermatocytes II puis les spermatides, cellules haploïdes. Les spermatides sont des cellules rondes qui se

différencient pour devenir allongées, après un processus nommé spermiogénèse. Cette différenciation permet la mise en place des structures définitives du spermatozoïde (mise en place de l'acrosome, formation du flagelle, réorganisation du noyau et du cytoplasme). La spermiation est l'étape finale de la spermatogenèse, elle désigne la libération des spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères (13).

La spermatogenèse est finement régulée par l'axe hypothalamo-hypophysaire ainsi que par des molécules issues des cellules de Sertoli, des cellules de Leydig, des cellules péri-tubulaires et des cellules germinales elles-mêmes (15). Il existe également une thermorégulation complexe de la spermatogenèse faisant intervenir notamment la peau du scrotum, les muscles crémaster et dartos et un système vasculaire d'échange à contre-courant au niveau du plexus pampiniforme, créant ainsi un gradient thermique entre la température corporelle et la température scrotale, inférieure de 2 à 4°C (16).

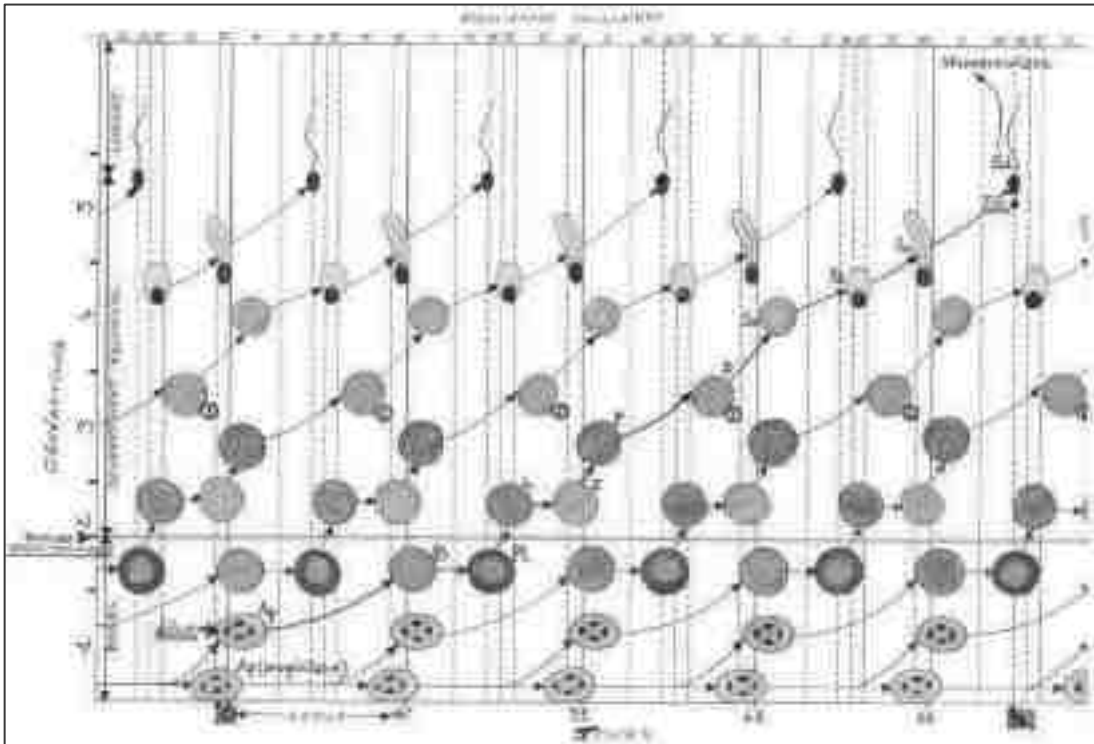


Figure n°2 : Spermatogenesis in humans, d'après R. P. Amann, J. Androl, 2008

Le spermatozoïde est ainsi une cellule hautement différenciée, asymétrique, mobile, qui mesure  $60\mu\text{m}$ . Le spermatozoïde est formé de plusieurs structures : la tête, le col et le flagelle. La tête du spermatozoïde comporte le noyau, dont chromatine est très condensée, et l'acrosome. L'acrosome est une structure dérivée de l'appareil de Golgi qui recouvre les deux tiers antérieurs du noyau (17). Le col est une structure très courte qui contient le centrosome, structure composée d'un centriole proximal (nécessaire à la fécondation) et d'un centriole distal (à l'origine de l'axonème). Il est également lieu d'insertion de neuf colonnes segmentées, point de départ de neuf fibres denses. Le flagelle est lui-même divisé en plusieurs sous-parties : la pièce intermédiaire, la pièce principale et la pièce terminale. L'axonème est la structure caractéristique commune aux trois parties du flagelle. Il s'agit d'une gaine constituée d'une paire de microtubules centraux entourée de neuf doublets de microtubules périphériques. Des bras de dynéine relient les microtubules entre eux et ont un rôle dans la

mobilité du flagelle. L'axonème est entouré de neuf fibres denses et d'une membrane cytoplasmique. Dans la pièce intermédiaire se place une hélice mitochondriale entre les fibres denses et la membrane cytoplasmique. Dans la pièce principale une gaine fibreuse de nature protéique se place entre les fibres denses et la membrane cytoplasmique. Les fibres denses disparaissent progressivement dans la partie distale de la pièce principale et sont absentes dans la pièce terminale (18) (Fig. 3).

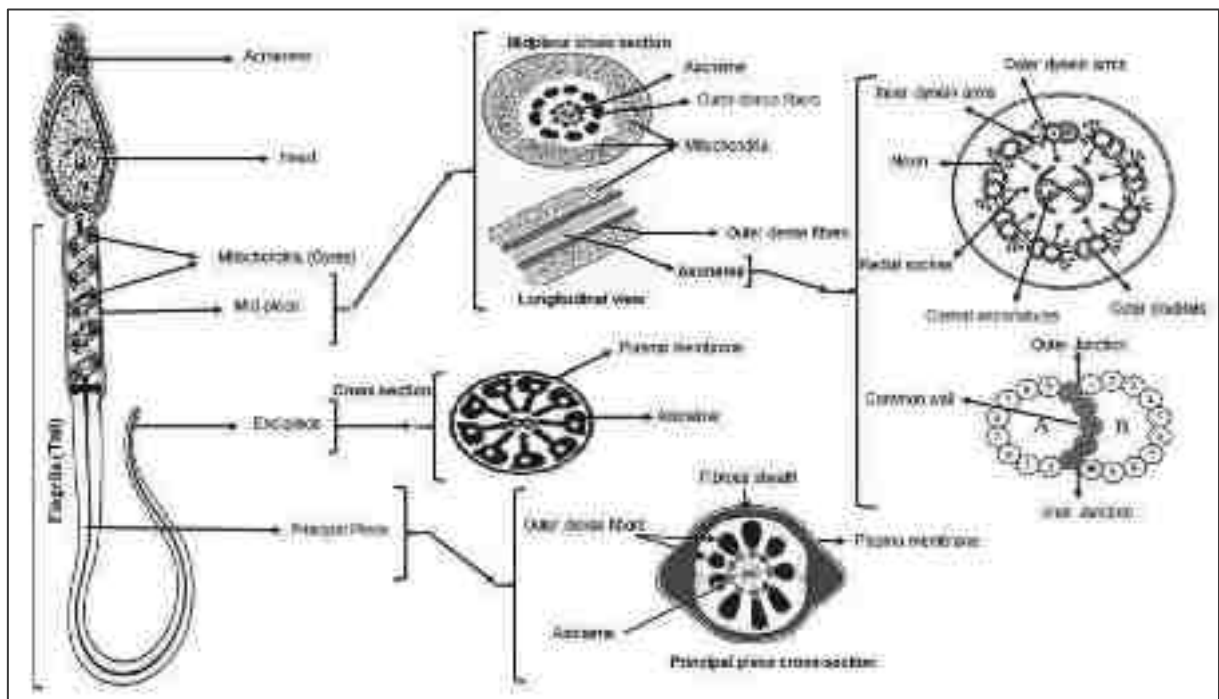


Figure n°3 : Diagrammatic representation of microscopic anatomy of different parts of sperm tail. N. Kumar et al, Biol. Reprod., 2021.

L'éjaculat est constitué par le mélange des sécrétions provenant du testicule (2-5%), de l'épididyme et de la prostate (20-30%), des vésicules séminales (65-75%) et des glandes bulbo-urétrales de Cowper (1%) (19). Le plasma séminal est un fluide biologique très complexe dans sa composition et ses fonctions. Ses fonctions principales comprennent la nutrition, la protection, le transport, la maturation des spermatozoïdes et l'acquisition de leurs capacités fécondantes par le phénomène de capacitation. La capacitation des spermatozoïdes se

déroule dans les voies génitales féminines après élimination du liquide séminal. Les mécanismes moléculaires impliqués sont des phénomènes de modifications des lipides induisant une déstabilisation membranaire. La mobilisation de protéines membranaires permet notamment une externalisation de récepteurs spermatiques qui permettront la fixation à l'ovocyte (20). In vitro, la capacitation peut être réalisée grâce à différentes techniques comme le gradient de densité ou la migration ascendante (« swim-up »).

b. L'ovocyte

L'ovocyte est la cellule reproductrice féminine produite par les ovaires. Les ovaires sont les gonades qui appartiennent aux organes reproducteurs féminins. Il s'agit de structures paires situées de part et d'autre de l'utérus dans la cavité pelvienne. Les ovaires sont composés de deux compartiments : le cortex et la médullaire. Le cortex externe est composé d'un tissu conjonctif dense et abrite les follicules ovariens. La médullaire interne est une zone parenchymateuse richement vascularisée. Les ovaires sont entourés d'une capsule fibreuse, l'albuginée, et d'un épithélium simple cubique (21) (Fig. 4).

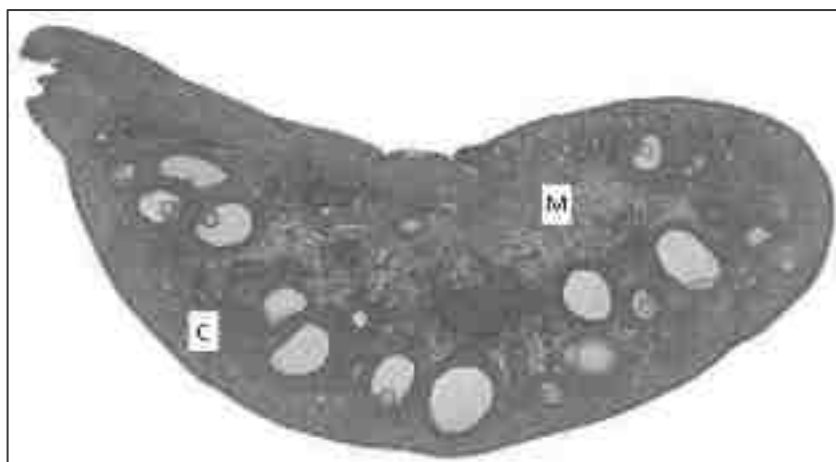


Figure n°4 : Histologie de l'ovaire : cortex (C) et médullaire (M) (adapté de histologyguide.com)



Les ovaires ont une double fonction : une fonction endocrine qui permet la synthèse des hormones sexuelles sous le contrôle de l'axe hypothalamo-hypophysaire, et une fonction exocrine de production, croissance, maturation et libération des gamètes féminins, les ovocytes. Ces deux fonctions sont exercées depuis la vie fœtale jusqu'à la ménopause par une même unité morphologique et fonctionnelle : le follicule ovarien (22).

Le stock de follicules ovariens est constitué dès la vie intra-utérine. Des cellules germinales primordiales apparaissent au 21<sup>e</sup> jour de la vie embryonnaire et migrent de la vésicule vitelline vers les crêtes génitales (23) où elles se multiplient et prennent le nom d'ovogonies à la 7<sup>e</sup> semaine de gestation. A partir de la 12<sup>e</sup> semaine de gestation, les ovogonies entrent en méiose par vague et seront bloqués en stade diplotène de prophase de la première division de méiose, ils sont nommés ovocytes primaires (24). A partir de la 16<sup>e</sup> semaine de gestation, les ovocytes primaires s'entourent de cellules somatiques pour constituer les follicules primordiaux. A la 20<sup>e</sup> semaine de gestation, la réserve ovarienne est constituée de 6 à 7 millions de follicules primordiaux (25). La plupart de ces follicules primordiaux restent quiescents et entrent en apoptose à cet état de dormance (22). Le nombre de follicules primordiaux ne sera que d'un à 2 millions à la naissance, puis environ 400.000 à la puberté et moins de 1000 au moment de la ménopause pour environ 400 ovulations au cours de la vie reproductive (25).

La folliculogénèse désigne le développement des follicules ovariens, du follicule primordial jusqu'au follicule mûr qui permettra la libération d'un ovocyte mature fécondable dans les voies génitales féminines. Le follicule primordial est constitué d'un ovocyte bloqué en prophase de 1<sup>ère</sup> division de méiose entouré d'une couche de cellules folliculaires aplaties, il mesure 50µm. Dans le follicule primaire, l'ovocyte augmente de taille, les cellules folliculaires deviennent cubiques prenant le nom de cellules de la granulosa et s'entourent de la

membrane de Slavjanski. Dans le follicule secondaire ou pré-antral les cellules de la granulosa se multiplient et se disposent en plusieurs strates concentriques autour de l'ovocyte. Au-delà de la membrane de Slavjanski se dispose une couche de cellules de la thèque (22,26). Une enveloppe glycoprotéique se constitue entre l'ovocyte et la granulosa, nommée zone pellucide. Elle est constituée des glycoprotéines ZP2 et ZP3 polymérisées en filaments qui sont reliés entre eux par les glycoprotéines ZP1 et ZP4 (27). Le follicule secondaire ou pré-antral mesure environ 200µm. Le follicule tertiaire ou antral est défini par l'apparition d'une cavité, l'antrum, formé à partir de la confluence de multiples petites cavités présentes dans la granulosa. Les cellules de la thèque se divisent en deux entités : la thèque interne (qui a une fonction de stéroïdogénèse) et la thèque externe (une enveloppe conjonctive fibreuse). Le follicule antral mesure plus de 200µm, son augmentation de taille est liée à l'augmentation progressive de l'antrum. Dans le follicule mûr ou pré-ovulatoire de De Graaf, l'agrandissement de la cavité antrale refoule l'ovocyte et une partie de la granulosa en périphérie du follicule (22,26). Les cellules de la granulosa qui entourent l'ovocyte prennent le nom de cumulus oophorus, et la première couche de cellules en contact avec l'ovocyte prend le nom de corona radiata (*Fig. 5*).

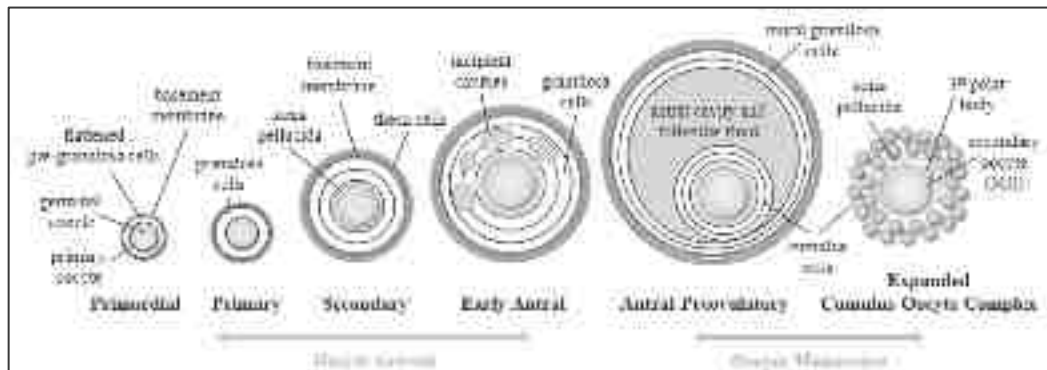


Figure n°5 : Simplified representation of mammalian folliculogenesis and oocyte growth. E. Collado-Fernandez et al, *Int. J. Dev. Biol.*, 2012.

La folliculogénèse se déroule en deux phases distinctes : la folliculogénèse initiale et la folliculogénèse cyclique (28) (Fig. 6). La folliculogénèse initiale est un phénomène continu, indépendant des gonadotrophines qui se déroule depuis la vie foetale jusqu'à la ménopause. Lors de la folliculogénèse initiale, un recrutement permet l'entrée en croissance des follicules de réserve. Lors de la croissance folliculaire, le follicule primordial devient follicule primaire, pré-antral puis antral. La folliculogénèse cyclique est dépendante des gonadotrophines et se déroule depuis la puberté jusqu'à la ménopause. Elle débute par le recrutement de plusieurs follicules antraux qui constituent une cohorte folliculaire. Les follicules de cette cohorte poursuivront une croissance synchrone jusqu'à la sélection de l'un d'entre eux, le follicule dominant, alors que les autres follicules de la cohorte subiront une involution (22). C'est ce follicule sélectionné qui deviendra follicule de De Graaf et libèrera l'ovocyte par rupture folliculaire au moment de l'ovulation. En parallèle, l'ovocyte reprend sa méiose jusqu'au stade de métaphase de 2<sup>e</sup> division de méiose (MII) (29). L'ovocyte libéré est entouré de la corona radiata et du cumulus oophorus, cet ensemble est appelé complexe cumulo-ovocytaire (CCO). Le CCO ainsi libéré est capté par le pavillon de la trompe et chemine dans ses différentes

portions jusqu'à l'ampoule tubaire, lieu de la fécondation. Le follicule déhiscent se transforme en corps jaune (22).

La folliculogénèse est sous le contrôle de l'axe hypothalamo-hypophysaire et de nombreuses voies de signalisation. Elle résulte d'un équilibre finement régulé entre facteurs activateurs et inhibiteurs (30). Les mécanismes physiologiques qui sous-tendent le recrutement initial, la sélection du follicule dominant et la maturation finale des follicules ne sont pas encore totalement compris.

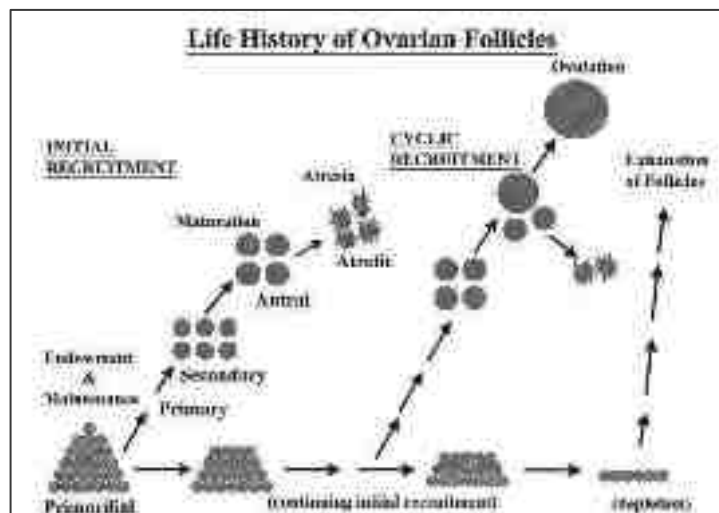


Figure n°6 : Life history of ovarian follicles : endowment and maintenance, initial recruitment, maturation, atresia or cyclic recruitment, ovulation, and exhaustion. E. A. McGee et al, *Endocrine Reviews*, 2000.

La réserve ovarienne basale est constituée du pool de follicules primordiaux au repos situés dans le cortex ovarien. De nombreux facteurs interagissent pour garantir l'équilibre entre le maintien dans le pool ou l'entrée en croissance du follicule. La réserve ovarienne en AMP évalue les follicules dépendants aux gonadotrophines lors de la folliculogénèse cyclique qui ont le potentiel de devenir follicule dominant. Il s'agit de la cohorte folliculaire qui peut être engagée lors d'un traitement de stimulation hormonale multi-folliculaire. La réserve

ovarienne (RO) en AMP peut être évaluée par le comptage des follicules antraux (CFA) par échographie endovaginale ou le dosage de l'hormone anti-müllérienne (AMH) (31,32). En effet, l'AMH est une hormone de la famille des TGF- $\beta$ , sécrétée par les cellules de la granulosa des follicules en croissance. L'AMH est un régulateur important des différentes étapes de la folliculogénèse. Son dosage sérique est un marqueur de la réserve ovarienne et est prédictif de la réponse à la stimulation hormonale contrôlée (33).

c. La fécondation

Les spermatozoïdes éjaculés transitent et mûrissent dans le tractus génital féminin. Ce transit a pour but d'éliminer le liquide séminal, de filtrer les cellules germinales immatures, les spermatozoïdes immobiles, les leucocytes et les bactéries, de sélectionner les spermatozoïdes, de contrôler leur nombre sur le lieu de la fécondation et de permettre leur capacitation. Le CCO contenant un ovocyte bloqué en deuxième division de méiose (MII) est libéré au moment de l'ovulation. Il est ensuite capté par le pavillon de la trompe et chemine jusqu'à l'ampoule tubaire, où se déroule la fécondation.

La fécondation désigne la fusion de deux cellules matures haploïdes, le gamète masculin et le gamète féminin, en une cellule unique, diploïde et totipotente, le zygote, qui formera un embryon par divisions mitotiques multiples. La rencontre des gamètes nécessite des conditions chronologique et topographiques précises. Elle correspond à un dialogue moléculaire entre le spermatozoïde et l'ovocyte, appelé interaction gamétique (34).

Les spermatozoïdes capotés traversent le cumulus oophorus et la corona radiata grâce à leurs mouvements hyperactivés. Le spermatozoïde se fixe ensuite à la zone pellucide de l'ovocyte. Cette fixation primaire s'établit entre la glycoprotéine ZP3 de la zone pellucide de

l'ovocyte et le récepteur spécifique présent sur la membrane externe de la tête du spermatozoïde. La fixation à la ZP3 ovocytaire induit la réaction acrosomique du spermatozoïde qui aboutit à l'ouverture de canaux calciques entraînant une élévation du calcium intracellulaire. Ces mouvements calciques sont responsables de la fusion des membranes plasmique et acrosomique externe, permettant la formation de vésicules et la libération du contenu enzymatique de l'acrosome par exocytose. Parmi les enzymes libérées, l'acrosine entraîne l'hydrolyse des glycoprotéines ZP1 permettant la libération des filaments de glycoprotéines ZP2 et ZP3 et la pénétration du spermatozoïde dans la zone pellucide de l'ovocyte. Une fixation secondaire implique ensuite les glycoprotéines ZP2 et des protéines de la membrane acrosomique interne dont la proacrosine et SPAM-1 (35). Après pénétration dans l'espace péri-vitellin, la tête du spermatozoïde adhère de manière latérale à la membrane plasmique de l'ovocyte via son segment équatorial (36). Parmi les molécules impliquées on peut citer la molécule IZUMO1 présente sur la membrane acrosomique interne qui se fixe sur son récepteur spécifique JUNO présent sur la membrane plasmique de l'ovocyte (37). Ces interactions entre le spermatozoïde et l'ovocyte sont spécifiques d'espèce et bloquent la polyspermie (34,36).

Après fusion des deux membranes, le contenu spermatique pénètre dans le cytoplasme de l'ovocyte. La membrane nucléaire du spermatozoïde est phagocytée et les chromosomes se décondensent. Une nouvelle enveloppe nucléaire se constitue à partir des vésicules du réticulum endoplasmique ovocytaire pour former le pronucleus mâle. En parallèle, la reprise de la méiose ovocytaire est déclenchée par un afflux calcique libéré lors de la fusion des deux gamètes (38). Il y a extrusion du deuxième globule polaire dans l'espace périvitellin, les chromosomes présents dans l'ovocyte se décondensent et s'entourent d'une membrane nucléaire pour former le pronucleus femelle. La caryogamie désigne la phase durant laquelle

sont présent les deux pronucléi (mâle et femelle) au sein de l'ovocyte formant une cellule diploïde, le zygote (*Fig. 7*). Le centriole proximal du spermatozoïde recrute des protéines ovocytaires pour former une structure appelée spermaster. Cette structure a un rôle important dans le rapprochement des deux pronucléi puis dans l'établissement du premier fuseau mitotique du zygote (39).

d. Le développement embryonnaire

Une première division mitotique divise le zygote en deux cellules égales appelées blastomères. Ce premier clivage intervient entre 25 et 27h après la fécondation. La deuxième division de segmentation intéresse les deux blastomères dans deux plans perpendiculaires et donne un aspect d'embryon à quatre cellules au deuxième jour du développement embryonnaire. Jusqu'au stade quatre cellules l'embryon utilise uniquement des réserves d'origine ovocytaire (protéines et ARN messagers) avant l'activation de son propre génome (40). Les divisions cellulaires se poursuivent et au troisième jour l'embryon présente classiquement huit cellules totipotentes. Les divisions segmentaires continuent jusqu'à observer le stade de morula au quatrième jour. La morula désigne l'aspect que présente l'embryon contenant 16 à 32 cellules. La morula subit ensuite un phénomène de compaction, caractérisé par l'établissement de jonctions cellulaires entre les différents blastomères (41).

Au cinquième jour, grâce à l'activité de pompes Na/K ATPase et d'aquaporines, se forme au sein de l'embryon une cavité liquidienne : le blastocèle. L'embryon à ce stade prend le nom de blastocyste. Le blastocèle augmente progressivement de taille et deux régions s'individualisent au sein du blastocyste : la masse cellulaire interne et le trophoctoderme. La masse cellulaire interne (ou bouton embryonnaire) est formée de plusieurs cellules

regroupées et sera à l'origine du fœtus. Les cellules en périphérie aplaties par l'augmentation du blastocèle prennent le nom de trophoctoderme et seront à l'origine du placenta. La croissance du blastocèle augmente le volume total de l'embryon et amincit la zone pellucide. L'éclosion du blastocyste hors de la zone pellucide se déroule au sixième jour grâce à des facteurs mécaniques et enzymatiques (41) (Fig. 7).

En parallèle de ces différentes étapes de développement, l'embryon effectue une migration au sein de la trompe grâce à des mouvements ciliaires, des contractions musculaires ainsi que des courants liquidiens (42). Le blastocyste éclos atteint ainsi l'utérus pour y effectuer sa nidation, par accolement puis enfouissement dans l'épithélium endométrial (43).

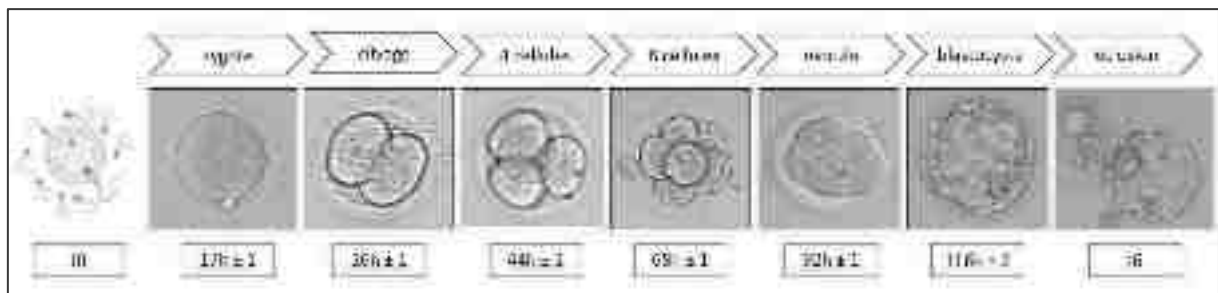


Figure n°7 : Chronologie du développement embryonnaire (Source : LBDR, HUS)

## 2. Définitions et épidémiologie en infertilité

### a. Fertilité et fécondité : définitions et épidémiologie

La fertilité est définie comme l'aptitude à établir une grossesse clinique, il s'agit d'un potentiel à concevoir. La fécondité est définie comme la capacité de donner naissance à un enfant vivant, il s'agit du fait d'avoir obtenu ou non une naissance (1). Fertilité et fécondité ne sont donc pas synonymes et ne doivent pas être employés l'un pour l'autre.



En démographie, seule la fécondité est réellement objectivable et plusieurs indicateurs existent. Le délai nécessaire à concevoir (DNC) est le temps qui s'écoule entre l'arrêt de toute contraception et l'obtention d'une grossesse, il est estimé à 8 mois (44). Il s'agit d'un indicateur simple à déterminer mais il ne prend pas en compte les couples qui n'ont pas conçu. La fécondabilité désigne la probabilité de concevoir à chaque cycle. Elle est estimée à 25% pour une femme de 25 ans mais il existe des variations intra et interindividuelles (44). Le taux de fécondité est le rapport du nombre de naissances vivantes de l'année rapporté à l'ensemble de la population féminine en âge de procréer (nombre moyen des femmes de 15 à 50 ans sur l'année) (45). En France, il était de 1.84 enfants par femme en 2021 (46).

#### b. Infertilité : définition et épidémiologie

L'infertilité est définie comme l'impossibilité d'établir une grossesse clinique après douze mois de rapports sexuels réguliers non protégés. Cette définition a ensuite été élargie afin de couvrir les conditions affectant la capacité des individus ou des couples à se reproduire (1). Elle est définie comme primaire ou secondaire selon le fait qu'il y ait déjà eu ou non une naissance vivante au sein du couple. On désigne par le terme d'infertilité primo-secondaire, le fait qu'il y ait eu une grossesse clinique mais pas de naissance vivante (fausse couche, grossesse extra-utérine...).

L'infertilité est considérée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme une pathologie à part entière, dans le cadre du concept de santé reproductive qui reconnaît à chaque être humain le droit à la procréation (47). Elle est ainsi le siège de nombreux enjeux de société.

L'infertilité touche plus de 80 millions de personnes dans le monde. Un couple sur dix est concerné par l'infertilité (qu'elle soit primaire ou secondaire) mais ce chiffre varie selon les pays concernés entre 5 et 30% (47). En France, ce sont 3.3 millions de personnes qui sont touchées par l'infertilité (48). En 2021, plus de 162.000 tentatives d'AMP ont été réalisées, dont 45.000 inséminations intra-utérines, 21.000 FIV, 39.000 ICSI et 48.000 décongelations d'embryons (hors don de gamètes et accueil d'embryons). Ces tentatives ont abouti à la naissance de plus de 28.000 enfants, ce qui en fait un enjeu majeur de santé publique (49).

Si l'infertilité concerne le couple dans son intimité, elle porte également des implications collectives puisqu'elle pourrait affecter la démographie nationale et mondiale. En effet, on observe depuis plusieurs années une augmentation de l'incidence de l'infertilité et du recours à l'AMP (50) résultant de différents facteurs médicaux, environnementaux et sociétaux souvent combinés.

### c. Facteurs d'infertilité

#### i. Facteurs médicaux

Chez la femme, on peut distinguer les différentes causes d'infertilité selon leur niveau anatomique. L'infertilité peut être d'origine ovarienne comme dans l'insuffisance ovarienne prématurée (IOP) qui se définit par la perte d'activité ovarienne avant 40 ans, elle-même d'étiologie iatrogène, génétique ou auto-immune (51). Le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) est un trouble de la folliculogenèse fréquent qui touche entre 5 et 18% des femmes (52). Il associe oligo- ou anovulation, hyperandrogénie clinique et/ou biologique avec un aspect d'ovaires polykystiques à l'échographie (53). L'infertilité peut être d'origine tubaire

dans un ensemble de situations induisant une obstruction unilatérale ou bilatérale des trompes. L'infertilité peut encore avoir une origine cervicale ou utérine (polypes, myomes, malformations, synéchies ...). L'endométriose est une étiologie d'infertilité fréquente puisqu'elle touche entre 2 et 10% des femmes et jusqu'à 50% des femmes infertiles (54). Elle est définie par la présence d'un tissu endométrial œstrogéno-dépendant en dehors de la cavité utérine. L'adénomyose désigne une prolifération de glandes endométriales ectopiques à l'intérieur du myomètre et peut être associée à l'endométriose.

Chez l'homme, la plupart des infertilités concernent la quantité et/ou la qualité des spermatozoïdes telles que définies par l'OMS (55). On peut distinguer de la même manière les infertilités d'origine testiculaire et post-testiculaire. Parmi les dysfonctions testiculaires d'origine congénitale, on peut citer d'une part les antécédents de cryptorchidie, d'ectopie testiculaire ou les cas plus rares d'anorchidie. D'autre part il existe des causes génétiques nombreuses pouvant toucher les autosomes (translocations chromosomiques), les gonosomes (syndrome de Klinefelter), le chromosome Y (microdélétion) ainsi qu'un nombre de plus en plus croissant de gènes responsables d'infertilité (56). Les causes de dysfonction testiculaire acquises sont nombreuses et comprennent notamment les antécédents de traumatisme, torsion, orchite, varicocèle et les causes iatrogènes. Des causes obstructives peuvent survenir et sont responsables d'infertilité post-testiculaire. Les obstructions peuvent concerner toutes les portions du tractus génital masculin, par exemple l'agénésie uni ou bilatérale des canaux déférents causée par une mutation dans le gène CFTR (57).

Certaines étiologies sont communes aux deux sexes comme les atteintes centrales de l'axe hypothalamo-hypophysaire. Ces étiologies d'hypogonadisme hypogonadotrope peuvent être congénitales (syndrome de Kallmann) ou acquises (tumeur ou processus infiltratif de la région

hypothalamo-hypophysaire, étiologie fonctionnelle ou iatrogène). On peut également mentionner les troubles sexuels (dysfonction érectile ou éjaculatoire, dyspareunies, vaginisme) qui peuvent être cause d'infertilité.

Ainsi les étiologies d'infertilité sont très variées et sont le plus souvent associées entre elles, c'est pour cela qu'un interrogatoire et un bilan étiologique exhaustif est nécessaire pour explorer les deux partenaires. Lorsque ce bilan ne retrouve aucune cause à l'infertilité elle est dite idiopathique et cela concerne environ 15% des couples (58).

## ii. Facteurs environnementaux

Plusieurs facteurs liés au mode de vie peuvent impacter la fertilité des couples. La consommation de tabac, de drogues et d'alcool impactent aussi bien la fertilité féminine (fonction ovarienne, tubaire et implantation) (59) que la fertilité masculine (concentration, mobilité, vitalité des spermatozoïdes et intégrité de l'ADN spermatique) (60). La relation entre nutrition et fertilité est de plus en plus étudiée (61), concernant en particulier l'obésité qui peut impacter à la fois la spermatogenèse, l'ovulation et le développement embryonnaire (62). La sédentarité et à l'inverse l'excès d'activité physique sont également liés à une baisse de la fertilité (63). Enfin, le stress et la qualité de vie peuvent avoir un impact sur la fertilité (64), (65).

Une méta-analyse réalisée en 2018 a fait apparaître un déclin de plus de 30% de la concentration spermatique dans les pays européens entre 1965 et 2015 (*Fig. 8*) (66). Ce déclin pourrait être expliqué par des facteurs liés au mode de vie cités ci-dessus mais aussi par une exposition régulière et croissante aux perturbateurs endocriniens. Un perturbateur endocrinien est une molécule qui se lie sur les récepteurs naturels des hormones et mime ou

bloque l'action des hormones. A titre d'exemple on peut citer le bisphénol A, les phtalates, les pesticides, les herbicides et les métaux lourds. L'exposition régulière à ces molécules pourrait participer à la baisse de fertilité masculine (67) mais aussi à l'augmentation de l'incidence des cryptorchidies, hypospadias et cancers du testicule (68) qui constituent le syndrome de dysgénésie testiculaire (69).

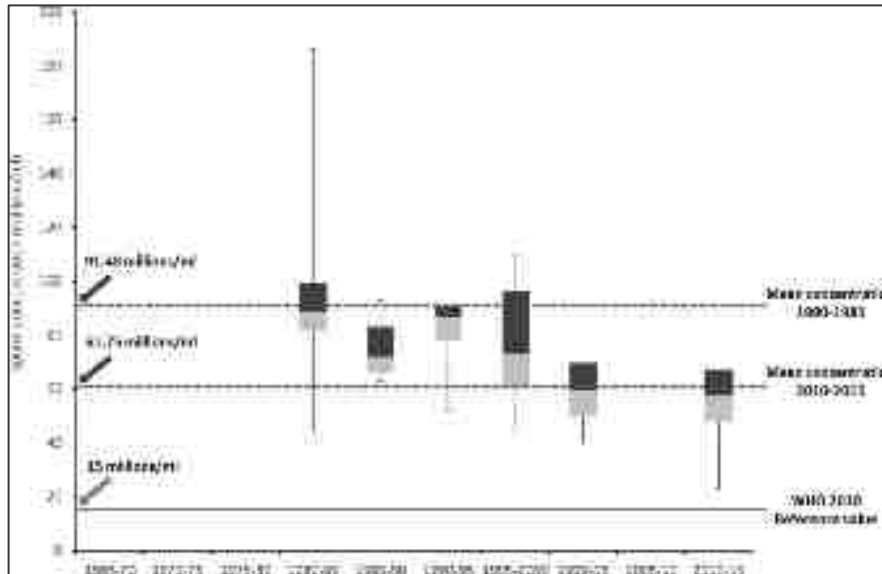


Figure n°8 : Box and whisker plot of sperm concentration data of European men of the past 50 years. P. Sengupta et al, *Hum. Exp. Toxicol.*, 2018.

### iii. Facteurs sociétaux

L'augmentation de l'infertilité résulte en partie du recul de l'âge à la maternité, passé notamment en France de 28.8 ans en 1994 à 31 ans en 2022 (70). Ce phénomène est la conséquence d'un ensemble de facteurs sociétaux parmi lesquels une diminution du désir d'enfant chez les couples, un engagement plus important dans l'enseignement supérieur, la volonté d'établir une carrière professionnelle stable avant de fonder une famille. A cela s'ajoute une méconnaissance de la physiologie de la fertilité et de son déclin avec l'âge et une

confiance excessive dans les performances des techniques d'AMP. Or le recours à l'AMP ne corrige pas les effets de l'âge maternel (71).

### 3. L'Assistance Médicale à la Procréation

#### a. Définition et historique de l'assistance médicale à la procréation (AMP)

L'assistance médicale à la procréation (AMP) est un ensemble de pratiques cliniques et biologiques ayant pour but de répondre à un projet parental dans des situations d'infertilité. Le recours à un tiers donneur de gamètes ou d'embryons peut être proposé dans certaines indications.

C'est en 1790 que John Hunter décrit la première naissance par insémination artificielle dans l'espèce humaine, en conseillant à un patient souffrant d'hypospadias de placer son sperme dans le vagin de sa conjointe à l'aide d'une seringue préalablement chauffée. D'abord intravaginales, les inséminations sont ensuite devenues intra-cervicales puis intra-utérines (IIU). En parallèle se sont développées des techniques de lavage du sperme permettant de séparer le liquide séminal des spermatozoïdes (72).

Si les premiers essais de culture in vitro chez l'animal datent du XIXe siècle, ce n'est qu'en 1969 que sont publiées les premières preuves cytologiques de la fécondation in vitro d'ovocytes humains (73). De nombreux travaux ont été menés concernant les protocoles de stimulation, de ponction ovocytaire et de transfert embryonnaire en parallèle des recherches réalisées sur capacitation et de la réaction acrosomique du spermatozoïde (74). Toutes ces découvertes ont permis d'aboutir à la naissance de Louise Brown le 25 juillet 1978 en Angleterre, premier enfant conçu par fécondation in vitro grâce à l'équipe du biologiste Robert

Edwards et du gynécologue Patrick Steptoe (75). C'est en 1982 que naît Amandine, premier enfant conçu par FIV en France dans l'équipe du biologiste Jacques Testart et du gynécologue René Frydman.

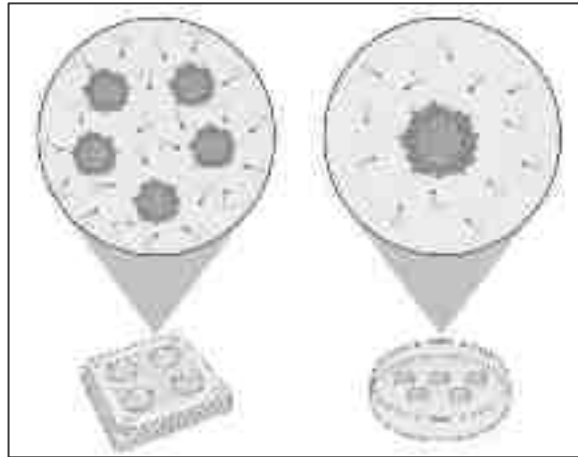
Cependant, pour certains couples cette technique n'était pas envisageable pour cause de concentration insuffisante en spermatozoïdes mobile. Des techniques de micromanipulation ont été développées pour permettre au spermatozoïde d'atteindre l'ovocyte sans avoir à traverser le cumulus oophorus, la corona radiata et la zone pellucide comme la technique d'insémination subzonale (SUZI) où un petit nombre de spermatozoïdes est injecté dans l'espace périvitellin (76). Il arrivait que certains spermatozoïdes soient injectés accidentellement dans le cytoplasme des ovocytes lorsqu'une rupture de la membrane ovocytaire survenait au moment de l'injection. Ces ovocytes involontairement injectés ont été mis en culture et évalués, montrant une fécondation et un développement embryonnaire satisfaisant. Cette technique a dès lors été appelée injection intracytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI) (77) et les premières grossesses obtenues ont été publiées par Gianpiero Palermo en 1992 (3).

Ainsi l'histoire de l'AMP est caractérisée par des progrès constants dans des techniques médicales et biologiques qui soulèvent de nombreuses discussions au sujet de leurs implications éthiques et sociales.

b. La fécondation in vitro classique (FIV)

Le principe de la FIV classique est la mise en présence des CCO avec une préparation de spermatozoïdes mobiles sélectionnés. La FIV peut se réaliser en boîte de culture à 4 puits (plusieurs CCO sont inséminés dans un même puit) ou en microgouttes (un CCO inséminé par

microgoutte) (*Fig. 9*). Si la première FIV a été réalisée dans un cas d'infertilité tubaire (75), les autres indications de la FIV comprennent aussi l'endométriose, les dysovulations, l'infertilité idiopathique, l'infertilité liée à un facteur masculin modéré et les situations d'échec des autres traitements (traitements médicaux ou chirurgicaux, inductions de l'ovulation, inséminations intra-utérines) (2).



*Figure n°9 : Fécondation in vitro classique en boîte de culture 4 puits et en microgouttes*

c. L'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI)

La technique d'ICSI désigne la sélection puis la micro-injection d'un spermatozoïde dans un ovocyte mature (*Fig. 10*). Les deux indications principales de l'ICSI sont les infertilités masculines sévères (dont l'utilisation de spermatozoïdes d'origine testiculaire) et les échecs de fécondation en FIV classique (3). Depuis plusieurs années, l'utilisation de l'ICSI est devenue de plus en plus fréquente et son utilisation s'est étendue aux infertilités d'origine non masculine sans être associée à une augmentation des taux de naissances vivantes dans ces indications (6). De plus, l'ICSI est une technique invasive qui n'est pas exempte de limites. Cette technique expose au risque de lyse ovocytaire, demande un temps technique plus long, représente un coût plus important et certaines publications font état d'un risque accru de certaines pathologies chez les enfants nés (78).



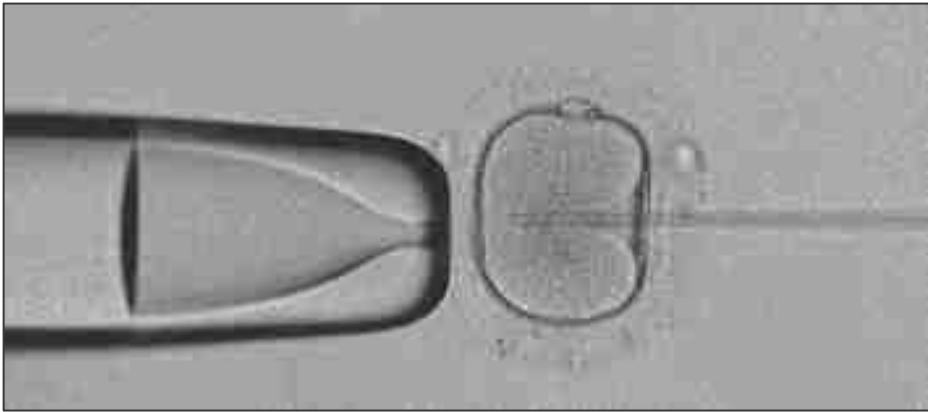


Figure n°10 : Injection intracytoplasmique d'un spermatozoïde (ICSI) (Source : LBDR, HUS)

d. La technique demi-FIV demi-ICSI

La technique demi-FIV demi-ICSI désigne une tentative de fécondation in vitro au cours de laquelle les CCO récoltés après ponction ovocytaire sont séparés aléatoirement en deux groupes : une partie des CCO est mise en fécondation par FIV classique, l'autre par ICSI.

Dans la littérature on fait référence à cette procédure depuis les années 1990 (79). Mise en place initialement dans le cadre de la recherche pour comparer les performances des différentes techniques de mise en fécondation en éliminant les biais de sélection liés à la population, elle est aujourd'hui utilisée en routine dans certains centres d'AMP depuis les années 2000 (80), (81). En effet, lors d'une première tentative de fécondation in vitro, il peut être difficile de prédire avec certitude laquelle des deux techniques de mise en fécondation donnera les meilleurs résultats pour un couple donné. Réaliser une tentative combinant à la fois une FIV et une ICSI vise à réduire le taux d'échec total de fécondation, mais expose aussi aux limites de l'ICSI : un risque de lyse ovocytaire, un temps technique allongé, un coût plus important et pourrait présenter un risque plus important de certaines pathologies chez les enfants nés. Cette approche permet ensuite de déterminer la technique la plus appropriée

pour le couple lors d'une éventuelle tentative ultérieure. Au Laboratoire de Biologie de la Reproduction des HUS, les tentatives demi-FIV demi-ICSI sont réalisées en routine depuis 2005 et représentent environ 11% des tentatives intraconjugales (Fig. 11). Ces tentatives sont réalisées dans des contextes d'infertilité idiopathique, d'endométriose ou de SOPK avec ou non antécédent d'échecs d'inséminations intra-utérines.

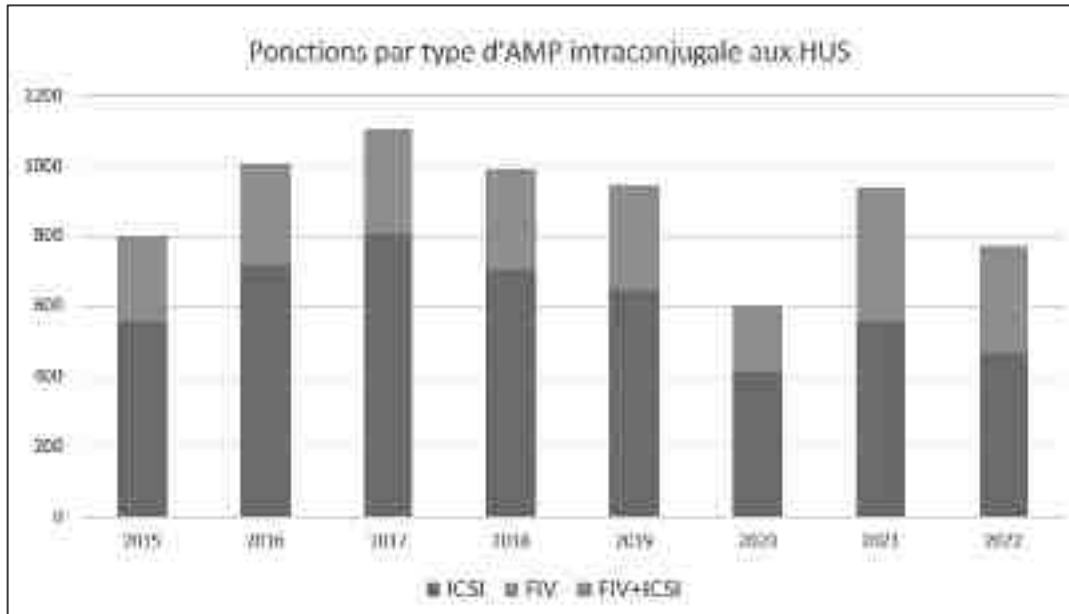


Figure n°11 : Nombre de ponctions par type d'AMP intraconjugale aux HUS

## II. Partie 2 : Etat des lieux et intérêt des demi-FIV demi-ICSI

### 1. Introduction et contexte

Depuis de nombreuses années, l'utilisation de l'ICSI est devenue de plus en plus fréquente et a dépassé celle de la FIV puisqu'elle concerne aujourd'hui 67% des tentatives intraconjugales en France en 2021 (49) et 71.1% en Europe en 2018 (82) (Fig. 12). Cependant, l'ICSI présente certaines limitations.

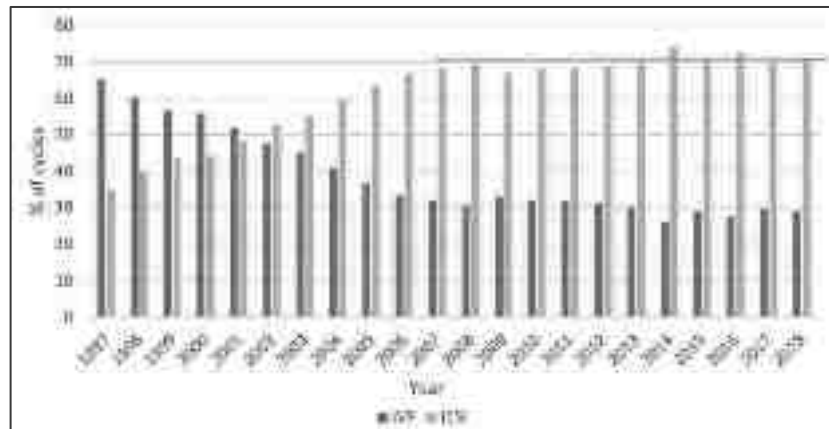


Figure n°12 : Distribution of treatments in Europe, 1997–2018, Proportion of IVF versus ICSI cycles. C.

Wyns et al, *Hum. Reprod. Open*, 2022.

#### a. Risque de lyse ovocytaire

Tout d'abord l'ICSI est une technique invasive qui expose au risque de lyse ovocytaire. Durant la procédure, la micropipette d'injection provoque une déformation importante de l'ovocyte qui entraîne une augmentation de sa pression interne. Cela peut conduire à une émission de cytoplasme dans l'espace péri-vitellin et à une dégénérescence de l'ovocyte (83). La lyse des ovocytes peut être observée dès le moment de l'injection ou lors de l'évaluation des signes de fécondation le lendemain de la tentative. Le risque de lyse ovocytaire peut être opérateur-dépendant mais renseigne également sur la qualité des ovocytes (84).

b. Temps technique et coût

L'ICSI demande un temps technique plus long, un temps de formation beaucoup plus important et du matériel plus onéreux (poste de micro-injection), son coût est donc supérieur. Dans la Nomenclature des Actes de Biologie Médicale (NABM) (85), tout acte de biologie médicale est identifié par un numéro de code auquel correspond un coefficient identifié par la lettre-clé B. La valeur de la lettre-clés B est fixée à 0.26€ depuis l'arrêté du 26 janvier 2023 (86). Une tentative de FIV classique est cotée B 1550, soit 403€. Cet acte comprend la culture ovocytaire, la préparation de sperme, l'insémination in vitro, le contrôle de la fécondation, la culture embryonnaire, la préparation et le contrôle du cathéter de transfert. Une tentative d'ICSI est cotée B 2500, soit 650€. Cet acte comprend les mêmes éléments que la FIV classique, auxquels s'ajoute la micromanipulation des gamètes.

c. Infertilités d'origine non masculine

En parallèle de son augmentation, les domaines d'utilisation de l'ICSI se sont étendus aux infertilités d'origine non masculines telles que l'infertilité idiopathique, l'infertilité liée à un âge maternel avancé ou à une baisse de la réserve ovarienne. La littérature est riche sur ce sujet mais plusieurs méta-analyses n'ont pas conclu à la supériorité de l'ICSI dans ces indications. Une première méta-analyse réalisée dès 2003 et mise à jour en 2023 n'a pas démontré de bénéfice significatif de l'ICSI en termes de taux de grossesses cliniques ou de naissances vivantes (4). En 2020, une autre méta-analyse de Abbas et al n'a pas non plus établi de supériorité de l'ICSI concernant le taux de fécondation, d'implantation et de naissances vivantes (5). Enfin un avis d'expert rendu par la Société Américaine de Médecine Reproductive en 2020, qui a examiné les taux de naissances vivantes comme critère principal

de jugement, conclut à l'absence de supériorité de l'ICSI dans le traitement des infertilités non masculine (6).

d. Santé des enfants

Des inquiétudes ont été soulevées quant aux conséquences des techniques d'AMP sur la santé des enfants. Plusieurs publications montrent un lien entre les techniques d'AMP et certaines complications à court terme (naissance prématurée, petit poids de naissance, malformations congénitales, mortalité périnatale...) ainsi qu'à long terme (risque accru de certains cancers, hypertension artérielle, asthme...). En effet les traitements de stimulation ainsi que la manipulation des gamètes et des embryons in vitro pourraient provoquer des altérations génomiques et épigénétiques en lien avec la santé des enfants (78).

Parmi ces publications, certaines font état d'un risque plus important après avoir eu recours à ICSI. Une étude de Luke et al en 2021 montre un risque de malformations congénitales de 18% après FIV, 42% après ICSI dans des indications masculines et 30% après ICSI dans des indications non masculines (87). Les études portant sur la santé à long terme des enfants nés après une ICSI sont peu nombreuses mais certaines indiquent une prévalence accrue de l'autisme, du syndrome métabolique et de certains types de cancers (88–90).

L'interprétation de telles études reste néanmoins délicate car elles comprennent de nombreux facteurs de confusion rendant difficile de déterminer avec certitude si c'est l'infertilité du couple ou la technique d'AMP qui est en cause (91).

## 2. Objectif

L'objectif de ce travail de thèse est de déterminer la technique de mise en fécondation optimale dans les infertilités d'origine non masculine. Pour cela, seront comparés les indicateurs de performance biologiques et cliniques de la FIV et de l'ICSI obtenus à partir d'une analyse exhaustive des tentatives demi-FIV demi-ICSI réalisées au Laboratoire de Biologie de la Reproduction (LBDR) des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg (HUS).

## 3. Matériel et Méthodes

### a. Protocole demi-FIV demi-ICSI

#### Stimulation hormonale et ponction ovocytaire

Un traitement hormonal est instauré afin d'obtenir une stimulation multi-folliculaire, tout en évitant une ovulation spontanée. La majorité des stimulations hormonales s'effectuent par un protocole antagoniste. Le protocole antagoniste débute, au moment des règles, par l'injection sous-cutanée quotidienne de gonadotrophines. Un monitoring de l'ovulation est réalisé à partir du 6<sup>ème</sup> jour du cycle par échographies endovaginales (évaluation du nombre et de la taille des follicules, mesure de l'épaisseur de l'endomètre) et dosages hormonaux sanguins comprenant œstradiol, progestérone et hormone lutéinisante (LH). L'antagoniste de la gonadolibérine (GnRH) est introduit lorsqu'au moins 2 follicules atteignent la taille de 12mm. Le déclenchement de l'ovulation est réalisé lorsqu'on observe à l'échographie au moins trois follicules d'une taille égale ou supérieure à 17mm (chez la normo-répondeuse). Il s'agit d'une injection sous-cutanée d'hormone chorionique gonadotrope (HCG) recombinante ou

d'agoniste de la GnRH. La ponction du liquide folliculaire est réalisée entre 36 et 40h après le déclenchement de l'ovulation, par voie trans-vaginale et sous contrôle échographique.

#### Recueil des complexes cumulo-ovocytaires

Le liquide folliculaire acheminé dans des tubes depuis le bloc opératoire est transvasé dans de grandes boîtes de Pétri, sous hotte à flux laminaire équipée d'une platine chauffante. Les CCO identifiés sous la loupe binoculaire sont recueillis et rincés dans une boîte contenant du milieu de manipulation de gamètes non tamponné. Après avoir été dénombrés, ils sont séparés aléatoirement en deux groupes et déposés dans deux boîtes 4 puits contenant du milieu de culture (l'une destinée à la FIV et l'autre à l'ICSI). Ces boîtes sont enfin placées dans un incubateur tri-gaz (6% de CO<sub>2</sub>, 5% d'O<sub>2</sub> et 89% de N<sub>2</sub>) à 37°C en atmosphère humide en attendant la mise en fécondation.

#### Préparation de sperme

Le recueil de sperme est réalisé et traité le même jour que la ponction ovocytaire. La préparation de sperme a pour but de sélectionner les spermatozoïdes les plus mobiles et d'activer la capacitation. Après évaluation des paramètres spermatiques initiaux (volume, numération et mobilité), un volume de sperme est déposé sur un gradient de densité constitué de deux couches de milieu de sélection des spermatozoïdes : 1 mL de phase 90% et 1mL de phase 50%. Une première centrifugation est réalisée à 300G durant 20 minutes. Le culot est repris dans 5mL de milieu de lavage tamponné et une deuxième centrifugation est réalisée à 600G durant 10 minutes. Le culot final est remis en suspension dans 0.3mL de milieu

de culture non tamponné. Les paramètres spermatiques sont réévalués après préparation (numération et mobilité).

#### Mise en fécondation par FIV classique

Les CCO sont mis en fécondation dans une boîte 4 puits avec une préparation de sperme contenant environ 100 000 spermatozoïdes progressifs par puit. Chaque puit contient au maximum 5 CCO. Le volume de sperme capacité à déposer dans les puits est calculé selon la formule suivante :  $\text{vol}(\mu\text{L}) = 100/\text{CP}(\text{M}/\text{mL})$  où CP est la concentration en spermatozoïdes progressifs. Après insémination, un contrôle des puits est effectué au microscope pour s'assurer de la bonne concentration en spermatozoïdes mobiles. Les puits sont ensuite recouverts d'huile minérale et la boîte est déposée dans un incubateur tri-gaz (5% d'oxygène, 6% de dioxyde carbone et 89% d'azote). L'utilisation de l'huile minérale a pour but d'empêcher l'évaporation du milieu de culture et de limiter les échanges gazeux entre l'air et le milieu afin de garantir la stabilité du pH et l'osmolarité de ce dernier. Le lendemain (environ 18 heures après l'insémination), les CCO sont dénudés par aspiration/refoulement à l'aide d'un stripper équipé d'un capillaire. Dans une boîte de Pétri, chaque ovocyte dénudé est déposé dans une goutte de milieu de culture (d'environ 30 $\mu\text{L}$ ). Toutes les gouttes sont recouvertes d'huile minérale et la boîte de culture est replacée dans l'incubateur tri-gaz.

#### Mise en fécondation par ICSI

Les CCO destinés à la mise en fécondation par ICSI sont décoronisés. La décoronisation désigne l'étape ayant pour but d'éliminer les cellules du cumulus oophorus et de la corona radiata. La décoronisation est tout d'abord chimique par action de la hyaluronidase puis mécanique par



aspiration/refoulement à l'aide d'un stripper équipé d'un capillaire. L'état de maturité de chaque ovocyte est évalué après décoronisation. Seuls les ovocytes matures (au stade de métaphase II, MII) sont destinés à l'ICSI. Les ovocytes au stade de vésicule germinative sont écartés. Les ovocytes au stade métaphase I (MI) sont conservés et à nouveau observés au moment de l'ICSI. Si ces ovocytes sont devenus matures (MII) ils sont injectés, s'ils restent immatures (MI) ils sont écartés. La micro injection est réalisée sous le microscope inversé (grossissement x200) équipé de deux porte-aiguilles. D'un côté, un spermatozoïde mobile et typique préalablement immobilisé est aspiré par le flagelle dans l'aiguille d'injection. De l'autre, l'ovocyte mature est maintenu immobile grâce à l'aiguille de contention. Le globule polaire est disposé à 6h ou 12h pour préserver intact le fuseau méiotique de l'ovocyte (92). L'aiguille d'injection peut alors percer la zone pellucide puis la membrane cytoplasmique de l'ovocyte. Une légère aspiration du cytoplasme est réalisée pour accentuer la rupture de la membrane cytoplasmique entraînant un afflux calcique nécessaire à la reprise de la méiose ovocytaire et donc à la fécondation (92). Le spermatozoïde est déposé dans le cytoplasme de l'ovocyte et l'aiguille d'injection est retirée doucement laissant apparaître un cône d'injection (Fig. 13). Dans une boîte de Pétri, chaque ovocyte micro injecté est rincé puis replacé dans une goutte de milieu de culture (d'environ 30  $\mu$ L). Toutes les gouttes sont recouvertes d'huile minérale et la boîte de culture est placée dans un incubateur tri-gaz.

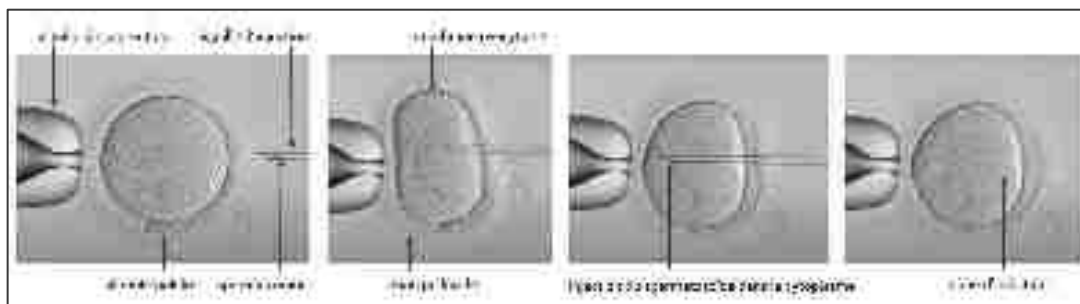


Figure n°13 : Mise en fécondation par ICSI (Source : LBDR, HUS)

### Evaluation de la fécondation et du développement embryonnaire

Entre seize et dix-huit heures après la mise en fécondation, chaque zygote est observé au microscope en cherchant les signes de fécondation : le nombre de pronucléi (PN) et le nombre de globules polaires (GP). Les zygotes présentant 2PN ou 0PN-2GP sont conservés, les zygotes à 3PN ou plus sont éliminés. Les zygotes à 1PN sont gardés et observés à nouveau une heure plus tard. Ils sont conservés s'ils présentent 2PN ou 0PN-2GP mais éliminés s'ils présentent toujours 1PN. La culture embryonnaire est réalisée dans les conditions suivantes : obscurité, température à 37°C, atmosphère constituée de 5% d'O<sub>2</sub> et 6% de CO<sub>2</sub> et pH entre 7.2 et 7.4. Les embryons peuvent être observés à différentes étapes de leur développement et les protocoles ont évolué en fonction des années. Les embryons sont observés au microscope inversé au grossissement x200 et sont évalués selon leur morphologie.

Les embryons clivés sont observés entre 67 et 69h après la mise en fécondation (J3), les blastocystes sont observés entre 114 et 118h après la mise en fécondation (J5) (93). Une lecture supplémentaire est possible au 6<sup>e</sup> jour pour les embryons qui présentent un retard de blastulation. Concernant les embryons clivés, les critères de classification tiennent compte du nombre de blastomères, de l'aspect typique ou atypique des cellules et du pourcentage de fragmentation. Les blastocystes sont évalués selon la classification de Gardner et Schoolcraft basée sur le degré d'expansion, la qualité de la masse cellulaire interne (MCI) et la qualité du trophoctoderme (TE) (94).

Le grade B1 correspond aux blastocystes dont le blastocèle représente moins de la moitié du volume de l'embryon. Le grade B2 correspond aux blastocystes dont le blastocèle est égal à au moins la moitié du volume total de l'embryon. Le grade B3 correspond au stade où le

blastocèle remplit totalement le volume de l'embryon. Le grade B4 correspond au stade où le volume du blastocèle est supérieur au volume d'origine de l'embryon (blastocyste expansé) avec une ZP amincie. Le grade B5 correspond aux blastocystes qui présentent une brèche dans la ZP avec une hernie du trophoctoderme. Le grade B6 correspond aux blastocystes totalement éclos de leur ZP. A partir du grade B3, on détaille les critères morphologiques de la MCI et du TE en trois catégories. Pour la MCI, la catégorie A correspond à de nombreuses cellules bien individualisées, la catégorie B correspond à des cellules moins organisées et la catégorie C correspond à très peu voire une absence totale de cellules. Pour le TE, la catégorie A correspond à de nombreuses cellules cohésives formant un épithélium festonné, la catégorie B correspond à peu de cellules formant un épithélium lâche et la catégorie C correspond à un épithélium lisse, irrégulier et pauvre en cellules (94), (41), (Fig. 14).

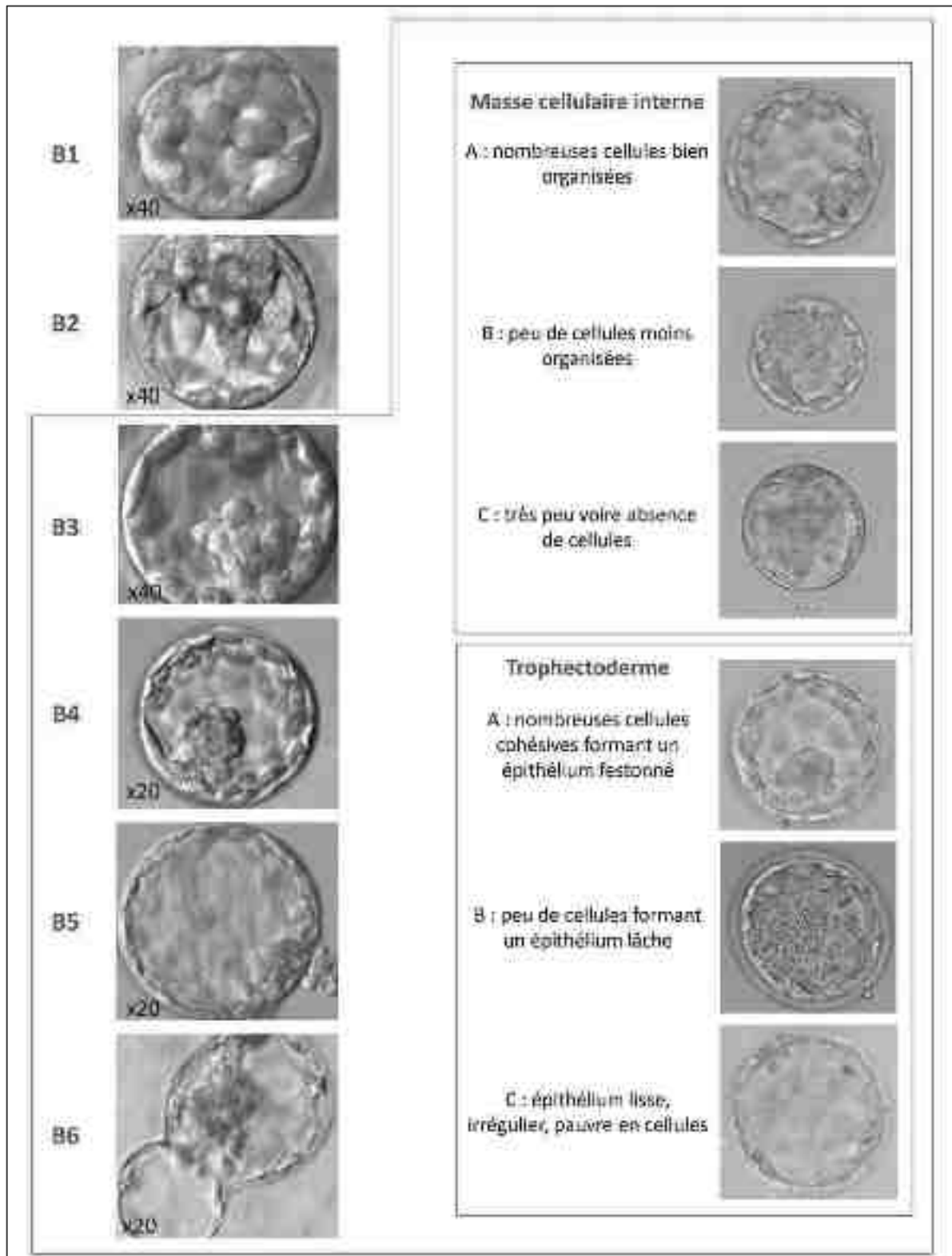


Figure n°14 : Classification de Gardner et Schoolcraft, 1999

(Source : LBDR, HUS et Morphologie de l'embryon humain, P. Boyer et al, Springer, 2011)

### Transfert frais

Actuellement dans le centre d'AMP des HUS la majorité des embryons sont mis en culture prolongée (jusqu'au stade de blastocyste) et la majorité des transferts embryonnaires frais (TEF) se font au 5<sup>e</sup> jour. Ce travail regroupant toutes les tentatives de demi-FIV demi-ICSI réalisées entre janvier 2015 et décembre 2022, il comporte à la fois des transferts d'embryons précoces au 3<sup>e</sup> jour et des transferts de blastocystes au 5<sup>e</sup> jour. Les embryons qui présentent au moins 6 cellules au 3<sup>e</sup> jour peuvent être transférés. Au 5<sup>e</sup> jour les blastocystes B1 typiques, B2 typiques et B3 à B6 peuvent être transférés si leur MCI et TE ne sont pas pauvres en cellules (CC). La majorité des transferts embryonnaires sont uniques, quel que soit le nombre d'embryons obtenus à la fin de la période de culture embryonnaire. Le but du transfert unique est d'éviter les complications obstétricales et néonatales des grossesses multiples.

Au moment du transfert, l'embryon est aspiré avec du milieu de culture dans un cathéter de transfert. Ce cathéter est donné au gynécologue qui, sous contrôle échographique, dépose l'embryon dans la cavité utérine. Après le transfert le technicien ou le biologiste récupère le cathéter et effectue des aspirations et refoulements afin de vérifier que le cathéter ne contient plus d'embryon. La patiente débute, le jour du transfert, un traitement par progestérone et réalise un dosage des  $\beta$ HCG 15 jours après le transfert.

### Vitrification embryonnaire

Les embryons surnuméraires de bonne qualité peuvent être vitrifiés jusqu'au 6<sup>e</sup> jour de culture embryonnaire. Les embryons qui présentent au moins 6 cellules au 3<sup>e</sup> jour peuvent être conservés. Au 5<sup>e</sup> ou 6<sup>e</sup> jour les blastocystes B2 typiques et B3 à B6 peuvent être vitrifiés si leur MCI et TE ne sont pas pauvres en cellules (CC). L'embryon est mis en contact avec une

concentration croissante de cryoprotecteurs, puis déposé dans la gouttière de la paillette. La paillette est ensuite soudée hermétiquement et plongée immédiatement dans l'azote liquide à  $-196^{\circ}\text{C}$ , la vitesse de refroidissement est alors d'environ  $-2000^{\circ}\text{C}/\text{min}$ . Les embryons sont vitrifiés individuellement en système fermé et les paillettes sont conservées dans des cryocontainers d'azote liquide.

### Dévitricification embryonnaire

Le réchauffement de l'embryon est réalisé environ deux heures avant le transfert. L'embryon est mis en contact avec une solution de décongélation, de dilution puis de lavage. Ces bains successifs permettent d'éliminer les cryoprotecteurs et de réhydrater l'embryon. L'embryon est enfin déposé dans une boîte 4 puits contenant du milieu de culture et mis à l'incubateur jusqu'au transfert. Le geste de transfert est alors le même que celui du transfert d'embryon frais.

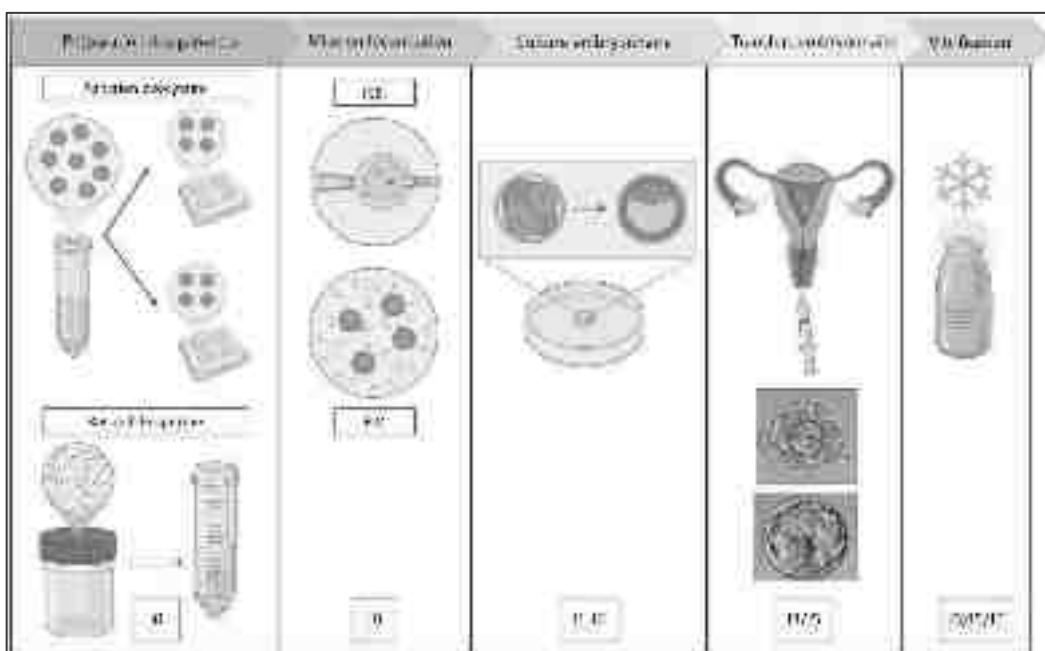


Figure n°15 : Les différentes étapes des tentatives demi-FIV demi-ICSI

b. Type d'étude et description de la population

Afin de traiter ce sujet, nous avons réalisé une étude rétrospective et uni-centrique incluant de manière consécutive toutes les tentatives demi-FIV demi-ICSI réalisées entre le 1<sup>er</sup> janvier 2015 et le 31 décembre 2022 au sein du Laboratoire de Biologie de la Reproduction des HUS. L'extraction des données clinico-biologiques a été possible grâce aux logiciels Médifirst et Diamm.

c. Indicateurs évalués

i. Indicateurs biologiques

Les indicateurs utilisés pour comparer les performances de la FIV et de l'ICSI du point de vue du laboratoire ont été définis selon les critères du consensus de Vienne (84). Le taux de fécondation normale a été défini par le nombre d'ovocytes à 2 PN au lendemain de la mise en fécondation rapporté au nombre de CCO attribués, et au nombre d'ovocytes matures en ICSI. Le taux de clivage a été défini par le nombre d'embryons observés clivés au deuxième jour de culture rapporté au nombre d'ovocytes fécondés (2PN). Le taux d'échec de fécondation a été calculé en rapportant le nombre d'échecs de fécondation au nombre total de tentatives.

Concernant la blastulation, plusieurs indicateurs ont été utilisés. Le taux de blastulation total prend en compte tous les blastocystes obtenus au 5<sup>e</sup> et/ou 6<sup>e</sup> jour de culture embryonnaire. Le taux de blastulation utile prend en compte les blastocystes transférés ou congelés au 5<sup>e</sup> et/ou 6<sup>e</sup> jour de culture embryonnaire. Enfin, une population de « top » blastocystes a été définie, correspondant aux blastocystes à partir du grade B3 dont la MCI et le TE étaient composés de nombreuses cellules (AA) ou pour lesquels la MCI ou le TE présentaient peu de

cellules (AB ou BA) au 5<sup>e</sup> jour de culture embryonnaire. Ces différents effectifs ont été rapportés à la fois au nombre d'ovocytes fécondés (2PN) (84) mais aussi au nombre de CCO.

Enfin, un taux de transfert a été défini par le nombre de tentatives où un TEF a pu être réalisé rapporté au nombre total des tentatives pour lesquelles un TEF était prévu (c'est-à-dire en excluant les tentatives avec congélation de totale des embryons).

## ii. Indicateurs cliniques

Les indicateurs cliniques sont composés du taux de grossesses cliniques et du taux de de naissances vivantes, qui ont été calculées par transfert et par tentative. Dans le calcul de ces issues cliniques, ont été exclus les transferts mixtes (un embryon de FIV et un embryon d'ICSI). Une grossesse clinique est définie par la visualisation d'un sac gestationnel intra-utérin à l'échographie (95). Le taux de grossesses cliniques comprend donc les fausses couches précoces avant 12 semaines d'aménorrhée, les fausses couches tardives entre 12 et 21 semaines d'aménorrhées, les grossesses extra-utérines (GEU), les interruptions médicales de grossesse (IMG), et les patientes perdues de vue pour qui la grossesse clinique était connue mais pas l'issue de la grossesse. Une grossesse biochimique a été définie par une élévation des  $\beta$ HCG > 100 UI/L sans visualisation d'un sac gestationnel intra-utérin à l'échographie. Les grossesses biochimiques n'ont donc pas été comprises dans le calcul du taux de grossesses cliniques.



#### d. Analyses statistiques

Les différentes données ont été analysées grâce à des tests de comparaison de proportions. Le test du Khi 2 a été utilisé lorsque les effectifs satisfaisaient les conditions d'utilisation et le test exact de Fisher a été utilisé dans les cas où les conditions d'utilisation du Khi 2 n'étaient pas respectées. Le risque alpha a été fixé par convention à 0.05.

Les sommes de blastocystes utiles obtenus au 5<sup>e</sup> et 6<sup>e</sup> jour de culture embryonnaire ont été comparées grâce au test paramétrique de Student apparié lorsque les effectifs étaient suffisants (risque alpha = 0.05).

### 4. Résultats

#### a. Description de la population

Cette étude inclut 719 tentatives demi-FIV demi-ICSI pour 719 couples. Au total 8877 CCO ont été attribués aléatoirement, 4278 destinés à une mise en fécondation par FIV classique et 4599 par ICSI. Concernant l'issue des tentatives, 428 (59.53%) ont donné lieu à un transfert d'embryon frais, 202 (28.09%) à une vitrification totale des embryons obtenus et 89 (12.38%) à un échec. Il s'agissait d'un échec de culture pour 84 couples et d'un échec de fécondation total (à la fois en FIV et en ICSI) pour 5 couples. Concernant le transfert d'embryon frais, il était unique dans la majorité des cas (97.66%). Il s'est déroulé au 3<sup>e</sup> jour de culture embryonnaire pour 56.62% des couples, et au 5<sup>e</sup> jour pour 43.38% des couples.

Les principales caractéristiques de la population sont décrites dans le *tableau 1*. Les femmes étaient âgées de 22 à 43 ans et la médiane du dosage de l'AMH était de 2.53ng/ml. Dans la majorité des cas, il s'agissait d'une infertilité primaire (80.67%), après échec d'une ou plusieurs

inséminations intra-utérines (IIU) (84.01%) et la demi-FIV demi-ICSI constituait la première tentative de fécondation in vitro du couple (99.44%). L'infertilité était idiopathique pour 37.97% des couples, liée à un SOPK pour 15.02%, une endométriose pour 10.99% des couples et à une réserve ovarienne diminuée pour 12.38% (définie par une AMH<1.2ng/ml d'après les critères de la classification de Poseidon (96)). Les femmes âgées de 37 ans et plus représentaient 27.12% des patientes. Certaines infertilités étaient dues à un facteur masculin non sévère, défini par une oligozoospermie ou asthénozoospermie fluctuantes. Dans cette population, aucun homme ne présentait une oligo-astheno-tératospermie sévère (OATS). Les principales caractéristiques spermatisques au jour de la tentative sont également résumées dans le *tableau 1*.

	Médiane [min-max] ou %
Age maternel	33 [22-43]
AMH (ng/ml)	2,53 [0,18-18,3]
MC (femme)	22,34 [15,67-41,83]
MC (homme)	25,25 [17,71-47,34]
Tabagisme actif (femme)	13,90%
Tabagisme actif (homme)	31,04%

	Effectif [%]
infertilité primaire	583 [60,67%
infertilité primo-secondaire	92 [12,80%
infertilité secondaire	47 [6,53%
infertilité idiopathique	173 [37,97%
SOPK	108 [15,02%
Réserve ovarienne diminuée	89 [12,38%
endométriose	49 [10,99%
infertilité tubaire	92 [4,45%
infertilité utérine	11 [1,58%
infertilité masculine non sévère	47 [4,84%
Age maternel ≥ 37 ans	195 [27,32%
Echec d'IIU	404 [84,01%
Nombre moyen d'IIU réalisés	3 [1-7]

	Médiane [min-max]
Numération spermatisque initiale (M/ml)	31 [1,2-275]
Mobilité spermatisque totale initiale (%)	60 [15-90]
Mobilité spermatisque totale post-préparation (%)	60 [20-100]
Préparation finale (M de spermatozoïdes mobiles totaux/0,5ml)	4,97 [0,104-56]

Tableau n°1 : Caractéristiques de la population étudiée

b. Cohorte totale

Au total, nous avons étudié le devenir de 8877 CCO répartis en deux groupes : 4278 mis en fécondation par FIV classique et 4599 par ICSI. En moyenne, 11 CCO étaient prélevés par ponction ovocytaire. Le taux de maturité des ovocytes est de 75.26% et le taux de lyse post-ICSI de 5.66%. Le taux de fécondation normale est de 45.20% en FIV, de 52.69% en ICSI lorsqu'il est calculé par CCO et de 70.01% en ICSI lorsqu'il est calculé par MII. Le taux de clivage est de 93.07% en FIV et de 96.04% en ICSI. Les taux de fécondation et de clivage sont significativement supérieurs en ICSI ( $p < 0.001$ ). Il y a eu au total 104 échecs de fécondation en FIV seule, 7 en ICSI seule et 5 échecs de fécondation totaux (à la fois en FIV et en ICSI). Le taux d'échec de fécondation est significativement supérieur en FIV (14.46% versus 0.97%,  $p < 0.001$ ). Concernant le développement embryonnaire, on observe des taux de blastulation (totale, utile et « top » blastocystes) significativement supérieurs en FIV lorsqu'ils sont calculés par rapport au nombre de 2PN. En revanche, certains taux deviennent non significatifs (taux de blastulation totale à J5 et taux de blastulation utile à J5+J6) voire en faveur de l'ICSI (taux de blastulation totale à J5+J6) lorsqu'ils sont calculés par rapport au nombre de CCO mis en fécondation. Il y a eu statistiquement plus de blastocystes utiles obtenus en ICSI ( $p = 0.0139$ ) et plus d'embryons transférés frais en ICSI ( $p < 0.001$ ).

Aucune différence significative n'a pu être démontrée entre FIV et ICSI au sujet des taux de grossesses cliniques et de naissances vivantes par transfert, qu'il s'agisse des transferts d'embryons frais ou vitrifiés. En revanche, lorsque ces taux sont calculés par tentative, le taux de grossesses cliniques est significativement supérieur en ICSI ( $p < 0.01$ ) et une tendance est aussi mise en évidence en faveur de l'ICSI pour les naissances vivantes ( $p = 0.07$ ). Les indicateurs biologiques et cliniques de la cohorte totale sont présentés dans l'*annexe 1*.

c. Infertilité idiopathique

Dans cette population qui représente 37.97% des couples (soit 273 tentatives), 1735 CCO ont été mis en fécondation par FIV classique et 1881 par ICSI. Le taux de fécondation normale est de 44.44% en FIV, de 53.75% en ICSI lorsqu'il est calculé par CCO et de 71% en ICSI lorsqu'il est calculé par MII. Le taux de clivage est de 92.61% en FIV et de 95.35% en ICSI. Les taux de fécondation et de clivage sont significativement supérieurs en ICSI ( $p < 0.001$  et  $p < 0.02$  respectivement). Il y a eu au total 36 échecs de fécondation en FIV seule et 1 en ICSI seule. Le taux d'échec de fécondation est supérieur en FIV (13.19% versus 0.37%,  $p < 0.001$ ).

Concernant le développement embryonnaire, on observe des taux de blastulation totale et utile significativement supérieurs en FIV lorsqu'ils sont calculés par rapport au nombre de 2PN. En revanche, ces taux de blastulation deviennent non significatifs lorsqu'ils sont calculés par rapport au nombre de CCO mis en fécondation. Une tendance peut même être mise en évidence en faveur de l'ICSI concernant le taux de blastulation totale à J5+J6 ( $p = 0.06$ ). Il y a eu statistiquement plus de blastocystes utiles obtenus en ICSI ( $p = 0.0283$ ) et plus d'embryons transférés frais en ICSI ( $p < 0.01$ ).

Concernant les indicateurs cliniques, aucune différence significative n'a pu être mise en évidence concernant les taux de grossesses cliniques et de naissances vivantes par transfert et par tentative. Les indicateurs biologiques et cliniques de l'infertilité idiopathique sont présentés dans l'*annexe 2*.

Au sein des infertilités idiopathiques nous avons distingué les infertilités primaires et secondaires (regroupant les infertilités primo-secondaires et secondaires). Dans l'infertilité primaire idiopathique nous n'avons pas montré de différence significative au sein des taux de blastulation. En revanche le nombre total de blastocystes utiles obtenus à J5+J6 et le taux de

transfert étaient significativement supérieurs en ICSI ( $p=0.003$  et  $p<0.05$  respectivement). Dans l'infertilité idiopathique secondaire il n'y avait pas de différence significative en faveur de l'ICSI en ce qui concerne la blastulation et le taux de transfert. Dans ces deux sous-groupes les taux de grossesses cliniques et de naissances vivantes n'étaient pas significativement différents entre la FIV et l'ICSI. Ces résultats sont présentés dans l'*annexe 7*.

d. Syndrome des ovaires polykystiques

Cette population représente 15.02% des couples (soit 108 tentatives), 753 CCO ont été mis en fécondation par FIV classique et 790 par ICSI. Le taux de fécondation normale est de 48.47% en FIV, de 53.42% en ICSI lorsqu'il est calculé par CCO et de 70.45% en ICSI lorsqu'il est calculé par MII. Le taux de clivage est de 92.05% en FIV et de 94.21% en ICSI. Les taux de fécondation par CCO et de clivage ne sont pas statistiquement différents entre la FIV et l'ICSI. Il y a eu dans ce groupe 10 échecs de fécondation en FIV seule et 1 en ICSI seule. Le taux d'échec de fécondation est supérieur en FIV (9.26% versus 0.93%,  $p=0.01$ ).

Concernant le développement embryonnaire, on observe des taux de blastulation totale à J5, blastulation utile et « top » blastulation significativement supérieurs en FIV ( $p<0.05$ ,  $p<0.001$  et  $p<0.001$  respectivement). Cette supériorité est retrouvée lorsqu'on calcule les taux de blastulation utile et de « top » blastulation par CCO. Dans ce groupe, la somme des blastocystes utiles obtenus et le taux de transferts embryonnaires frais ne sont pas statistiquement différents.

Concernant les taux de grossesses cliniques et de naissances vivantes, aucune différence significative n'a été mise en évidence. Les indicateurs biologiques et cliniques du SOPK sont présentés dans l'*annexe 3*.

e. Endométriose

Dans cette population représentant 10.99% des couples (soit 79 tentatives), 427 CCO ont été mis en fécondation par FIV classique et 460 par ICSI. Le taux de fécondation normale est de 50.35% en FIV, de 50.65% en ICSI lorsqu'il est calculé par CCO et de 93.95% en ICSI lorsqu'il est calculé par MII. Le taux de clivage est de 95.35% en FIV et de 97.42% en ICSI. Les taux de fécondation par CCO et de clivage ne sont pas statistiquement différents entre la FIV et l'ICSI. Il y a eu dans ce groupe 10 échecs de fécondation en FIV seule et aucun échec de fécondation en ICSI. Le taux d'échec de fécondation est supérieur en FIV (12.66% versus 0%,  $p=0.001$ ).

Concernant le développement embryonnaire, on observe des taux de blastulation utile et de « top » blastulation significativement supérieurs en FIV ( $p<0.01$ ). Cette supériorité est retrouvée lorsqu'on calcule ces indicateurs par CCO ( $p<0.02$ ). Dans ce groupe, la somme des blastocystes utiles obtenus et le taux de transferts embryonnaires frais ne sont pas statistiquement différents.

Concernant les taux de grossesses cliniques et de naissances vivantes, aucune différence significative n'a été mise en évidence. Les indicateurs biologiques et cliniques de l'endométriose sont présentés dans l'*annexe 4*.

f. Age maternel supérieur ou égal à 37 ans

Les femmes de 37 ans ou plus représentent 27.12% des couples (soit 195 tentatives). Dans ce groupe 1066 CCO ont été mis en fécondation par FIV classique et 1137 par ICSI. Le taux de fécondation normale est de 46.25% en FIV, de 50.75% en ICSI lorsqu'il est calculé par CCO et de 68.20% en ICSI lorsqu'il est calculé par MII. Le taux de clivage est de 93.51% en FIV et de 96.36% en ICSI. Les taux de fécondation et de clivage sont significativement supérieurs en ICSI

( $p < 0.05$ ). Il y a eu dans ce groupe 29 échecs de fécondation en FIV seule et 2 échecs de fécondation en ICSI seule. Le taux d'échec de fécondation est supérieur en FIV (14.87% versus 1.03%,  $p < 0.001$ ).

Concernant le développement embryonnaire, on observe des taux de blastulation (totale à J5, utile et « top ») significativement supérieurs en FIV ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  et  $p < 0.01$  respectivement). Cette supériorité est retrouvée pour le taux de blastulation utile à J5 ( $p < 0.05$ ) et le taux de « top » blastulation ( $p < 0.01$ ) lorsque ceux-ci sont calculés par CCO. Dans ce groupe, il n'y a pas de différence significative concernant la somme des blastocystes utiles obtenus. Le taux de transfert embryonnaire frais est supérieur en ICSI ( $p < 0.001$ ).

Concernant les taux de grossesses cliniques et de naissances vivantes, aucune différence significative n'a été mise en évidence. Les indicateurs biologiques et cliniques des femmes âgées de 37 ans ou plus sont présentés dans l'*annexe 5*.

g. Réserve ovarienne diminuée

Dans cette population représentant 12.38% des couples (soit 89 tentatives), 352 CCO ont été mis en fécondation par FIV classique et 392 par ICSI. Le taux de fécondation normale est de 45.74% en FIV, de 48.47% en ICSI lorsqu'il est calculé par CCO et de 65.07% en ICSI lorsqu'il est calculé par MII. Le taux de clivage est de 93.17% en FIV et de 95.79% en ICSI. Les taux de fécondation par CCO et de clivage ne sont pas statistiquement différents entre la FIV et l'ICSI. Il y a eu dans ce groupe 16 échecs de fécondation en FIV seule et 3 échecs de fécondation en ICSI seule. Le taux d'échec de fécondation est supérieur en FIV (17.98% versus 3.37%,  $p = 0.003$ ).

Concernant le développement embryonnaire, on n'observe pas de différence significative concernant les taux de blastulation, hormis le taux de blastulation totale à J5+J6 qui est significativement supérieur en ICSI lorsqu'on le calcule par 2PN et par CCO ( $p < 0.05$ ). Néanmoins, la somme des blastocystes utiles obtenus et le taux de transferts embryonnaires frais ne sont pas statistiquement différents.

Concernant les taux de grossesses cliniques et de naissances vivantes, aucune différence significative n'a été mise en évidence. Les indicateurs biologiques et cliniques de la réserve ovarienne diminuée sont présentés dans l'*annexe 6*.

## 5. Discussion

### a. Activité du centre d'AMP des HUS

Dans ce travail étudiant une cohorte de 719 couples, nous avons montré un taux cumulé de grossesses cliniques par ponction de 18.13% en FIV et 23.99% en ICSI. Les taux de naissances vivantes par ponction étaient de 14.23% en FIV et 17.85% en ICSI. A titre de comparaison, les chiffres de l'Agence de la Biomédecine (ABM) de 2021 sont de 22.7% en FIV et 22.5% en ICSI pour les taux de grossesses échographiques par tentative et de 20% en FIV et 19.6% en ICSI pour les taux d'accouchements par tentative (49). Ces différences pourraient s'expliquer par une discordance dans la construction du calcul de ces taux. En effet l'ABM exclut de ces tentatives toutes les ponctions suivies de la congélation de la totalité de la cohorte embryonnaire (freeze-all).

En parallèle, l'ABM présente des taux de grossesses échographiques par transfert de 29.7% en FIV et 29.6% en ICSI, et des taux d'accouchements par transfert de 26.1% en FIV et 25.9%



en ICSI. Dans notre cohorte les taux de grossesses cliniques par transfert étaient de 43.77% en FIV et 40.86% en ICSI. Les taux de naissances vivantes par transfert étaient de 34.34% en FIV et 30.40% en ICSI. Ces chiffres démontrent de la qualité de la prise en charge des patients au centre d'AMP des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg.

b. Pas de supériorité de l'ICSI dans les infertilités non masculines

Dans ce travail nous n'avons pas montré de supériorité de l'ICSI en termes de blastulation, de grossesses cliniques ou de naissances vivantes dans les infertilités non masculines liées au SOPK, à l'endométriose, à l'âge maternel avancé ou à la diminution de la réserve ovarienne.

D'autres études se basant sur des tentatives demi-FIV demi-ICSI ont retrouvé des résultats concordants. Une étude de Chamayou et al (97) retrouve un taux de fécondation supérieur en ICSI mais pas de différence significative concernant les taux de clivage, de blastulation, de grossesses cliniques et de naissances vivantes pour 334 cycles analysés. Une autre étude de Speyer et al (98) analysant 136 cycles de demi-FIV demi-ICSI ne trouve pas de différence significative concernant le taux de fécondation mais trouve un nombre total de blastocystes obtenus et un taux de transfert supérieurs en FIV. Dans cette étude, l'auteur postule que ces résultats seraient la conséquence d'une chronologie de développement embryonnaire différente entre la FIV et l'ICSI. Les embryons issus d'ICSI présenteraient un développement plus lent voire un retard de développement embryonnaire. Ce paramètre n'a pas été évalué dans notre travail et serait difficile à comparer à la littérature en raison des différences de protocole relatifs à la chronologie de la mise en fécondation. Haas et al (99) se sont intéressés aux infertilités liées à l'âge maternel avancé. Dans une cohorte de 60 couples dont l'âge maternel était compris entre 39 et 44 ans, l'étude des tentatives demi-FIV demi-ICSI n'a pas

montré de supériorité de l'ICSI concernant la fécondation, le clivage, la qualité embryonnaire et le nombre d'embryons transférés.

Dans le contexte actuel de l'augmentation croissante de l'utilisation de l'ICSI au-delà de son indication masculine, plusieurs revues de la littérature et méta-analyses font la synthèse des indicateurs de performances de la FIV et de l'ICSI. Plusieurs d'entre elles sous-tendent nos résultats et ne font pas état d'un intérêt de l'ICSI dans les infertilités d'origine non masculine (4–6).

#### c. Infertilité idiopathique

Dans le sous-groupe des infertilités idiopathiques, certains indicateurs de performance étaient statistiquement supérieurs en ICSI, notamment le nombre de blastocystes utiles obtenus à J5 et J6 et le taux de transfert, ceci pourrait suggérer un intérêt de l'ICSI dans cette indication.

Il existe cependant dans cette population une certaine disparité de résultats. En effet, s'il existe 29.62% des tentatives pour lesquels les embryons utiles n'ont été obtenus qu'en ICSI, il existe de la même manière 16.69% des tentatives pour lesquels les embryons utiles n'ont été obtenus qu'en FIV. Ceci pourrait suggérer qu'il existe au sein même des infertilités idiopathiques certains facteurs influençant la supériorité ou non de l'ICSI dans cette indication.

Nous avons alors étudié dans un second temps le caractère primaire ou secondaire de l'infertilité comme potentiel facteur. Au sein des infertilités primaires idiopathiques il y avait plus de blastocystes utiles obtenus en ICSI ( $p=0.003$ ) et un taux de transfert supérieur en ICSI ( $p<0.05$ ). Dans le groupe des infertilités idiopathiques secondaires, il n'y avait aucune

différence significative entre la FIV et l'ICSI. Nous n'avons observé aucune différence significative en ce qui concerne les indicateurs cliniques dans les deux groupes. Ainsi le caractère primaire ou secondaire de l'infertilité pourrait être un facteur influençant les performances de l'ICSI dans l'infertilité idiopathique mais ces conclusions sont à nuancer du fait d'un faible effectif dans le groupe des infertilités secondaires (48 couples). Il serait intéressant de poursuivre ce travail sur un plus grand nombre de tentatives pour confirmer ou non cette première tendance et identifier d'autres facteurs afin d'orienter toujours mieux les couples vers la technique de mise en fécondation la plus appropriée.

#### d. Echecs de fécondation en FIV

Dans notre cohorte, les taux de fécondation étaient systématiquement supérieurs en ICSI et cela dans tous les sous-groupes. L'ICSI, dont le principe est d'injecter directement le spermatozoïde dans le cytoplasme de l'ovocyte, est une technique permettant de court-circuiter plusieurs barrières : les cellules du cumulus oophorus, la zone pellucide et la membrane de l'ovocyte. La technique même de l'ICSI explique sa supériorité en termes de taux de fécondation.

Nous avons mis en évidence 104 échecs de fécondation en FIV classique, dont 39 dans le groupe des infertilités idiopathiques. Il y a eu 7 échecs de fécondation en ICSI et 5 échecs de fécondation à la fois en FIV et en ICSI. Les échecs de fécondation sont des expériences difficiles surtout lorsqu'ils surviennent lors de la première tentative de fécondation in vitro. Ce sont des événements particulièrement redoutés par les couples mais aussi par l'équipe clinico-biologique.

Selon la littérature les échecs de fécondation surviennent dans 5 à 15% des tentatives de FIV (100). Dans notre cohorte le taux d'échec de fécondation en FIV était de 14.46% mais ce chiffre peut être nuancé. En effet cette étude concerne les tentatives demi-FIV demi-ICSI où seulement la moitié de la cohorte cumulo-ovocytaire est attribuée à la FIV. De ce fait, on peut supposer qu'il y aurait eu moins d'échecs de fécondation si on avait réalisé la FIV sur l'ensemble des CCO. Ce chiffre pourrait en réalité se rapprocher du taux d'échec de fécondation en FIV classique dans notre centre, soit 7.98%.

Nos résultats en termes de fécondation sont similaires à plusieurs autres auteurs, Bungum et al (101), Hershlag et al (81), Sauerbrun-Cutler et al (102) et Yovich et al (103), qui ont tous étudié les demi-FIV demi-ICSI dans le contexte de l'infertilité idiopathique. Tous s'accordent à dire que la technique demi-FIV demi-ICSI est le meilleur choix de prise en charge des infertilités idiopathiques dans le but de diminuer le risque d'échec de fécondation.

Une technique d'ICSI-sauvetage a également été décrite dans la littérature pour diminuer le taux d'échec de fécondation en FIV. Le principe est de réaliser une ICSI tardive entre 16 et 18h après la mise en fécondation par FIV sur les ovocytes observés non fécondés. Ses résultats sont similaires à ceux de la demi-FIV demi-ICSI dans la prévention de l'échec de fécondation (104).

e. Forces et limites de cette étude

i. Forces de l'étude

Cette étude constitue le premier état des lieux exhaustif des tentatives demi-FIV demi-ICSI réalisées au sein du Laboratoire de Biologie de la Reproduction des Hôpitaux

Universitaires de Strasbourg. Cette étude compte un total de 719 couples, un effectif bien supérieur à celui généralement observé dans la plupart des publications traitant des demi-FIV demi-ICSI, ce qui lui confère une grande puissance.

Le deuxième point fort de cette étude réside dans sa méthodologie. La plupart des recherches comparent la FIV et l'ICSI dans des populations différentes, ce qui engendre de nombreux biais de confusion nécessitant des ajustements. Cette étude se distingue par l'utilisation du modèle demi-FIV demi-ICSI qui offre l'avantage de comparer les performances de la FIV et de l'ICSI au sein de couples appariés, éliminant ainsi les biais liés à la diversité de la population étudiée.

#### ii. Limites de l'étude

Cette étude est une analyse rétrospective et uni centrique des tentatives demi-FIV demi-ICSI réalisées entre 2015 et 2022 au centre d'AMP des HUS. Ainsi les protocoles ont connu des évolutions au fil des années. En 2015, de nombreux embryons étaient transférés ou congelés au troisième jour, tandis qu'aujourd'hui, la culture prolongée est devenue la norme. De la même manière, le seuil de CCO requis pour réaliser une demi-FIV demi-ICSI a pu évoluer en fonction des années et des biologistes. Ce seuil est actuellement fixé à 6 CCO mais cette étude comporte des tentatives demi-FIV demi-ICSI qui ont été réalisées sur 4 ou 5 CCO. Un autre biais peut être soulevé du fait que la décoronisation des CCO destinés à l'ICSI soit réalisée avant la mise en fécondation des CCO destinés à la FIV. En cas d'observation d'un taux de maturité faible après décoronisation, certains CCO ont pu être transférés du groupe FIV au groupe ICSI dans le but de rééquilibrer le nombre d'ovocytes mis en fécondation, entraînant un déséquilibre dans le nombre de CCO attribués au départ. Ce fût le cas pour 10 tentatives au sein de notre cohorte.

Enfin, dans certains sous-groupes les effectifs sont moindres et diminuent la puissance des résultats. De nombreux indicateurs n'étaient pas significativement différents entre la FIV et l'ICSI, en particulier concernant les indicateurs cliniques. Un effectif plus important de couples pourrait permettre à l'avenir de mettre en évidence d'autres arguments en faveur de la FIV ou de l'ICSI, en particulier concernant les taux de grossesses cliniques et de naissances vivantes, but premier d'une prise en charge en AMP.

#### f. Perspectives

Ce travail a permis de confirmer qu'il n'existe pas de supériorité de l'ICSI dans des infertilités d'origine non masculines telles que l'endométriose, le SOPK, la réserve ovarienne diminuée ou l'infertilité liée à un âge maternel avancé. Nous avons montré que le modèle demi-FIV demi-ICSI ne présente un intérêt que dans les infertilités idiopathiques afin de réduire le taux d'échecs de fécondation.

Simultanément, le domaine de la génétique de l'infertilité continue à progresser. En effet, depuis l'avènement des techniques de séquençage haut débit, de nouveaux gènes impliqués dans l'infertilité masculine et féminine sont constamment découverts. Ces analyses génétiques jouent désormais un rôle essentiel dans l'exploration des couples confrontés à l'infertilité. Certains gènes ont déjà été identifiés comme étant responsables d'échecs de fécondation. Par exemple, le gène *CatSper*, un canal ionique spécifique aux spermatozoïdes qui régule l'entrée des ions calcium, intervient dans presque toutes les étapes permettant aux spermatozoïdes d'acquérir leurs capacités fécondantes. Des mutations ou délétions dans le gène *CatSper* peuvent entraîner une infertilité par échec de fécondation (105,106). De plus, des mutations dans les gènes *PLCZ1*, *WEE2* et *TUBB8* peuvent également être à l'origine de ce

type d'infertilité puisqu'ils interviennent respectivement dans l'activation ovocytaire, la régulation de la méiose ovocytaire et l'assemblage du premier fuseau mitotique (107). Ainsi, l'identification de ces mutations génétiques pourrait à l'avenir aider à mieux comprendre les infertilités et orienter les couples vers les techniques d'AMP les plus adaptées.

## Conclusion

Dans ce travail nous n'avons pas montré de supériorité de l'ICSI en termes de blastulation, de grossesses cliniques ou de naissances vivantes dans les infertilités liées au SOPK, à l'endométriose, à l'âge maternel ou à la diminution de la réserve ovarienne. Ces résultats sont en accord avec la littérature, par conséquent la FIV classique demeure indiquée dans ces étiologies et avantageuse sur le plan médico-économique.

Dans l'infertilité idiopathique certains indicateurs de performance étaient statistiquement supérieurs en ICSI notamment le nombre de blastocystes utiles obtenus à J5 et J6 et le taux de transfert. Ceci pourrait suggérer un intérêt de l'ICSI dans cette indication. Au sein même des infertilités idiopathiques certains facteurs pourraient entraîner une disparité des résultats, tel que le caractère primaire ou secondaire de l'infertilité. D'autres facteurs pourraient exister et influencer la supériorité ou non de l'ICSI dans cette indication.

Les tentatives demi-FIV demi-ICSI sont un modèle intéressant pour comparer les performances de la FIV et de l'ICSI en s'affranchissant des biais liés à la population. Il y a donc un intérêt à poursuivre ces tentatives demi-FIV demi-ICSI dans les infertilités idiopathiques afin d'inclure un plus grand nombre de couples et ainsi permettre d'identifier de nouveaux facteurs qui permettraient de mieux orienter les couples vers la FIV ou l'ICSI.

VU et approuvé

Strasbourg, le 04 OCT. 2023

Le Doyen de la Faculté de Médecine, Médecine et Sciences de la Santé

Professeur Jean SIBILIA



Strasbourg, le 4/10/2023 <sup>VU</sup>

Le président du jury de thèse

Professeur 



## Annexes

ANNEXE 1 : Cohorte totale (n=719) : indicateurs de performance biologiques et cliniques

	FIV	ICSI	p-value
Nombre total de CCO	4278	4599	
Nombre de ZPN	1934	2423	
Taux de maturité ovo	*	75,26%	
Taux de lyse en ICSI	*	5,66%	
Taux de fécondation /CCO	45,20%	52,69%	p<0,001
Taux de fécondation /MI injectés	*	70,01%	p<0,001
Echec de fécondation	104	7	
Taux d'échec de fécondation	14,46%	0,97%	p<0,001
Taux d'échec de fécondation total	0,70% (5)		
Taux de clivage	93,07%	96,04%	p<0,001
Taux de blastulation totale J5 (/ZPN)	45,24%	40,53%	p<0,01
Taux de blastulation totale J5+J6 (/ZPN)	57,70%	54,07%	p<0,02
Taux de blastulation utile J5 (/ZPN)	29,32%	22,37%	p<0,001
Taux de blastulation utile J5+J6 (/ZPN)	35,32%	28,56%	p<0,001
Taux de TOP blastocyste à J5 (/ZPN)	14,84%	10,48%	p<0,001
Taux de blastulation totale J5 (/CCO)	20,45%	21,35%	NS
Taux de blastulation totale J5+J6 (/CCO)	26,09%	28,48%	p<0,02
Taux de blastulation utile J5 (/CCO)	13,25%	11,79%	p<0,05
Taux de blastulation utile J5+J6 (/CCO)	15,97%	15,05%	NS
Taux de TOP blastocyste à J5 (/CCO)	6,71%	5,52%	p<0,02
Différence nombre de blastocystes utiles (J5+J6)	[683]	[602]	p=0,0139
Tentatives avec TEF	178	250	
Taux de transfert	33,02%	46,90%	p<0,001
Somme d'embryons TEF	179	259	
Somme d'embryons congelés	656	680	
<b>Issues par transfert</b>			
<b>TEF</b>	n = 176	n = 250	
Grossesse clinique	47,16%	41,20%	NS
Naissance vivante	37,50%	32,00%	NS
<b>TEC</b>	n = 121	n = 171	
Grossesse clinique	38,84%	40,35%	NS
Naissance vivante	29,75%	28,07%	NS
<b>TEF+TEC</b>	n = 297	n = 421	
Grossesse clinique	43,77%	40,86%	NS
Naissance vivante	34,34%	30,40%	NS
<b>Issues par tentative (TEF+TEC)</b>			
	n = 717		
Grossesse clinique	18,13%	23,99%	p<0,01
Naissance vivante	14,23%	17,85%	NS (p=0,07)

## ANNEXE 2 : Infertilité idiopathique (n=273) : indicateurs de performance biologiques et cliniques

	FIV	ICSI	p-value
Nombre total de CCO	1735	1881	
Nombre de 2PN	771	1011	
Taux de fécondation normale/CCO	44,44%	53,75%	p<0,001
Taux de fécondation normale/MII injectés	*	71,00%	p<0,001
Echec de fécondation	36	1	
Taux d'échec de fécondation	13,19%	0,37%	p<0,001
<hr/>			
Taux de clivage	97,61%	95,35%	p<0,02
Taux de blastulation totale J5 (/2PN)	48,90%	42,53%	p<0,01
Taux de blastulation totale J5+J6 (/2PN)	62,00%	55,89%	p<0,01
Taux de blastulation utile J5 (/2PN)	29,31%	26,63%	p<0,05
Taux de blastulation utile J5+J6 (/2PN)	35,80%	30,96%	p<0,05
Taux de TOP blastocyste à J5 (/2PN)	14,92%	12,46%	NS
<hr/>			
Taux de blastulation totale J5 (/CCO)	21,73%	22,86%	NS
Taux de blastulation totale J5+J6 (/CCO)	27,55%	30,04%	NS (p=0,06)
Taux de blastulation utile J5 (/CCO)	13,03%	13,24%	NS
Taux de blastulation utile J5+J6 (/CCO)	15,91%	16,64%	NS
Taux de TOP blastocyste à J5 (/CCO)	6,63%	6,70%	NS
<hr/>			
Différence nombre de blastocystes utiles (J5+J6)	[276]	[313]	p=0,0283
<hr/>			
Tentatives avec TEF	61	89	
Taux de transfert	30,65%	44,72%	p<0,01
Somme d'embryons TEF	61	89	
Somme d'embryons congelés	267	297	
<hr/>			
<b>Issues par transfert</b>			
TEF	n = 61	n = 89	
Grossesse clinique	47,54%	38,20%	NS
Naissance vivante	40,98%	29,21%	NS
TEC	n = 44	n = 73	
Grossesse clinique	47,73%	43,84%	NS
Naissance vivante	40,91%	31,51%	NS
TEF+TEC	n = 105	n = 162	
Grossesse clinique	47,62%	40,74%	NS
Naissance vivante	40,95%	30,25%	NS
<hr/>			
<b>Issues par tentative (TEF+TEC)</b>			
	n = 273		
Grossesse clinique	18,32%	24,18%	NS
Naissance vivante	15,75%	17,95%	NS

## ANNEXE 3 : SOPK (n=108) : indicateurs de performance biologiques et cliniques

	FIV	ICSI	p-value
Nombre total de CCO	753	790	
Nombre de 2PN	365	422	
Taux de fécondation /CCO	48,47%	53,42%	NS
Taux de fécondation /MII injectés	*	70,45%	p<0,001
Echec de fécondation	10	1	
Taux d'échec de fécondation	9,26%	0,93%	p=0,019
<hr/>			
Taux de clivage	92,05%	94,21%	NS
Taux de blastulation totale J5 (/2PN)	44,93%	37,68%	p<0,05
Taux de blastulation totale J5+J6 (/2PN)	54,52%	50,24%	NS
Taux de blastulation utile J5 (/2PN)	30,14%	15,88%	p<0,001
Taux de blastulation utile J5+J6 (/2PN)	34,52%	20,62%	p<0,001
Taux de TOP blastocyste à J5 (/2PN)	17,26%	9,00%	p<0,001
<hr/>			
Taux de blastulation totale J5 (/CCO)	21,78%	20,13%	NS
Taux de blastulation totale J5+J6 (/CCO)	26,43%	26,84%	NS
Taux de blastulation utile J5 (/CCO)	14,61%	8,48%	p<0,001
Taux de blastulation utile J5+J6 (/CCO)	16,73%	11,01%	p<0,01
Taux de TOP blastocyste à J5 (/CCO)	8,37%	4,81%	p<0,01
<hr/>			
Différence nombre de blastocystes utiles (J5+J6)	[126]	[67]	NS
<hr/>			
Tentatives avec TEF	29	23	
Taux de transfert	43,28%	34,33%	NS
Somme d'embryons TEF	30	26	
Somme d'embryons congelés	117	96	
<hr/>			
<b>Issues par transfert</b>			
<u>TEF</u>	n = 29	n = 23	
Grossesse clinique	51,72%	65,22%	NS
Naissance vivante	41,38%	60,87%	NS
<u>TEC</u>	n = 17	n = 25	
Grossesse clinique	47,06%	44,00%	NS
Naissance vivante	41,18%	28,00%	NS
<u>TEF+TEC</u>	n = 46	n = 48	
Grossesse clinique	50,00%	54,17%	NS
Naissance vivante	41,30%	43,75%	NS
<hr/>			
<b>Issues par tentative (TEF+TEC)</b>			
	n = 107		
Grossesse clinique	21,50%	24,30%	NS
Naissance vivante	17,76%	19,63%	NS

## ANNEXE 4 : Endométriose (n=79) : indicateurs de performance biologiques et cliniques

	FIV	ICSI	p-value
Nombre total de CCO	427	460	
Nombre de 2PN	215	233	
Taux de fécondation normale/CCO	50,35%	50,65%	NS
Taux de fécondation normale/MII injectés	*	93,95%	p<0,001
Echec de fécondation	10	0	
Taux d'échec de fécondation	12,66%	0,00%	p=0,001
<hr/>			
Taux de clivage	95,35%	97,42%	NS
Taux de blastulation totale J5 (/2PN)	46,05%	44,21%	NS
Taux de blastulation totale J5+J6 (/2PN)	58,14%	60,52%	NS
Taux de blastulation utile J5 (/2PN)	33,02%	21,46%	p<0,01
Taux de blastulation utile J5+J6 (/2PN)	40,00%	27,90%	p<0,01
Taux de TOP blastocyste à J5 (/2PN)	18,14%	9,44%	p<0,01
<hr/>			
Taux de blastulation totale J5 (/CCO)	23,19%	22,39%	NS
Taux de blastulation totale J5+J6 (/CCO)	29,27%	30,65%	NS
Taux de blastulation utile J5 (/CCO)	16,63%	10,87%	p<0,02
Taux de blastulation utile J5+J6 (/CCO)	20,14%	14,13%	p<0,02
Taux de TOP blastocyste à J5 (/CCO)	9,13%	4,78%	p<0,02
<hr/>			
Différence nombre de blastocystes utiles (J5+J6)	[86]	[65]	NS
<hr/>			
Tentatives avec TEF	22	24	
Taux de transfert	38,60%	42,11%	NS
Somme d'embryons TEF	22	25	
Somme d'embryons congelés	89	74	
<hr/>			
<b>Issues par transfert</b>			
<b>TEF</b>	n = 22	n = 24	
Grossesse clinique	40,91%	58,33%	NS
Naissance vivante	40,91%	45,83%	NS
<b>TEC</b>	n = 15	n = 20	
Grossesse clinique	33,33%	15,00%	NS
Naissance vivante	26,67%	15,00%	NS
<b>TEF+TEC</b>	n = 37	n = 44	
Grossesse clinique	37,84%	36,36%	NS
Naissance vivante	35,14%	31,82%	NS
<hr/>			
<b>Issues par tentative (TEF+TEC)</b>			
	n = 79		
Grossesse clinique	17,72%	20,25%	NS
Naissance vivante	16,46%	17,72%	NS

ANNEXE 5 : Age maternel  $\geq 37$  ans (n=195) : indicateurs de performance biologiques et cliniques

	FIV	ICSI	p-value
Nombre total de CCO	1066	1137	
Nombre de ZPN	493	577	
Taux de fécondation normale/CCO	46,25%	50,75%	p<0,05
Taux de fécondation normale/MII injectés	*	68,20%	p<0,001
Echec de fécondation	29	2	
Taux d'échec de fécondation	14,87%	1,03%	p<0,001
Taux de clivage	93,51%	96,36%	p<0,05
Taux de blastulation totale J5 (/ZPN)	41,58%	35,70%	p<0,05
Taux de blastulation totale J5+J6 (/ZPN)	53,55%	47,66%	NS
Taux de blastulation utile J5 (/ZPN)	27,79%	19,41%	p<0,01
Taux de blastulation utile J5+J6 (/ZPN)	32,86%	24,96%	p<0,01
Taux de TOP blastocyste à J5 (/ZPN)	12,17%	6,41%	p<0,01
Taux de blastulation totale J5 (/CCO)	10,23%	18,12%	NS
Taux de blastulation totale J5+J6 (/CCO)	24,77%	24,19%	NS
Taux de blastulation utile J5 (/CCO)	12,85%	9,85%	p<0,05
Taux de blastulation utile J5+J6 (/CCO)	15,20%	12,66%	NS
Taux de TOP blastocyste à J5 (/CCO)	5,63%	3,25%	p<0,01
Différence nombre de blastocystes utiles (J5+J6)	[162]	[144]	NS
Tentatives avec TEF	49	79	
Taux de transfert	31,82%	51,30%	p<0,001
Somme d'embryons TEF	52	88	
Somme d'embryons congelés	152	137	
<b>Issues par transfert</b>			
TEF	n = 49	n = 79	
Grossesse clinique	40,82%	30,38%	NS
Naissance vivante	28,57%	20,25%	NS
TEC	n = 38	n = 44	
Grossesse clinique	31,58%	36,36%	NS
Naissance vivante	21,05%	27,27%	NS
TEF+TEC	n = 87	n = 123	
Grossesse clinique	36,78%	32,52%	NS
Naissance vivante	25,29%	22,76%	NS
<b>Issues par tentative (TEF+TEC)</b>			
	n = 193		
Grossesse clinique	16,58%	20,73%	NS
Naissance vivante	11,40%	14,51%	NS

## ANNEXE 6 : RO diminuée (n=89) : indicateurs de performance biologiques et cliniques

	FIV	ICSI	p-value
Nombre total de CCO	352	392	
Nombre de 2PN	161	190	
Taux de fécondation normale/CCO	45,74%	48,47%	NS
Taux de fécondation normale/MII injectés *		65,07%	p<0,001
Echec de fécondation	16	3	
Taux d'échec de fécondation	17,98%	3,37%	p=0,003
<hr/>			
Taux de clivage	93,17%	95,79%	NS
Taux de blastulation totale J5 (/2PN)	32,82%	35,79%	NS
Taux de blastulation totale J5+J6 (/2PN)	44,72%	55,26%	p<0,05
Taux de blastulation utile J5 (/2PN)	21,12%	16,84%	NS
Taux de blastulation utile J5+J6 (/2PN)	27,95%	27,37%	NS
Taux de TOP blastocyste à J5 (/2PN)	8,07%	7,89%	NS
<hr/>			
Taux de blastulation totale J5 (/CCO)	15,06%	17,35%	NS
Taux de blastulation totale J5+J6 (/CCO)	20,45%	26,79%	p<0,05
Taux de blastulation utile J5 (/CCO)	9,66%	8,16%	NS
Taux de blastulation utile J5+J6 (/CCO)	12,78%	13,27%	NS
Taux de TOP blastocyste à J5 (/CCO)	3,69%	3,83%	NS
<hr/>			
Différence nombre de blastocystes utiles (J5+J6)	[45]	[52]	NS
<hr/>			
Tentatives avec TEF	30	28	
Taux de transfert	40,00%	37,33%	NS
Somme d'embryons TEF	32	29	
Somme d'embryons congelés	40	44	
<hr/>			
<b>Issues par transfert</b>			
TEF	n = 30	n = 28	
Grossesse clinique	47,54%	38,20%	NS
Naissance vivante	40,98%	29,21%	NS
TEC	n = 10	n = 13	
Grossesse clinique	47,73%	43,84%	NS
Naissance vivante	40,91%	31,51%	NS
TEF+TEC	n = 40	n = 41	
Grossesse clinique	47,52%	40,74%	NS
Naissance vivante	40,95%	30,25%	NS
<hr/>			
<b>Issues par tentative (TEF+TEC)</b>			
	n = 111		
Grossesse clinique	18,32%	24,18%	NS
Naissance vivante	15,75%	17,95%	NS

ANNEXE 7 : Infertilité idiopathique (n=273) : indicateurs de performance biologiques et cliniques, infertilité primaire et secondaire

	Infertilité primaire (n = 225)		Infertilité secondaire (n = 48)	
	FIV	ICSI	FIV	ICSI
Nombre total de CCO	1397	1515	336	366
Nombre de ZPN	629	831	142	180
Taux de fécondation normale/CCO	45,03%	54,85%	42,01%	49,18%
Taux de fécondation normale/MII injectés	* 71,82%		* 67,42%	
Echec de fécondation	10	0	6	1
Taux d'échec de fécondation	13,33%	0,00%	12,50%	2,08%
				NS
Taux de clivage	92,53%	94,95%	92,96%	97,22%
Taux de blastulation utile J5+J6 (/ZPN)	33,39%	30,69%	46,48%	32,22%
Taux de blastulation utile J5+J6 (/CCO)	15,03%	16,83%	19,53%	15,85%
				NS
Différence nombre de blastocystes utiles (J5+J6)	[210]	[155]	[66]	[58]
				NS
Tentatives avec TEF	50	70	11	19
Taux de transfert	25,13%	35,18%	31,43%	54,29%
Somme d'embryons TEF	50	70	11	19
Somme d'embryons congelés	201	245	66	51
				NS
Issues par transfert (TEF+TEC)	n = 83	n = 133	n = 22	n = 39
Grossesse clinique	46,99%	37,59%	50,00%	55,17%
Naissance vivante	39,76%	29,32%	45,45%	34,48%
Issues par tentative (TEF+TEC)	n = 225	n = 48		
Grossesse clinique	17,33%	22,22%	22,97%	33,33%
Naissance vivante	14,67%	17,33%	20,83%	20,83%

## Bibliographie

1. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, Racowsky C, de Mouzon J, Sokol R, et al. The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017. *Hum Reprod.* sept 2017;32(9):1786- 801.
2. Hummel WP, Kettel LM. Assisted reproductive technology: the state of the ART. *Ann Med.* juin 1997;29(3):207-14.
3. Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet.* 4 juill 1992;340(8810):17-8.
4. Cutting E, Horta F, Dang V, van Rumste MM, Mol BWJ. Intracytoplasmic sperm injection versus conventional in vitro fertilisation in couples with males presenting with normal total sperm count and motility. *Cochrane Database Syst Rev.* 15 août 2023;8(8):CD001301.
5. Abbas AM, Hussein RS, Elsenity MA, Samaha II, El Etriby KA, Abd El-Ghany MF, et al. Higher clinical pregnancy rate with in-vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection in treatment of non-male factor infertility: Systematic review and meta-analysis. *J Gynecol Obstet Hum Reprod.* juin 2020;49(6):101706.
6. Practice Committees of the American Society for Reproductive Medicine and the Society for Assisted Reproductive Technology. Electronic address: [asrm@asrm.org](mailto:asrm@asrm.org). Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) for non-male factor indications: a committee opinion. *Fertil Steril.* août 2020;114(2):239-45.
7. Poncelet C, Sifer C. Spermatogenèse - Cellules souches testiculaires - Reprotoxicité. In: *Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain.* Springer; 2011. p. 35-52.
8. Bommas, Teubner, Voss. Organes génitaux de l'homme. In: *Cours d'anatomie.* De Boeck. 2008.
9. Luaces JP, Toro-Urrego N, Otero-Losada M, Capani F. What do we know about blood-testis barrier? current understanding of its structure and physiology. *Front Cell Dev Biol.* 2023;11:1114769.
10. Md G. The central role of Sertoli cells in spermatogenesis. *Seminars in cell & developmental biology* [Internet]. août 1998 [cité 7 août 2023];9(4). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9813187/>
11. Prince FP. The triphasic nature of Leydig cell development in humans, and comments on nomenclature. *J Endocrinol.* févr 2001;168(2):213-6.
12. Heller CH, Clermont Y. KINETICS OF THE GERMINAL EPITHELIUM IN MAN. *Recent Prog Horm Res.* 1964;20:545-75.
13. Amann RP. The cycle of the seminiferous epithelium in humans: a need to revisit? *J Androl.* 2008;29(5):469-87.
14. Ehmcke J, Wistuba J, Schlatt S. Spermatogonial stem cells: questions, models and perspectives. *Hum Reprod Update.* 2006;12(3):275-82.
15. Matsumoto AM, Bremner WJ. Endocrine control of human spermatogenesis. *J Steroid Biochem.* oct 1989;33(4B):789-90.



16. De Toni L, Finocchi F, Jawich K, Ferlin A. Global warming and testis function: A challenging crosstalk in an equally challenging environmental scenario. *Front Cell Dev Biol.* 2022;10:1104326.
17. Fléchon JE. The acrosome of eutherian mammals. *Cell Tissue Res.* janv 2016;363(1):147-57.
18. Kumar N, Singh AK. The anatomy, movement, and functions of human sperm tail: an evolving mystery. *Biol Reprod.* 11 mars 2021;104(3):508-20.
19. Samanta L, Parida R, Dias TR, Agarwal A. The enigmatic seminal plasma: a proteomics insight from ejaculation to fertilization. *Reprod Biol Endocrinol.* 28 avr 2018;16(1):41.
20. De Jonge C. Biological basis for human capacitation-revisited. *Hum Reprod Update.* 1 mai 2017;23(3):289-99.
21. Silva EG, Kim G, Bakkar R, Bozdog Z, Shaye-Brown A, Loghavi S, et al. Histology of the normal ovary in premenopausal patients. *Ann Diagn Pathol.* juin 2020;46:151475.
22. Gershon E, Dekel N. Newly Identified Regulators of Ovarian Folliculogenesis and Ovulation. *Int J Mol Sci.* 26 juin 2020;21(12):4565.
23. Ginsburg M, Snow MHL, McLaren A. Primordial germ cells in the mouse embryo during gastrulation. *Development.* 1 oct 1990;110(2):521-8.
24. Baker TG, Franchi LL. The fine structure of oogonia and oocytes in human ovaries. *Journal of Cell Science.* 1 juin 1967;2(2):213-24.
25. Park SU, Walsh L, Berkowitz KM. Mechanisms of ovarian aging. *Reproduction.* 14 juill 2021;162(2):R19-33.
26. Collado-Fernandez E, Picton HM, Dumollard R. Metabolism throughout follicle and oocyte development in mammals. *The International Journal of Developmental Biology.* 6 févr 2013;56(10-11-12):799-808.
27. Litscher ES, Wassarman PM. Zona Pellucida Proteins, Fibrils, and Matrix. *Annual Review of Biochemistry.* 2020;89(1):695-715.
28. Mcgee EA, Hsueh AJW. Initial and Cyclic Recruitment of Ovarian Follicles. 2000;21(2).
29. Pan B, Li J. The art of oocyte meiotic arrest regulation. *Reprod Biol Endocrinol.* 5 janv 2019;17:8.
30. McLaughlin EA, McIver SC. Awakening the oocyte: controlling primordial follicle development. *Reproduction.* 1 janv 2009;137(1):1-11.
31. Cedars MI. Evaluation of Female Fertility—AMH and Ovarian Reserve Testing. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 17 mai 2022;107(6):1510-9.
32. Chakrabarti S. Ovarian reserve analysis in subfertile women based on physical, ultrasound and hormonal parameters. *Gynecological Endocrinology.* 14 déc 2023;39(1):2214616.
33. di Clemente N, Racine C, Pierre A, Taieb J. Anti-Müllerian Hormone in Female Reproduction. *Endocr Rev.* 16 nov 2021;42(6):753-82.
34. Okabe M. Sperm-egg interaction and fertilization: past, present, and future. *Biol Reprod.* 1 juill 2018;99(1):134-46.

35. Gómez-Torres MJ, Sáez-Espinosa P, Manzano-Santiago P, Robles-Gómez L, Huerta-Retamal N, Aizpurua J. Sperm Adhesion Molecule 1 (SPAM1) Distribution in Selected Human Sperm by Hyaluronic Acid Test. *Biomedicines*. 13 oct 2022;10(10):2553.
36. Primakoff P, Myles DG. Cell-cell membrane fusion during mammalian fertilization. *FEBS Lett*. 22 mai 2007;581(11):2174-80.
37. Inoue N. Novel insights into the molecular mechanism of sperm-egg fusion via IZUMO1. *J Plant Res*. mai 2017;130(3):475-8.
38. MacLennan M, Crichton JH, Playfoot CJ, Adams IR. Oocyte development, meiosis and aneuploidy. *Semin Cell Dev Biol*. sept 2015;45:68-76.
39. Avidor-Reiss T, Carr A, Fishman EL. The sperm centrioles. *Mol Cell Endocrinol*. 1 déc 2020;518:110987.
40. Niakan KK, Han J, Pedersen RA, Simon C, Pera RAR. Human pre-implantation embryo development. *Development*. mars 2012;139(5):829-41.
41. Boyer P, Mercier G, Boyer M. Morphologie de l'embryon humain : évaluation et corrélation à son potentiel de développement. In: *Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain*. Springer; 2011. p. 491-505.
42. Ezzati M, Djahanbakhch O, Arian S, Carr BR. Tubal transport of gametes and embryos: a review of physiology and pathophysiology. *J Assist Reprod Genet*. oct 2014;31(10):1337-47.
43. Ojosnegros S, Seriola A, Godeau AL, Veiga A. Embryo implantation in the laboratory: an update on current techniques. *Hum Reprod Update*. 21 avr 2021;27(3):501-30.
44. Léridon H. La fécondabilité. In: *Aspects biométriques de la fécondité humaine*. 1973. p. 25-38.
45. Insee. Taux de fécondité / Quotient de fécondité [Internet]. 2021 [cité 15 août 2023]. Disponible sur: <https://www.insee.fr/fr/metadonnees/definition/c1872>
46. Eurostat. Taux de fécondité par âge [Internet]. 2023 [cité 15 août 2023]. Disponible sur: [https://ec.europa.eu/eurostat/databrowser/view/demo\\_frate/default/table?lang=fr](https://ec.europa.eu/eurostat/databrowser/view/demo_frate/default/table?lang=fr)
47. World Health Organization. *Current Practices and Controversies in Assisted Reproduction*. Geneva, Switzerland; 2021 21/09.
48. Hamamah S, Berlioux S. Rapport sur les causes d'infertilité : Vers une stratégie nationale de lutte contre l'infertilité. 2022 févr.
49. Agence de la biomédecine. *Assistance médicale à la procréation - Principaux chiffres de l'activité*. 2021.
50. Ben Messaoud K, Bouyer J, de La Rochebrochard E. Infertility Treatment in France, 2008–2017: A Challenge of Growing Treatment Needs at Older Ages. *Am J Public Health*. sept 2020;110(9):1418-20.
51. European Society for Human Reproduction and Embryology (ESHRE) Guideline Group on POI, Webber L, Davies M, Anderson R, Bartlett J, Braat D, et al. ESHRE Guideline: management of women with premature ovarian insufficiency. *Hum Reprod*. mai 2016;31(5):926-37.

52. Joham AE, Norman RJ, Stener-Victorin E, Legro RS, Franks S, Moran LJ, et al. Polycystic ovary syndrome. *Lancet Diabetes Endocrinol.* sept 2022;10(9):668-80.
53. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod.* janv 2004;19(1):41-7.
54. Becker CM, Bokor A, Heikinheimo O, Horne A, Jansen F, Kiesel L, et al. ESHRE guideline: endometriosis. *Hum Reprod Open.* 2022;2022(2):hoac009.
55. World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, Sixth Edition. 2021.
56. Krausz C, Riera-Escamilla A. Genetics of male infertility. *Nat Rev Urol.* juin 2018;15(6):369-84.
57. Vander Borgh M, Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clin Biochem.* déc 2018;62:2-10.
58. Carson SA, Kallen AN. Diagnosis and Management of Infertility: A Review. *JAMA.* 6 juill 2021;326(1):65-76.
59. de Angelis C, Nardone A, Garifalos F, Pivonello C, Sansone A, Conforti A, et al. Smoke, alcohol and drug addiction and female fertility. *Reprod Biol Endocrinol.* 12 mars 2020;18(1):21.
60. Sansone A, Di Dato C, de Angelis C, Menafra D, Pozza C, Pivonello R, et al. Smoke, alcohol and drug addiction and male fertility. *Reprod Biol Endocrinol.* 15 janv 2018;16(1):3.
61. Gaskins AJ, Chavarro JE. Diet and fertility: a review. *Am J Obstet Gynecol.* avr 2018;218(4):379-89.
62. Best D, Bhattacharya S. Obesity and fertility. *Horm Mol Biol Clin Investig.* oct 2015;24(1):5-10.
63. Belladelli F, Basran S, Eisenberg ML. Male Fertility and Physical Exercise. *World J Mens Health.* juill 2023;41(3):482-8.
64. Palomba S, Daolio J, Romeo S, Battaglia FA, Marci R, La Sala GB. Lifestyle and fertility: the influence of stress and quality of life on female fertility. *Reprod Biol Endocrinol.* 2 déc 2018;16(1):113.
65. Ilacqua A, Izzo G, Emerenziani GP, Baldari C, Aversa A. Lifestyle and fertility: the influence of stress and quality of life on male fertility. *Reprod Biol Endocrinol.* 26 nov 2018;16(1):115.
66. Sengupta P, Borges E, Dutta S, Krajewska-Kulak E. Decline in sperm count in European men during the past 50 years. *Hum Exp Toxicol.* mars 2018;37(3):247-55.
67. Cannarella R, Gül M, Rambhatla A, Agarwal A. Temporal decline of sperm concentration: role of endocrine disruptors. *Endocrine.* janv 2023;79(1):1-16.
68. Stukenborg JB, Mitchell RT, Söder O. Endocrine disruptors and the male reproductive system. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* sept 2021;35(5):101567.
69. Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E, Main KM. Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common developmental disorder with environmental aspects. *Hum Reprod.* mai 2001;16(5):972-8.

70. Insee. Fécondité : Bilan démographique 2022 [Internet]. 2023 [cité 18 août 2023]. Disponible sur: <https://www.insee.fr/fr/statistiques/6688659?sommaire=6686521&q=taux+de+f%C3%A9condit%C3%A9>
71. Seshadri S, Morris G, Serhal P, Saab W. Assisted conception in women of advanced maternal age. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. janv 2021;70:10-20.
72. Guttmacher AF. The Role of Artificial Insemination in the Treatment of Human Sterility. *Bull N Y Acad Med*. août 1943;19(8):573-91.
73. Bavister BD, Edwards RG, Steptoe PC. Identification of the midpiece and tail of the spermatozoon during fertilization of human eggs in vitro. *J Reprod Fertil*. oct 1969;20(1):159-60.
74. Bavister BD. Early history of in vitro fertilization. *Reproduction*. août 2002;124(2):181-96.
75. Steptoe PC, Edwards RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet*. 12 août 1978;2(8085):366.
76. Metka M, Haromy T, Huber J. [Micromanipulatory sperm injection--a new method in the treatment of infertile males]. *Wien Med Wochenschr*. 15 févr 1985;135(3):55-9.
77. Lanzendorf SE, Maloney MK, Veeck LL, Slusser J, Hodgen GD, Rosenwaks Z. A preclinical evaluation of pronuclear formation by microinjection of human spermatozoa into human oocytes. *Fertil Steril*. mai 1988;49(5):835-42.
78. Ahmadi H, Aghebati-Maleki L, Rashidiani S, Csabai T, Nnaemeka OB, Szekeres-Bartho J. Long-Term Effects of ART on the Health of the Offspring. *Int J Mol Sci*. 1 sept 2023;24(17):13564.
79. Fishel S, Lisi F, Rinaldi L, Lisi R, Timson J, Green S, et al. Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) versus high insemination concentration (HIC) for human conception in vitro. *Reprod Fertil Dev*. 1995;7(2):169-74; discussion 174-175.
80. Plachot M, Belaisch-Allart J, Mayenga JM, Chouraqui A, Tesquier L, Serkine AM. Outcome of conventional IVF and ICSI on sibling oocytes in mild male factor infertility. *Hum Reprod*. févr 2002;17(2):362-9.
81. Hershlag A, Paine T, Kvapil G, Feng H, Napolitano B. In vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection split: an insemination method to prevent fertilization failure. *Fertil Steril*. févr 2002;77(2):229-32.
82. Wyns C, De Geyter C, Calhaz-Jorge C, Kupka MS, Motrenko T, Smeenk J, et al. ART in Europe, 2018: results generated from European registries by ESHRE†. *Hum Reprod Open*. 5 juill 2022;2022(3):hoac022.
83. Hajiyavand AM, Saadat M, Abena A, Sadak F, Sun X. Effect of Injection Speed on Oocyte Deformation in ICSI. *Micromachines (Basel)*. 29 mars 2019;10(4):226.
84. ESHRE Special Interest Group of Embryology, Alpha Scientists in Reproductive Medicine. The Vienna consensus: report of an expert meeting on the development of art laboratory performance indicators†‡. *Human Reproduction Open*. 4 août 2017;2017(2):hox011.
85. Nomenclature des actes de biologie médicale. Report No.: version 87.

86. Arrêté du 26 janvier 2023 portant approbation de l'avenant n° 11 à la convention nationale organisant les rapports entre les directeurs de laboratoires privés d'analyses médicales et l'assurance maladie. Sect. Texte n°53 janv 31, 2023 p. Article 1.
87. Luke B, Brown MB, Wantman E, Forestieri NE, Browne ML, Fisher SC, et al. The risk of birth defects with conception by ART. *Hum Reprod.* 1 janv 2021;36(1):116-29.
88. Kissin DM, Zhang Y, Boulet SL, Fountain C, Bearman P, Schieve L, et al. Association of assisted reproductive technology (ART) treatment and parental infertility diagnosis with autism in ART-conceived children. *Hum Reprod.* févr 2015;30(2):454-65.
89. Spaan M, Pontesilli M, van den Belt-Dusebout AW, Burger CW, van den Heuvel-Eibrink MM, Ravelli ACJ, et al. Cancer risk in children, adolescents, and young adults conceived by ART in 1983-2011. *Hum Reprod Open.* 2023;2023(3):hoad027.
90. Rumbold AR, Sevoyan A, Oswald TK, Fernandez RC, Davies MJ, Moore VM. Impact of male factor infertility on offspring health and development. *Fertil Steril.* juin 2019;111(6):1047-53.
91. Berntsen S, Söderström-Anttila V, Wennerholm UB, Laivuori H, Loft A, Oldereid NB, et al. The health of children conceived by ART: « the chicken or the egg? » *Hum Reprod Update.* 1 mars 2019;25(2):137-58.
92. Rubino P, Viganò P, Luddi A, Piomboni P. The ICSI procedure from past to future: a systematic review of the more controversial aspects. *Hum Reprod Update.* 2016;22(2):194-227.
93. Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Hum Reprod.* juin 2011;26(6):1270-83.
94. Gardner DK, Schoolcraft WB. Culture and transfer of human blastocysts. *Curr Opin Obstet Gynecol.* juin 1999;11(3):307-11.
95. ESHRE Clinic PI Working Group, Vlaisavljevic V, Apter S, Capalbo A, D'Angelo A, Gianaroli L, et al. The Maribor consensus: report of an expert meeting on the development of performance indicators for clinical practice in ART. *Human Reproduction Open.* 29 juin 2021;2021(3):hoab022.
96. Alviggi C, Andersen CY, Buehler K, Conforti A, De Placido G, Esteves SC, et al. A new more detailed stratification of low responders to ovarian stimulation: from a poor ovarian response to a low prognosis concept. *Fertility and Sterility.* juin 2016;105(6):1452-3.
97. Chamayou S, Ragolia C, Alecci C, Storaci G, Romano S, Sapienza R, et al. More blastocysts are produced from fewer oocytes in ICSI compared to IVF - results from a sibling oocytes study and definition of a new key performance indicator. *Reprod Biol Endocrinol.* 26 juill 2021;19(1):116.
98. Speyer B, O'Neill H, Saab W, Seshadri S, Cawood S, Heath C, et al. In assisted reproduction by IVF or ICSI, the rate at which embryos develop to the blastocyst stage is influenced by the fertilization method used: a split IVF/ICSI study. *J Assist Reprod Genet.* avr 2019;36(4):647-54.
99. Haas J, Miller TE, Nahum R, Aizer A, Kirshenbaum M, Zilberberg E, et al. The role of ICSI vs. conventional IVF for patients with advanced maternal age-a randomized controlled trial. *J Assist Reprod Genet.* janv 2021;38(1):95-100.

100. van der Westerlaken L, Helmerhorst F, Dieben S, Naaktgeboren N. Intracytoplasmic sperm injection as a treatment for unexplained total fertilization failure or low fertilization after conventional in vitro fertilization. *Fertil Steril.* mars 2005;83(3):612-7.
101. Bungum L, Bungum M, Humaidan P, Andersen CY. A strategy for treatment of couples with unexplained infertility who failed to conceive after intrauterine insemination. *Reprod Biomed Online.* mai 2004;8(5):584-9.
102. Sauerbrun-Cutler MT, Huber WJ, Has P, Shen C, Hackett R, Alvero R, et al. Is intracytoplasmic sperm (ICSI) better than traditional in vitro fertilization (IVF): confirmation of higher blastocyst rates per oocyte using a split insemination design. *J Assist Reprod Genet.* juill 2020;37(7):1661-7.
103. Yovich JL, Conceicao JL, Marjanovich N, Ye Y, Hinchliffe PM, Dhaliwal SS, et al. An ICSI rate of 90% minimizes complete failed fertilization and provides satisfactory implantation rates without elevating fetal abnormalities. *Reprod Biol.* sept 2018;18(3):301-11.
104. Jiang L, Qian Y, Chen X, Ji X, Ou S, Li R, et al. Effect of early rescue ICSI and split IVF-ICSI in preventing low fertilization rate during the first ART cycle: A real-world retrospective cohort study. *Reprod Med Biol.* janv 2022;21(1):e12420.
105. Singh AP, Rajender S. CatSper channel, sperm function and male fertility. *Reprod Biomed Online.* janv 2015;30(1):28-38.
106. Ke S, Luo T. The Chemosensing Role of CatSper in Mammalian Sperm: An Updated Review. *Curr Issues Mol Biol.* 23 août 2023;45(9):6995-7010.
107. Xue Y, Cheng X, Xiong Y, Li K. Gene mutations associated with fertilization failure after in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022;13:1086883.

## DÉCLARATION SUR L'HONNEUR



Document avec signature originale devant être joint :

- à votre mémoire de D.E.S.
- à votre dossier de demande de soutenance de thèse

Nom : Geisler Prénom : Louis

Ayant été informé(e) qu'en m'appropriant tout ou partie d'une œuvre pour l'intégrer dans mon propre mémoire de spécialité ou dans mon mémoire de thèse de docteur en médecine, je me rendrais coupable d'un délit de contrefaçon au sens de l'article L335-1 et suivants du code de la propriété intellectuelle et que ce délit était constitutif d'une fraude pouvant donner lieu à des poursuites pénales conformément à la loi du 23 décembre 1901 dite de répression des fraudes dans les examens et concours publics.

Ayant été avisé(e) que le président de l'université sera informé de cette tentative de fraude ou de plagiat, afin qu'il saisisse la juridiction disciplinaire compétente.

Ayant été informé(e), qu'en cas de plagiat, la soutenance du mémoire de spécialité et/ou de la thèse de médecine sera alors automatiquement annulée, dans l'attente de la décision que prendra la juridiction disciplinaire de l'université.

J'atteste sur l'honneur

Ne pas avoir reproduit dans mes documents tout ou partie d'œuvre(s) déjà existante(s), à l'exception de quelques brèves citations dans le texte, mises entre guillemets et référencées dans la bibliographie de mon mémoire.

**A écrire à la main :** « J'atteste sur l'honneur avoir connaissance des suites disciplinaires ou pénales que j'encours en cas de déclaration erronée ou incomplète ».

*J'atteste sur l'honneur avoir connaissance des suites disciplinaires ou pénales que j'encours en cas de déclaration erronée ou incomplète.*

Signature originale :

À Strasbourg, le 06/09/2023

**Photocopie de cette déclaration devant être annexée en dernière page de votre mémoire de D.E.S. ou de Thèse.**

---

RESUME : Introduction : Il existe en Assistance Médicale à la Procréation (AMP) deux techniques de mise en fécondation : la fécondation in vitro classique (FIV) et l'injection intracytoplasmique de spermatozoïde (ICSI). On observe depuis plusieurs années une forte augmentation de l'utilisation de l'ICSI dans des infertilités non masculines. Or, dans ces indications, l'ICSI n'est pas associée à une augmentation du taux de naissances vivantes. La technique demi-FIV demi-ICSI consiste à séparer aléatoirement les complexes cumulo-ovocytaires (CCO) en deux groupes afin d'appliquer les deux techniques de mise en fécondation. L'objectif de ce travail est de déterminer la technique de mise en fécondation optimale dans les infertilités d'origine non masculine à partir d'une analyse exhaustive des tentatives demi-FIV demi-ICSI réalisées au Laboratoire de Biologie de la Reproduction (LBDR) des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg (HUS).

Matériels et méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective réalisée de janvier 2015 à décembre 2022 au LBDR des HUS incluant 719 tentatives demi-FIV demi-ICSI. La comparaison des indicateurs de performance biologiques et cliniques a été réalisée dans plusieurs sous-groupes d'intérêt.

Résultats : Dans les infertilités liées au SOPK, à l'endométriase, à l'âge maternel ou à la diminution de la réserve ovarienne, il n'a pas été montré de supériorité de l'ICSI en termes de blastulation, de grossesses cliniques ou de naissances vivantes. Dans l'infertilité primaire idiopathique nous avons montré une supériorité de l'ICSI concernant certains indicateurs de performance, dont le nombre de blastocystes utiles obtenus à J5 et J6 et le taux de transfert. En revanche, il n'a pas été montré de différence dans les infertilités secondaires idiopathiques mais l'effectif était réduit.

Conclusion : Il n'y a pas d'indication à utiliser l'ICSI dans les infertilités liées au SOPK, à l'endométriase, à l'âge maternel ou à la diminution de la réserve ovarienne. En revanche, au sein des infertilités idiopathiques certains facteurs pourraient entraîner une disparité des résultats, tel que le caractère primaire ou secondaire de l'infertilité. La poursuite des tentatives demi-FIV demi-ICSI dans un plus grand nombre de couples pourrait permettre de mieux identifier ces facteurs.

---

Rubrique de classement : Biologie Médicale

---

Mots-clés : demi-FIV demi-ICSI, FIV, ICSI, infertilité non masculine, AMP, culture embryonnaire

---

Président : Pr Marius TELETIN

Assesseurs : Pr Jean-Marc LESSINGER, Pr Catherine RONGIERES, Dr Cécile GREZE, Dr Jean-Baptiste DURAND

---

Adresse de l'auteur : 21A rue des Chasseurs, 67300 SCHILTIGHEIM