



HAL
open science

Impact de la maturité ovocytaire sur le taux cumulé de naissance vivante en fécondation in vitro par micro-injection (ICSI)

Mélina Druot

► To cite this version:

Mélina Druot. Impact de la maturité ovocytaire sur le taux cumulé de naissance vivante en fécondation in vitro par micro-injection (ICSI). Médecine humaine et pathologie. 2019. <dumas-02151513>

HAL Id: dumas-02151513

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02151513v1>

Submitted on 8 Jun 2019

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

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



HAL Authorization

THESE POUR LE DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

Par

DRUOT Méлина

Née le 30 Avril 1989 à Rouen

Présentée et soutenue publiquement le 5 avril 2019

**IMPACT DE LA MATURITÉ OVOCYTAIRE SUR LE TAUX
CUMULÉ DE NAISSANCE VIVANTE EN FECONDATION IN VITRO
PAR MICRO-INJECTION (ICSI)**

Président de Jury : Monsieur le Professeur Hervé LEFEBVRE

Directeur de Thèse : Madame le Professeur Nathalie RIVES

Membres du Jury : Monsieur le Professeur Eric VERSPYCK

Madame le Docteur Maria LETAILLEUR

Madame le Docteur Isabelle MOTTE

THESE POUR LE DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

Par

DRUOT Méлина

Née le 30 Avril 1989 à Rouen

Présentée et soutenue publiquement le 05 avril 2019

**IMPACT DE LA MATURITÉ OVOCYTAIRE SUR LE TAUX
CUMULÉ DE NAISSANCE VIVANTE EN FECONDATION IN VITRO
PAR MICRO-INJECTION (ICSI)**

Président de Jury : Monsieur le Professeur Hervé LEFEBVRE

Directeur de Thèse : Madame le Professeur Nathalie RIVES

Membres du Jury : Monsieur le Professeur Eric VERSPYCK

Madame le Docteur Maria LETAILLEUR

Madame le Docteur Isabelle MOTTE

Par délibération en date du 3 mars 1967, la faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Hervé LEFEBVRE,

Vous me faites l'honneur de présider ce jury et de juger mon travail. Merci d'être le coordonateur du DES de Gynécologie médicale et de ce que vous réalisez pour les internes. Merci pour votre enseignement d'Endocrinologie, votre gentillesse et votre disponibilité.

A Madame le Professeur Nathalie RIVES,

Vous m'avez fait l'honneur d'accepter de diriger cette thèse. Merci pour votre aide, votre gentillesse, vos conseils et votre disponibilité. J'ai beaucoup apprécié mon semestre dans votre service et je suis très contente de pouvoir continuer à collaborer avec vous au sein du centre d'AMP pendant les deux ans à venir.

A Monsieur le Professeur Eric VERSPYCK,

Vous me faites l'honneur de juger ce travail. Merci pour votre soutien, je suis très heureuse de continuer à travailler pendant deux ans au coeur du service de gynécologie - obstétrique.

A Madame le Docteur Maria LETAILLEUR,

Tu me fais le plaisir et l'honneur de juger ce travail. Je te remercie pour ton aide, ton soutien, ta gentillesse et ton enseignement. C'est avec joie que je vais continuer mon apprentissage en AMP à tes côtés. Et c'est vraiment un bonheur de t'avoir comme chef !

A Madame le Docteur Isabelle MOTTE,

Tu me fais le plaisir et l'honneur de juger ce travail. Je te remercie pour ton accueil dès mon premier jour d'interne en gynécologie, tu as été mon interne référente et je pense que ce sentiment perdurera encore longtemps. Merci pour ta gentillesse, ta bonne humeur, c'est un vrai plaisir d'apprendre à tes côtés. C'est par conséquent, un honneur de devenir ta collègue !

Merci à toute l'équipe d'AMP du CHU de Rouen,

Au Docteur Brigitte CLAVIER pour la transmission de son savoir, au Docteur CHANAVAZ, Dr MOKDAD, Dr RÉAL-LHOMMET, Dr TOULEIMAT.

Aux merveilleuses sages-femmes qui nous encadrent ; Sylvie, Christine, Amandine et Mathieu, merci également pour votre bonne humeur au travail ! Et à la meilleure secrétaire Nathalie !

Merci à toute l'équipe du Laboratoire de Biologie de la Reproduction,

J'ai passé un excellent semestre.

A Fanny, pour ta gentillesse et ton aide précieuse pour réaliser cette thèse.

A France, Clémence, Pierre, Benoit pour votre joie de vivre.

A ma co-interne pendant ce semestre, Aurélie, une équipière en chef !

A l'équipe du laboratoire ; Lydie, Sophie, Elodie, Julie.

Merci à toute l'équipe de gynécologie obstétrique d'EVREUX,

Merci pour ces deux semestres très enrichissants, merci au Dr MACHEVIN pour sa pédagogie et sa gentillesse, au Dr LAROSE pour son enseignement en échographie, au Dr GUILLEMAIN pour sa gentillesse, aux Dr THIRON, Dr DOUYSSSET, Dr ALLOUCHE, Dr JOUTEL, Dr TRABLEISH. Un merci également à toutes les sages-femmes (Laurence, Lucille, Amélie, Louisa, Marie, Tiphaine et les autres), aux formidables infirmières (Isabelle, Annick), aux aides-soignantes (Cécile notamment). Et surtout à mes co-internes, à la team gynéco de mon premier semestre ; Marie, Hélène, Sarah, Elodie, Laura, Marine, Thomas, Florent, merci pour tous ces bons moments.

Merci à l'équipe de gynécologie du CHU de Rouen,

Aux Dr DIGUET, Dr GROMEZ, Dr DIETRICH, Dr HENNETIER, Dr MUSZYNSKI, Dr QUIBEL... A toutes les infirmières des urgences gynécologiques avec qui j'ai passé d'agréables moments (Adeline, Emmanuelle, Amélie, Elodie, Jennifer, Priscilla, Estelle et toutes les autres !) A tous les membres du planning familial pour votre gentillesse.

Merci à toute l'équipe du Belvédère,

Aux Dr PAUTHIER, Dr GUILLON, Dr DUCROTOY, Dr OLLIVIER, Dr MULOT, à toutes les sages femmes, à mes co-internes Estelle, Eulalie et les med gé !

Merci à toute l'équipe d'endocrinologie du CHU de Rouen,

A tous les médecins du service, aux infirmières, à mes co-internes ; Valentina, Julien, Romain, Caroline, Delphine, Alexandre.

Merci à toute l'équipe du Centre Henri Becquerel,

Aux Dr GEORGESCU, Dr DEGOURNAY, Dr FORESTIER, Dr POTEAU, Dr CARRILHO, Dr CROUZET et à leurs formidables secrétaires (petite pensée pour Claire!)

A mes deux co-internes Noémie et Juliette qui ont été géniales, qui ont tout fait pour que ce semestre quelque peu chirurgical soit agréable, notamment en fin de grossesse !

Merci à toute l'équipe d'Elbeuf,

Aux Dr QUEMERE, Dr LEFEBURE, Dr VALLEE, Dr SOULIAC, Dr SY, Dr HARDEMAN, Dr PIA. Merci de m'accueillir au sein de votre équipe.

Merci à tous mes co-internes,

- Les gynécologues médicaux ; les plus anciennes avec qui de belles amitiés sont nées ; Isabelle, Céline, Pauline. Un grand merci à vous trois pour votre accueil et votre gentillesse. Isabelle, merci pour tout, il y a tellement de choses à citer... Céline, merci pour tous les bons moments au labo mais aussi lors de notre formation au DESC d'AMP à Rennes, Dijon, Paris et Lille ! Pauline, merci pour tous les bons moments à Becquerel, pour nos discussions lors de nos covoiturages pour le DU de sexologie ! Mais aussi merci à toutes les plus jeunes qui suivent derrière ; Marine, Emilie, Barbara, Jeanne, Constance, Romane, Claire-Hélène. Vous êtes toutes géniales les filles et je suis très heureuse de vous avoir rencontrées grâce à notre belle discipline !

- Les gynécologues obstétricaux ; Marie Q avec qui j'ai partagé les joies du premier semestre, Lise avec qui j'ai partagé la passion de la PMA et la joie de devenir maman, Mathilde avec qui j'ai partagé les foudres de Brigitte Clavier ^^, Sarah la dormeuse, Eulalie, Estelle, Mahamadou, Marie-Elise, Noémie, Juliette, Marine, Elodie, Hélène, Cécile, Pauline, Emmanuella, Sylvia, et plus récemment les plus jeunes ; Marie O, JB, Anthony.

- Les médecins généralistes ; Elodie, Laura, Marine, Thomas, Florent, Morgane, Jean, Julie, Hélène, Anne, Marie-Ange, Guillaume, Vaitiare et les autres.

Merci à tous mes amis,

A ma meilleure amie, Angélique depuis maintenant 23 ans. Merci pour ton soutien depuis toutes ces années, pour avoir été toujours là notamment dans les moments difficiles des années de médecine, mais surtout pour tous les moments partagés avec toi car ce sont toujours des moments de détente et de bonheur (#palmes#piscine)

A Mélinda, Mickaël, Elise, Alan, Laurène, Alexis, Lulu, Mathieu, Manue, Anne-So, François, Elodie, Samuel, Laura, pour tous nos bons moments partagés qui ont été quelques fois des bouffées d'oxygène dans toutes ces années d'études.

A Julien et Laëtitia, avec qui j'ai partagé tout l'externat. Nos vœux ont fait que l'on ne se voit plus beaucoup mais merci pour votre soutien et votre entre-aide. Je garde d'excellents souvenirs des deux horribles concours grâce à vous !

Merci à ma famille,

A mes parents, sans qui, aujourd'hui je n'en saurais pas là. Merci pour tous vos sacrifices durant ces années d'études, merci pour votre soutien moral, pour votre amour. Je vous aime fort. Merci Maman d'être la meilleure maman du monde (je repense à tous les plats cuisinés en P1 pour que je puisse gagner du temps et manger sainement... !)

A mon petit frère, à qui j'ai fait détester les grandes et longues études !!

A ma cousine Aurore que je considère comme une sœur.

A sa fille, Chloé, ma nièce chérie.

Merci enfin à Pierre, mon compagnon,

Tu es entré dans ma vie dès la fin de ma première année de médecine et aujourd'hui, 10 ans après, tu es toujours présent. Merci d'être là, de m'avoir supporté à chaque étape de ce parcours. Merci pour ton amour, ton soutien pendant toutes ces années. Merci pour tout le bonheur que tu m'apportes, notamment pour la plus belle chose de ma vie, grâce à toi j'ai la joie d'être maman d'une magnifique Manon. Merci infiniment mon cœur, je t'aime.

Merci à ma fille, Manon,

La plus belle chose qui puisse exister. L'innocence d'un bébé, l'amour inconditionnel d'une mère, il n'y a pas plus magique... Merci de m'avoir apporté autant de bonheur au cours de cette année, la thèse ne m'a pas paru aussi horrible que ce que j'imaginai avec toi à mes côtés ! Merci d'avoir été un bébé si agréable pour que Maman puisse travailler !

RESUME

Introduction :

Les ovocytes immatures représentent 10 à 20% minimum du nombre total des ovocytes récupérés à la ponction ovocytaire en ICSI. Seuls les ovocytes matures peuvent être micro-injectés en ICSI et potentiellement évoluer vers un embryon. L'objectif principal de l'étude a été d'évaluer l'impact de la maturité ovocytaire sur le taux cumulé de naissance vivante en ICSI et de déterminer les facteurs prédictifs de la maturité ovocytaire.

Méthodes :

Il s'agit d'une étude rétrospective, monocentrique, menée au sein du centre d'Assistance Médicale à la Procréation (AMP) du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Rouen entre le 1^{er} janvier 2015 et 1^{er} mars 2017, incluant des couples en parcours d'infertilité primaire ou secondaire ayant bénéficié d'une (T1) ou de deux tentatives complètes (T1+T2) d'ICSI incluant aussi les tentatives de transferts d'embryons congelés (TEC) issus de ces tentatives d'ICSI. Au total, 188 couples ont été inclus dans cette étude ayant bénéficié de 356 cycles d'ICSI. Les caractéristiques basales cliniques et biologiques des patientes, les paramètres biologiques et les issues des tentatives d'ICSI, incluant les informations sur la stimulation de l'ovulation ont été recueillies et analysées.

Résultats :

Les 356 cycles d'ICSI ont abouti à 306 cycles de transferts d'embryons frais (TEF) et 50 cycles de transferts d'embryons congelés. Le taux d'ovocytes matures est corrélé positivement au taux cumulé de naissance vivante ($p=0,0063$), au taux de fécondation ($p<0,0001$), au taux de développement embryonnaire ($p=0,0222$), et au taux de congélation ($p=0,0012$). Le taux d'ovocytes matures à la T1 ICSI est corrélé positivement au taux retrouvé lors de la T2 ICSI ($p<0,0001$). La dose totale de gonadotrophine reçue par la patiente au cours de la stimulation ovarienne est un facteur prédictif négatif de maturité ovocytaire ($p=0,0472$). Enfin, notre étude suggère qu'en dessous de 70% d'ovocytes matures, le taux cumulé de naissance vivante diminue fortement.

Conclusion :

La maturité ovocytaire a un impact sur l'ensemble de la cohorte d'ovocytes ponctionnés, et par conséquent, sur les taux de fécondation, de développement embryonnaire, de congélation et sur le taux cumulé de naissance vivante. La dose totale de gonadotrophine reçue par la patiente est un facteur prédictif négatif de la maturité ovocytaire.

Mots clés : ICSI / Maturité ovocytaire/ Taux cumulé de naissance vivante

SOMMAIRE

RESUME	p 16
LISTE DES ABREVIATIONS	p 19
INTRODUCTION	p 21
MATERIELS ET METHODES	p 26
I. Population étudiée	p 26
a) Critères d'inclusion	p 26
b) Critères d'exclusion	p 26
c) Bilan d'infertilité	p 27
II. Stimulation de l'ovulation	p 28
a) Protocole de stimulation.....	p 29
b) Ponction ovocytaire	p 30
III. Déroulement de l'ICSI	p 31
IV. Recueil de données	p 32
V. Analyse statistique	p 35
RESULTATS	p 36
I. Description de la population et des cycles d'ICSI	p 36
II. Impact du taux d'ovocytes matures	p 39
III. Etude des facteurs prédictifs de la maturité ovocytaire	p 44
DISCUSSION	p 46
I. Impact du taux d'ovocytes matures sur les résultats des cycles d'ICSI et le taux cumulé de naissance vivante	p 46
II. Seuil d'ovocyte mature	p 47
III. Facteurs prédictifs de la maturité ovocytaire	p 48
a) Paramètres cliniques féminins	p 48
b) Paramètres de la stimulation ovarienne contrôlée	p 50
1) Dose totale de gonadotrophine	p 50
2) Durée de la stimulation ovarienne contrôlée	p 51
3) Protocole de stimulation ovarienne contrôlée et monitoring échographique ..	p 51
CONCLUSION	p 55

ANNEXES p 56
BIBLIOGRAPHIE p 57

LISTE DES ABREVIATIONS

ARN : Acide Ribonucléique

AMH : Hormone Anti Mullérienne

AMP : Assistance Médicale à la Procréation

CFA : Compte de Follicules Antraux

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

E2 : Oestradiol

FCS : Fausse Couche Spontanée

FIV : Fécondation In Vitro

FSH : Follicle Stimulating Hormone

GEU : Grossesse Extra Utérine

GnRH : Gonadotropin Releasing Hormon

hCG : Human Chorionic Gonadotropin

ICSI : Intra Cytoplasmic Sperm Injection

IMC : Indice de Masse Corporelle

IMG : Interruption Médicale de Grossesse

IO : Insuffisance Ovarienne

IVG : Interruption Volontaire de Grossesse

LH : Luteinising Hormone

MIV : Maturation In Vitro

OI : Ovocytes Immatures

OM : Ovocytes Matures

PN : Pronoyaux

SA : Semaine d'Aménorrhée

SOPK : Syndrome des Ovaires Polymicrokystiques

TEC : Transfert d'Embryon Congelé

TEF : Transfert d'Embryon Frais

THS : Traitement Hormonal Substitutif

T1 : Première Tentative d'ICSI

T2 : Deuxième Tentative d'ICSI

VG : Vésicule Germinative

INTRODUCTION

En France, la prévalence de l'infertilité se situe autour de 15 à 25% des couples en âge de procréer selon les dernières études, avec 1 couple sur 4 à 6 qui est concerné par une infertilité [1].

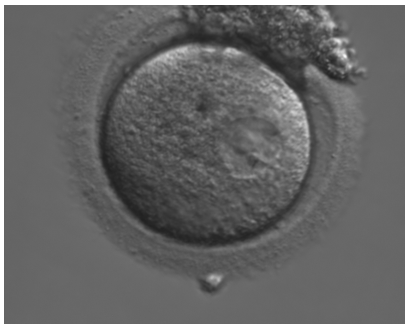
Pour répondre à la demande des couples, l'Assistance Médicale à la Procréation (AMP) ne cesse de se développer, et l'amélioration des résultats en fécondation *in vitro* (FIV) est l'une des préoccupations constantes des professionnels de la reproduction. La FIV a pour but d'assurer la rencontre des gamètes (ovocyte et spermatozoïde) *in vitro*, en dehors du corps de la femme afin d'obtenir des embryons, qui, après remplacement dans l'utérus peuvent mener ou non à une grossesse. La FIV reproduit en laboratoire les différentes étapes de la fécondation naturelle tout en maximisant les chances (recueil de plusieurs ovocytes) et en les optimisant (choix des spermatozoïdes et des embryons) [2]. L'obtention de plusieurs ovocytes est permise par la stimulation ovarienne contrôlée. Cette dernière favorise la sélection et le développement jusqu'à maturation de plusieurs follicules et permet l'obtention de plusieurs ovocytes matures aptes à être fécondés. Il est établi que le taux de grossesse est directement lié au nombre d'ovocytes mis en fécondation et au nombre d'embryons obtenus [3].

Depuis la 1^{ère} FIV française de 1978 jusque dans les années 2000, le critère quantitatif était prédominant dans la gestion des stimulations ovariennes contrôlées. A ce jour, la notion de qualité ovocytaire est privilégiée au critère quantitatif [3]. Au fil du temps, les chercheurs se sont aperçus que la qualité ovocytaire était un élément fondamental pour un développement embryonnaire précoce de qualité [3-4].

Cependant, l'évaluation de la qualité ovocytaire est difficile et subjective, reposant sur l'expertise d'un biologiste [3]. La qualité ovocytaire est définie, le plus souvent, par leur maturité qui conditionne l'aptitude de l'ovocyte à être fécondé et à donner un embryon viable avec un développement satisfaisant [5]. L'un des problèmes majeurs rencontrés par les centres de FIV est d'évaluer la maturité des ovocytes à partir des follicules stimulés [4].

La maturité ovocytaire comporte deux volets ; une maturité nucléaire et une maturité cytoplasmique [4]. La maturité nucléaire correspond à la capacité pour l'ovocyte de reprendre et d'achever la méiose I [6]. Il existe deux divisions méiotiques ; la première division méiotique ou méiose I est réalisée par les ovocytes primaires au cours de la vie foetale où ils restent bloqués au stade de prophase I. A ce stade, le noyau cellulaire est visible sous forme de vésicule germinative (VG) avec un nucléole central (Fig. 1, A) [4]. Ce blocage est maintenu jusqu'à la puberté et ne sera levé qu'au moment de l'ovulation. Tout au long de la vie reproductive de la femme, des cohortes d'ovocytes reprennent leurs méioses à chaque cycle ovarien en l'absence de contraception hormonale ; la membrane nucléaire se rompt faisant disparaître le noyau ou vésicule germinative et les chromosomes progressent de la métaphase I à la télophase I. Le pic de LH permet à l'ovocyte I de reprendre la méiose I et d'atteindre le stade de métaphase I. L'achèvement de la première division méiotique est caractérisé par l'expulsion du premier globule polaire (Fig 1, B) et la formation de l'ovocyte secondaire. La deuxième division méiotique (méiose II) est initiée rapidement après l'achèvement de la méiose I et l'ovocyte se bloque au stade de métaphase II. Une fois expulsé lors de l'ovulation, l'ovocyte est considéré comme mature et apte à être fécondé (Fig 1, C) [4].

A:



B:



C:

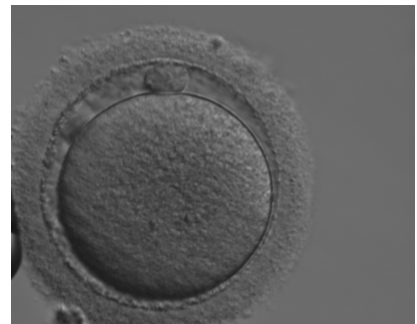


Figure 1 : Ovocyte au stade de vésicule germinative (A), ovocyte en métaphase I (B), ovocyte en métaphase II (C). Images provenant du Laboratoire de Biologie de la Reproduction - CECOS du CHU de Rouen Normandie, avec l'autorisation du Laboratoire.

La maturité cytoplasmique consiste en la synthèse d'un certain nombre de protéines et d'ARN qui sont indispensables au bon déroulement de la fécondation et aux premiers stades du développement embryonnaire [6]. Seule la maturité nucléaire peut être appréciée au microscope optique grâce à la présence du globule polaire, la maturité cytoplasmique ne peut absolument pas être appréciée à ce stade [5]. Par ailleurs, ces observations nécessitent que les ovocytes soient

dénudés des cellules folliculaires, ce qui, dans la pratique de l'AMP, n'est effectué qu'en cas de fécondation *in vitro* avec micro-injection (ICSI) [3]. C'est pourquoi dans ce travail ne seront étudiés que des cycles d'ICSI.

L'ovogenèse est un processus complexe comprenant plusieurs étapes successives et interdépendantes, permettant la constitution d'un stock de follicules primordiaux. Ce stock se constitue en période prénatale pour être maximal au septième mois de vie intra-utérine. A la puberté, la mise en place de l'activité de l'axe hypothalamo-hypophysio-gonadique permet la croissance folliculaire. Cette croissance folliculaire présente deux phases : une phase folliculaire précoce indépendante des gonadotrophines au cours de laquelle le follicule primordial devient un follicule antral et une phase folliculaire tardive dépendante des gonadotrophines au cours de laquelle le follicule antral augmente de taille et devient follicule ovulatoire. Le recrutement folliculaire, induit par la FSH, touche les follicules pré-antraux qui quittent par vagues successives la réserve de follicule en croissance [7]. De plus, le temps nécessaire à un follicule pour passer du stade pré-antral au stade antral est d'environ 70 jours [8]. La stimulation ovarienne contrôlée, introduite pour la FIV, a pour objectif de favoriser le développement simultané de plusieurs follicules cavitaires et d'induire la maturation pré-ovulatoire de plus d'un ovocyte. Cette procédure est imparfaite et il n'est pas rare d'être confronté à une cohorte hétérogène de follicules. Malgré les différents protocoles de stimulation ovarienne qui ont tous pour objectif de synchroniser au mieux cette cohorte avant d'induire la croissance folliculaire, il persiste néanmoins des follicules à différents stades de croissance lors de la stimulation ovarienne. Par conséquent, lors de l'analyse des complexes cumulo-ovocytaires (Fig 2, A) prélevés lors de la ponction ovarienne, les ovocytes peuvent être « matures », c'est-à-dire en métaphase II, « immatures » ou en métaphase I, au stade de vésicule germinative ou « atrétiques », autrement dit dégénératifs (Fig. 2, B). Les différents stades retrouvés résultent de la désynchronisation du développement folliculaire [9]. La proportion de chaque stade de développement est liée à la réponse ovarienne à la stimulation dont la susceptibilité individuelle de chacune des femmes n'est pas complètement comprise. Une ponction d'ovocytes lors d'une FIV ou d'une ICSI contient une cohorte hétérogène d'ovocytes : les uns sont parfaitement matures, d'autres le sont incomplètement (maturité nucléaire et immaturité cytoplasmique), d'autres enfin sont totalement immatures (immaturité nucléaire et cytoplasmique) [5,10].

A:



B:

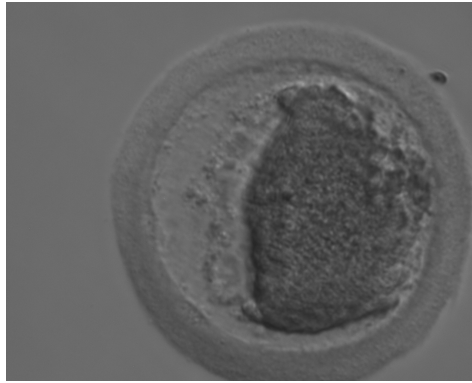


Figure 2 : complexe cumulo-ovocyttaire (A), ovocyte atrétique (B)

Images provenant du laboratoire de Biologie de la Reproduction – CECOS, avec l'autorisation du laboratoire.

Le monitoring de l'ovulation permet d'évaluer très imparfaitement la maturité ovocyttaire ; en principe, la capacité à reprendre la méiose dépend du diamètre folliculaire et de l'espèce. Chez la femme, à partir de données issues de cycles stimulés par les hormones gonadotropes, de nombreuses données ont pu être établies. Ainsi, au-delà d'un diamètre folliculaire de 15 mm, le pourcentage d'ovocytes matures est constant. Le seuil critique se situe entre 12 et 14 mm avec seulement 30% d'ovocytes en métaphase II, et en dessous de 11 mm, on note moins de 10% d'ovocytes en métaphase II [10,11]. De plus, plus le taux d'estradiol par follicule est élevé, plus on a de chance d'avoir des ovocytes matures [11]. La vitesse de croissance du taux d'estradiol ainsi que celle de la taille folliculaire sont deux paramètres importants ; si elle est trop lente ou trop rapide, le nombre d'ovocytes matures sera faible. Cependant, ces données n'apprécient que l'ensemble du lot d'ovocytes et n'apportent aucune information sur les ovocytes de manière individuelle. Ces données sont, en réalité, peu précises par rapport à la complexité du processus de maturation. En effet, les follicules cavitaires recrutés par la stimulation se trouvent au départ à des stades différents de leur évolution et la stimulation n'arrivant qu'imparfaitement à synchroniser ces follicules (et donc les ovocytes qu'ils contiennent), cela explique l'hétérogénéité de la cohorte [5]. D'après la revue de la littérature, les ovocytes immatures représentent entre 10 à 20% des ovocytes recueillis lors de la ponction ovocyttaire [4,12,13,14,15,16,17,18,19]. Cependant, les facteurs prédictifs d'une immaturité ovocyttaire et le retentissement d'un pourcentage augmenté d'ovocytes immatures sur les chances de grossesse et de naissance vivante ne sont pas parfaitement établis.

Dans cette étude, nous avons étudié l'impact du taux d'ovocytes matures sur le taux cumulé de naissance vivante dans une population de couples infertiles pris en charge en ICSI au centre d'AMP du CHU de Rouen Normandie. Les objectifs de ce travail ont été de déterminer si (i) les résultats des tentatives d'ICSI sont influencés par le nombre d'ovocytes matures retrouvés le jour de la ponction folliculaire, (ii) de définir un seuil de taux d'ovocytes matures à partir duquel le taux de naissance vivante est impacté en ICSI et (iii) d'identifier des facteurs prédictifs de maturité/immaturité ovocytaire.

MATERIELS ET METHODES

I. Population étudiée

Il s'agit d'une étude rétrospective, monocentrique, menée au sein du centre d'AMP du CHU de Rouen Normandie entre le 1^{er} janvier 2015 et le 1^{er} Mars 2017. Cette étude concerne 356 cycles d'ICSI réalisés chez 188 couples dont l'âge de la femme était compris entre 18 et 42 ans inclus (âge limite de prise en charge en AMP). Les 356 cycles d'ICSI ont conduit à 306 cycles de transferts d'embryons frais et 50 cycles de transferts d'embryons congelés.

a) Critères d'inclusion

Etaient inclus des couples en parcours d'infertilité primaire ou secondaire ayant bénéficié d'une première tentative (T1), ou d'une première (T1) et d'une deuxième (T2) tentatives d'ICSI pour une infertilité masculine ou une infertilité mixte. Ont été inclus les cycles de transferts d'embryons congelés (TEC) issus des ICSI.

b) Critères d'exclusion

Ont été exclus les couples n'ayant pas obtenu de grossesse après la T1 ICSI et n'ayant pas réalisé de T2 ICSI, les couples n'ayant pas réalisé toutes leurs tentatives de TEC issus de la T1 ou de la T2 ICSI, les couples pris en charge en dons d'ovocytes ou de spermatozoïdes, ainsi que les tentatives avec des spermatozoïdes préalablement congelés, éjaculés, urinaires, testiculaires ou épидидymaires ou des spermatozoïdes frais issus de prélèvement chirurgical testiculaire ou épидидymaire (Fig. 3).

Les T1 ICSI retenues dans cette étude ont soit conduit à une naissance vivante en transfert d'embryons frais (TEF) ou en TEC, ou à une T2 ICSI ayant abouti ou non à une naissance vivante après TEF ou TEC. Les T2 ICSI retenues dans cette étude ont soit conduit à une naissance vivante en TEF ou en TEC, soit à l'absence de naissance vivante en TEF ou en TEC.

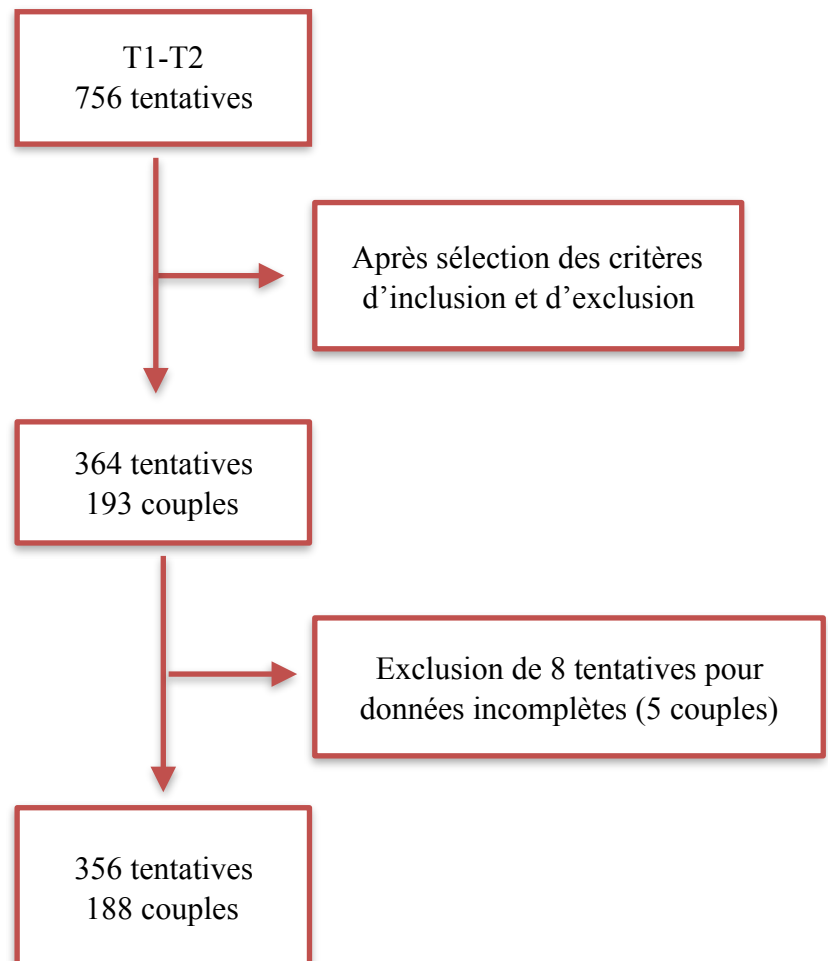


Figure 3 : Flow-chart de la population étudiée.

c) Exploration de l'infertilité

Les couples ont bénéficié d'une exploration de leur infertilité associant une exploration de la réserve ovarienne réalisée à J3 du cycle menstruel comprenant au minimum un dosage des taux plasmatiques d'oestradiol (E2) (ng/L), de Follicle Stimulating Hormone (FSH) (UI/L), de Luteinizing Hormone (LH) (UI/L) et d'Hormone Anti-Mullérienne (AMH) (ng/mL), ainsi qu'une échographie pelvienne par voie endovaginale qui permettait d'effectuer un compte des follicules

antraux (CFA). Une hystérosalpingographie réalisée à J7 - J11 du cycle ou une hystérocopie en première partie de cycle ont permis une évaluation de la cavité utérine.

Les hommes ont réalisé un spermogramme défini selon les critères de l'Organisation Mondiale de la santé (WHO, 2010) [20]. Un deuxième spermogramme était proposé à 2 à 3 mois en présence d'anomalies sur le premier examen avec réalisation d'une spermoculture et test de migration-survie au sein du Laboratoire de Biologie de la Reproduction-CECOS du CHU de Rouen Normandie. Selon le type d'altération spermatique retrouvé, une exploration complémentaire était réalisée, comprenant une consultation avec un andrologue, un dosage des taux plasmatiques de FSH (UI/L), LH (UI/L), E2 (ng/L), Testostérone (ng/L), TeBG (nmol/L), Inhibine B (pg/ml), une échographie testiculaire et endorectale des voies excrétrices spermatiques et un caryotype sanguin.

D'autres caractéristiques essentielles de la population ont été retenues : l'âge et l'indice de masse corporelle (IMC) (kg/m^2) de la patiente au moment de la tentative, la durée et le type primaire ou secondaire de l'infertilité. L'indication de l'ICSI a également été retenue en distinguant les patientes présentant un syndrome des ovaires polykystiques (SOPK), une insuffisance ovarienne débutante ou prématurée, une endométriose, une pathologie tubaire ou une atteinte multiple. Le SOPK était défini par une AMH > 5 ng/ml et/ou un CFA > 24 (somme des deux ovaires) et l'insuffisance ovarienne (IO) par une AMH < 2 ng/ml et ou un CFA < 12 (somme des deux ovaires) avant 35 ans [21,22]. Dans le cadre de l'endométriose était défini le stade de l'endométriose de I à IV selon le score de l'American Fertility Society [23]. Pour la pathologie tubaire, était défini une atteinte unilatérale ou bilatérale.

II. Stimulation de l'ovulation

Le but de la stimulation ovarienne dans le cadre d'une FIV est de favoriser la croissance pluri-folliculaire sans sélection d'un follicule dominant avec pour objectif l'obtention de plusieurs ovocytes matures lors de la ponction folliculaire. Toutes les patientes ont donc bénéficié d'une stimulation ovarienne contrôlée à visée pluri-folliculaires à l'aide de différents protocoles standardisés du service d'AMP du CHU de Rouen Normandie. Les protocoles varient selon l'indication de l'infertilité, l'âge de la patiente, l'exploration hormonale ovarienne basale et le CFA

de la patiente. Plusieurs types de protocoles de stimulation ont été utilisés : protocole antagoniste, protocole agoniste long et protocole agoniste long débuté en phase lutéale.

a) Protocoles de stimulation

Le protocole Antagoniste PROVAMES® (*estradiol*) ou MINIDRIL® (*lévonorgestrel 0,15mg/éthinyloestradiol 0,03mg*) comporte un début du traitement par PROVAMES® (Sanofi Aventis, France) 2mg, 2 fois par jour entre J23 et J25 des règles précédant la stimulation ou par MINIDRIL® (Pfizer Holding, France) 1 comprimé par jour, afin de freiner l'axe hypothalamo-hypophysaire. Le protocole agoniste long débute par un blocage de l'axe hypothalamo-hypophysaire à l'aide d'agoniste de la GnRH : SYNAREL® (*acétate de nafaréline*, Pfizer, France) ou DECAPEPTYL®, (*triptoréline embonate*, Ipsen Pharma, France) à 0,1mg ou 3mg, à J1 du cycle ou à J20 du cycle précédent pour les protocoles en phase lutéale. Par la suite, une échographie était réalisée en début de cycle afin de confirmer le début du traitement par l'absence de follicules ovariens et la présence d'un endomètre fin, puis des injections quotidiennes de FSH recombinante ou urinaire (GONAL F®, Merck Serono, France ; PUREGON®, MSD, France ; MENOPUR®, Ferring, France ; FOSTIMON®, Genevrier, France ; FERTISTARTKIT®, Genevrier, France) étaient réalisées afin de stimuler les ovaires. Les posologies variant selon l'exploration hormonale des ovaires, le CFA, l'âge et l'IMC de chaque patiente. Un monitoring par échographie endovaginale et prise de sang avec dosage de l'estradiol sérique vers S6 était ensuite pratiqué tous les deux à trois jours afin d'adapter les doses de gonadotrophines si nécessaire ; en fonction du taux d'estradiol corrélé aux nombres et à la taille des follicules. Secondairement était ajouté un antagoniste CETROTIDE® (*Cétrorélix*, Merck Serono, France) ou ORGALUTRAN® (*Ganirélix*, MSD, France) quand l'œstradiol (E2) dépassait 400 ng/L ou que le taux de LH augmentait en la présence d'au moins un follicule supérieur à 14 mm de diamètre dans le cadre du protocole antagoniste. Enfin, le déclenchement de l'ovulation était réalisé quand les paramètres échographiques et hormonaux indiquaient la maturité endométriale et folliculaire, définie par la présence d'au moins trois follicules supérieurs à 15 mm avec un taux d'E2 supérieur à 150-200 UI/L par follicule, grâce à une injection d'hCG (OVITRELLE®, *Choriogonadotrophine alfa*, Merck Serono, France). Cette dernière permettant l'ovulation et donc la maturation ovocytaire. En cas de risque d'hyperstimulation ovarienne, le déclenchement de l'ovulation était réalisé par une injection d'agoniste de la GnRH (DECAPEPTYL®, *triptoréline embonate*, Ipsen Pharma, France) dans le cadre du protocole

antagoniste.

Le transfert des embryons congelés était effectué après préparation de l'endomètre utérin par stimulation pauci-folliculaire à l'aide de gonadotrophines ou par traitement hormonal substitutif (THS). Ce dernier consiste initialement en un blocage de l'axe hypothalamo-hypophysaire à l'aide d'agoniste de la GnRH, DECAPEPTYL® (*triptoréline embonate*, Ipsen Pharma, France) à J1 des règles ou à J20 du cycle précédent. Une échographie et une prise de sang (E2) sont ensuite réalisées afin de confirmer le début du traitement par prise d'estradiol par voie orale (PROVAMES®, Sanofi Aventis, France) ou par voie cutanée (VIVELLEDOT®, Novartis Pharma, France). Dans le protocole de préparation de l'endomètre avec gonadotrophine, le traitement commence à J2 du cycle par des injections quotidiennes de FSH recombinante ou urinaire (GONAL F®, Merck Serono, France ; PUREGON®, MSD, France ; MENOPUR®, Ferring, France ; FOSTIMON®, Genevrier, France ; FERTISTARTKIT®, Genevrier, France). Les posologies varient selon l'exploration hormonale basale des ovaires, le CFA, l'âge et l'IMC de chaque patiente. Un monitoring par échographie endovaginale et prise de sang avec dosage de l'estradiol sérique était pratiqué vers J10-J13 afin d'adapter le traitement. Enfin, le déclenchement de l'ovulation si une maturité endométriale était présente, définie par un endomètre en triple feuillet mesurant plus de 8 mm [24], avec la présence d'un follicule dominant pour les protocoles avec gonadotrophine était pratiqué. Le délai entre le moment estimé de l'ovulation et le transfert devait être le même que celui écoulé entre la ponction et la congélation. Le remplacement était en fonction des paramètres suivants : J1 injection de l'hCG, J4 dosage de la progestérone plasmatique (si > 5 ng/ml : remplacement le lendemain, si < 5 ng/ml : nouveau dosage le lendemain). Dans le cadre des protocoles THS, le transfert embryonnaire se faisait après 2 à 6 jours d'imprégnation progestative par PROGESTAN® (Besis International, France) 200mg, matin et soir selon le nombre de jours de congélation de(s) embryon(s).

b) Ponction ovocytaire

La ponction folliculaire avait lieu 35 à 36 heures après le déclenchement de l'ovulation par hCG sous anesthésie générale par ponction transvaginale, sous contrôle échographique. Le liquide folliculaire ponctionné était placé dans des seringues contenant de l'IVF medium® (FertiPro, Beernem, Belgique) et transporté au Laboratoire de Biologie de la Reproduction-CECOS du CHU

de Rouen Normandie dans une enceinte thermostatée à 37°. La phase lutéale était soutenue par de la progestérone (PROGESTAN®, Besis International, France) par voie vaginale à raison d'un ovule matin et soir pendant 14 jours, jusqu'à réalisation du dosage du taux plasmatique de β -hCG. En cas de β -hCG positifs, la progestérone était poursuivie jusqu'à 8 semaines d'aménorrhée (SA).

III. Déroulement de l'ICSI

Les ovocytes contenus dans le liquide folliculaire sont entourés des cellules folliculeuses du *cumulus oophorus* et de la *corona radiata*. Dans les minutes suivant leur arrivée au laboratoire, les complexes cumulo-ovocytaires étaient recherchés et placés dans une boîte de culture à 37°C pendant au minimum 2 heures. Les cellules folliculaires étaient retirées par dissection mécanique et enzymatique à l'aide d'une micropipette de dénudation et de la hyaluronidase® (Origio, Lyon, France). L'opérateur peut distinguer au microscope optique les ovocytes immatures en prophase I présentant une vésicule germinative ou en métaphase I, les ovocytes atrétiques, ou les pellucides vides, des ovocytes matures en métaphase II aptes à être fécondés.

Les ovocytes matures en métaphase II étaient ensuite micro-injectés par un spermatozoïde issu d'un recueil de sperme frais réalisé par le patient au laboratoire le matin même de la ponction folliculaire. Chaque spermatozoïde, sélectionné en fonction de sa mobilité et de sa morphologie, a été transféré dans une goutte de polyvinylpyrrolidone (PVP®, médicult, France) avant d'être immobilisé par lésion du flagelle à l'aide de la pipette d'injection (ICSI Micropipets®, Humagen, VA). Après décoronisation, les ovocytes étaient micro-injectés sous microscope inversé (Leica Microsystems, France), cultivés dans le milieu Global® (LifeGlobal, JCD, France), supplémentés de 10% d'Human Serum Albumine (LifeGlobal, JCD, France) sous huile de paraffine (Origio, France) et placés dans l'incubateur tri-gaz time-lapse (Embryoscope®, Vitrolife, Danemark) à 37°C, 5 % O₂ et 6 % CO₂. L'observation des signes de fécondation et du suivi du développement embryonnaire était réalisé par l'un des biologistes expérimentés du laboratoire selon les paramètres morphocinétiques [25-26]. La présence de deux pronoyaux au sein du cytoplasme ovocyttaire indiquait une fécondation normale. La cinétique et la qualité embryonnaire étaient ensuite observées à l'embryoscope au 2^{ème} jour (J2) et/ou au 3^{ème} jour (J3) après la ponction folliculaire. Les embryons non congelables ou non transférables à ce stade étaient placés en culture prolongée jusqu'à J5-J6

correspondant au stade du blastocyste.

Les embryons aptes à être transférés ou congelés sont définis par la présence de quatre blastomères à J2 ou huit blastomères à J3 avec des blastomères réguliers, typiques et un taux de fragmentation inférieur à 10% [25-27]. Les embryons non transférés mais respectant les critères précédents étaient congelés à J2 ou J3.

La grossesse était diagnostiquée par un dosage de β hCG plasmatique 14 jours après le transfert embryonnaire et confirmée par la présence d'un sac gestationnel à l'échographie dès 8SA.

IV. Recueil de données

Les données ont été obtenues à partir du logiciel Medifirst (Montigny-le-Bretonneux, France) du centre d'AMP du CHU de Rouen Normandie et du dossier médical papier du couple. Le consentement des couples était recueilli préalablement à la tentative pour la conservation et l'utilisation des données dans le cadre de l'analyse des résultats du centre par l'Agence de la Biomédecine et le centre d'AMP du CHU de Rouen Normandie (voir annexe 1).

Les données collectées concernaient :

- ◆ Pour la patiente :
 - L'âge (années)
 - L'IMC (kg/m²)
 - La durée de l'infertilité (années)
 - L'origine de l'infertilité
 - L'infertilité primaire ou secondaire
 - L'exploration de la fonction hormonale ovarienne basale incluant la FSH (UI/L), LH (UI/L), E2 (ng/L), AMH (ng/mL)
 - Le CFA

- ◆ Pour le patient :
 - L'âge
 - Les paramètres spermatiques

- ◆ Pour la stimulation :
 - Le protocole utilisé
 - La dose initiale de gonadotrophine (UI)
 - La dose totale de gonadotrophine (UI)
 - La durée de la stimulation (jours)
 - Le taux d'E2 la veille ou le jour du déclenchement (ng/mL)
 - L'épaisseur de l'endomètre (mm) le jour du déclenchement de l'ovulation par l'hCG
 - Le nombre de follicules > 15mm au moment du déclenchement
 - Le nombre de follicules entre 13,5 et 15 mm au moment du déclenchement
 - Le taux d'E2 par follicule (ng/mL) le jour du déclenchement de l'ovulation par hCG.

- ◆ Pour la tentative d'ICSI :
 - Le nombre d'ovocytes recueillis
 - Le nombre d'ovocytes matures (OM) (métaphase II)
 - Le nombre d'ovocytes immatures (OI) (prophase I, métaphase I)
 - Le nombre de pellucides cassés
 - Le nombre d'ovocytes lysés
 - Le nombre d'ovocytes injectés
 - Le nombre d'ovocytes fécondés
 - Le nombre d'ovocytes à 2PN
 - Le nombre total d'embryons obtenus
 - Le nombre d'embryons obtenus
 - Le nombre d'embryons de bonne qualité
 - Le nombre d'embryons transférés
 - Le nombre d'embryons congelés

- ◆ Pour l'issue de la tentative d'ICSI :
 - **Le critère "présence d'une naissance vivante"** incluait les cycles d'ICSI (transferts d'embryons frais ou congelés) ayant abouti à une grossesse clinique ($\beta\text{hCG} \geq 100$ UI/ml avec la présence d'un sac gestationnel à l'échographie à 8 SA et/ou les grossesses cliniques évolutives définies par les grossesses intra-utérines avec embryon et activité cardiaque à l'échographie à 8 SA. Ces tentatives ont conduit à des enfants nés vivants.
 - **Le critère "absence d'une naissance vivante"** incluait les cycles d'ICSI (transferts d'embryons frais ou congelés) avec un taux de $\beta\text{hCG} < 100$ UI/ml et les tentatives d'ICSI avec un taux de $\beta\text{hCG} \geq 100$ UI/ml ayant abouti à des fausses couches (FCS), des grossesses extra-utérines (GEU), des interruptions volontaires de grossesses (IVG), des interruptions médicales de grossesses (IMG), des morts fœtales in utero (MFIU).

- ◆ Pour chaque couple, a été calculé :
 - Le pourcentage d'ovocytes matures (%) défini par le ratio entre le nombre d'ovocytes en métaphase II et le nombre d'ovocytes retenus à la ponction
 - Le pourcentage d'ovocytes immatures (%) défini par le ratio entre le nombre d'ovocytes en prophase I et métaphase I et le nombre d'ovocytes recueillis lors de la ponction folliculaire
 - Le taux de fécondation (%) défini par le ratio entre le nombre d'ovocytes fécondés à 2 PN et le nombre d'ovocytes matures injectés
 - Le taux de développement embryonnaire (%) défini par le ratio entre le nombre d'embryons obtenus et le nombre d'ovocytes fécondés à 2 PN
 - Le taux de congélation (%) défini par le ratio entre le nombre d'embryons congelés et le nombre d'embryons obtenus
 - Le taux d'implantation (%) défini par le ratio entre le nombre de sacs gestationnels et le nombre d'embryons transférés
 - Le taux cumulé de naissance vivante (%) par patiente est défini par le ratio entre le nombre cumulé de naissances vivantes obtenu par patiente sur le nombre total de patientes
 - Le taux cumulé de naissance vivante (%) par ponction est défini par le ratio entre le nombre cumulé de naissances vivantes obtenu par ponction sur le nombre total de

ponctions

- Le taux cumulé de naissance vivante (%) par transfert est défini par le ratio entre le nombre cumulé de naissances vivantes obtenu par transfert sur le nombre total de transferts.

V. Analyse statistique

L'ensemble des données a été colligé dans un tableur et analysé avec GraphPad Prism®. Les données ont été décrites en utilisant les paramètres descriptifs habituels : moyenne, écart-type, médiane, 25ème et 75ème percentiles et fréquences pour les variables qualitatives. Les cycles d'ICSI (transferts d'embryons frais ou congelés) ont été analysés de façon indépendante et classés selon deux catégories "présence d'une naissance vivante" ou "absence d'une naissance vivante". Les analyses statistiques comparant les variables quantitatives des deux groupes de patients en fonction de la survenue ou non d'une naissance vivante ont été réalisées en utilisant le test de Student (t-test). Dans certains groupes, un test non paramétrique de Mann et Whitney a été réalisé. Des analyses de corrélation ont été réalisées et un coefficient de Pearson a été obtenu. Une valeur de P inférieure à 0,05 a été considérée comme significative.

Afin de déterminer la valeur pronostique du taux d'ovocytes matures sur la survenue d'une naissance vivante, une courbe de ROC a été réalisée et l'aire sous la courbe a été calculée (AUC). Une AUC > 0,70 a été considérée comme acceptable. Le meilleur seuil a été recherché (indice de Youden le plus proche de 1) permettant le calcul de la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et la valeur prédictive négative pour chaque test.

Une analyse de régression logistique univariée a été effectuée pour rechercher les facteurs associés à un taux de maturité ovocytaire inférieur ou supérieur à 70%. Une régression logistique multivariée a été envisagée pour déterminer les facteurs indépendamment associés à un taux de maturité ovocytaire inférieur ou supérieur à 70%. Seuls les facteurs qui maintiendraient une valeur de P inférieure à 0,15 devaient être retenus dans le modèle final. Une valeur de P < 0,05 a été considérée comme statistiquement significative.

RESULTATS

I. Description de la population et des cycles d'ICSI

Au sein du centre d'AMP du CHU de Rouen Normandie entre le 1^{er} janvier 2015 et le 1^{er} mars 2017, 188 couples dont l'âge de la femme était compris entre 18 et 42 ans inclus (âge limite de prise en charge en AMP) ont réalisés une T1 ICSI ou une T1 et T2 ICSI comprenant les TEC en cas d'embryons congelés jusqu'à obtention d'une naissance vivante ou l'absence de naissance vivante après utilisation de l'ensemble des embryons congelés issus de la T2 ICSI. Les caractéristiques cliniques des patients sont présentées dans le tableau 1.

L'exploration hormonale basale des ovaires réalisée à J3 du cycle, le CFA et l'hystérosalpingographie ont permis de classer les patientes selon leur type d'infertilité. Nous avons retrouvé dans notre étude 33,8% de SOPK, 24% d'IO, 7,5% de pathologie tubaire et 15,4% d'endométriose. Il existait une infertilité primaire pour 64,5% des couples et une infertilité secondaire pour 35,5% des couples. Lors des tentatives d'ICSI, 65,3% des patientes ont reçu un traitement avec agoniste de la GnRH et 34,7% ont reçu un traitement avec antagoniste de la GnRH. En ce qui concerne les TEC, il y a eu 20,3% de protocole avec FSH contre 79,3% de protocole avec THS. Le taux moyen d'ovocytes matures était de 70,3 %, le taux de fécondation de 58%, le taux de développement embryonnaire de 83,3% et le taux de congélation des embryons de 21,6%. Ceci a conduit à 150 naissances vivantes sur 325 transferts dont 126 issues de transferts d'embryons frais et 24 de transferts d'embryons congelés. Soit, un taux de naissance vivante par patiente en TEF de 67% et un taux cumulé de naissance vivante par patiente de 79%. De même, le taux de naissance vivante par ponction en TEF était de 45,3% et le taux cumulé de naissance vivante par ponction de 53,9 %. Le taux de naissance vivante par transfert en TEF était de 46,1% et le taux cumulé de naissance vivante par transfert était aussi de 46,1%. Sur les 325 cycles d'ICSI, 175 cycles n'ont pas abouti à une naissance vivante comprenant 32 grossesses ayant conduit à une FCS ou à une GEU, une IMG ou une MFIU. Les caractéristiques des cycles d'ICSI sont présentés dans le tableau 2.

La comparaison entre les groupes « présence d'une naissance vivante » et « absence d'une naissance vivante » n'a pas révélé de différences significatives concernant les paramètres féminins et masculins. En ce qui concerne les paramètres du cycle d'ICSI, dans le groupe « présence d'une naissance vivante », la dose totale de gonadotrophine reçue par la patiente était plus faible que dans le groupe « absence d'une naissance vivante », sans être significatif ($p = 0,1$). Il y a eu plus d'ovocytes obtenus à la ponction folliculaire dans le groupe « présence d'une naissance vivante » de façon non significative ($p = 0,18$). Le nombre d'ovocytes en métaphase II et le nombre d'ovocytes injectés étaient presque significativement plus importants dans le groupe « présence d'une naissance vivante » que dans le groupe « absence d'une naissance vivante, respectivement, $p = 0,054$ et $0,051$. Le nombre d'ovocytes à 2PN et le nombre d'embryons obtenus étaient quant à eux significativement plus importants dans le groupe « présence d'une naissance vivante ($p < 0,0001$). Le taux d'ovocytes matures était plus élevé de façon non significative dans le groupe « présence d'une naissance vivante » ($p = 0,26$). Le taux de fécondation était considérablement et significativement plus élevé dans le groupe « présence d'une naissance vivante » ($p < 0,0001$). Le taux de développement embryonnaire n'était pas significativement plus élevé dans le groupe « présence d'une naissance vivante » ($p = 0,23$) et le taux de congélation était presque significativement plus important dans ce groupe ($p = 0,06$), (tableau 1 et 2). Le taux d'OM entre le groupe « présence d'une naissance vivante » et « absence de naissance vivante » n'était pas significativement différent en fonction de la cause de l'infertilité avec $p = 0,9141$ pour l'IO, $p = 0,75$ pour le SOPK, $p = 0,5714$ pour la pathologie tubaire, et $p = 0,071$ pour l'endométriose.

TABLEAU 1: Caractéristiques des patients

Paramètres	Couple (n=188) moyenne / médiane (25 -75ème percentile)	Présence d'une naissance vivante (n=150)	Absence de naissance vivante (n=175)	P
Paramètres féminins				
Age (années)	31,3 / 31 (29 - 34)	31 / 31 (28 - 34,2)	31,7 / 31 (29 - 34)	0,28
IMC (kg/m ²)	24,1 / 23 (20 - 27)	23,8 / 23 (20 - 27)	24,2 / 24 (21 - 27,7)	0,46
Délai d'infertilité (années)	5,1 / 4 (3 - 6)	5,2 / 4,5 (3 - 7)	5,35 / 5 (3,7 - 7)	0,61
AMH (ng/ml)	3,8 / 3 (1 - 5)	4,5 / 3,7 (1,9 - 5,8)	4,2 / 2,9 (1,7 - 5,6)	0,48
FSH (UI/L)	6,4 / 6 (5 - 7)	6,7 / 6,13 (5,2 - 7,3)	7,3 / 6,5 (5,3 - 8)	0,53
LH (UI/L)	4,7 / 4 (3 - 6)	5,1 / 4,7 (3,5 - 6,6)	5,2 / 4,7 (3,4 - 6,3)	0,64
Oestradiol (E2) (pg/mL)	47,5 / 41 (30 - 52)	45,5 / 40 (29 - 51)	49,2 / 43 (15 - 53)	0,4
CFA (n)	17 / 13 (9 - 23)	18,1 / 14,5 (9 - 25)	15,6 / 13 (8 - 20)	0,11
Paramètres masculins				
Volume du sperme initial	3,2 / 3 (2,1 - 4,2)	3 / 3 (2 - 4)	2,9 / 3 (2 - 4)	0,86
Numération du sperme initial (M/ml)	12,9 / 6 (1,5 - 15,75)	12,4 / 5 (1 - 14)	12 / 7,2 (1,9 - 20)	0,87
Mobilité progressive du sperme initial (a + b)(%)	25,3 / 25 (20 - 30)	24,9 / 25 (20 - 30)	24,9 / 25 (20 - 30)	0,7
Concentration après préparation (M/ml)	7,8 / 3 (0,6 - 10)	7,6 / 2 (0,5 - 8)	6,9 / 3 (0,6 - 10,2)	0,68
Mobilité après préparation (%)	57,3 / 60 (40 - 75)	56,8 / 60 (42,5 - 70)	55,6 / 60 (37,5 - 80)	0,7
Forme typique (%)	24,5 / 23 (13 - 34)	24,2 / 23 (13 - 34)	25 / 23,5 (12,7 - 35)	0,74

IMC : Indice de Masse Corporelle, AMH : Hormone Anti-Mullérienne, FSH : Follicle Stimulating Hormone, LH : Luteinizing Hormone, CFA ; Compte de Follicules Antraux

TABLEAU 2 : Caractéristiques des tentatives d'ICSI

Paramètres	Couple (n=188) moyenne / médiane (25 - 75ème percentile)	Naissance vivante (n=150)	Absence de naissance vivante (n=175)	P
Durée du traitement (jours)	10,94 / 11 (10,8 - 11,1)	10,9 / 11 (8 - 12)	10,9 / 11 (7 - 12)	0,82
Dose totale de gonadotrophine (UI)	2081 / 1800 (1350 - 2475)	1890 / 1700 (675 - 2125)	2098 / 1900 (612 - 2475)	0,10
E2 avant déclenchement (UI)	1832 / 1714 (1297 - 2276)	1857 / 1707 (1276 - 2364)	1863 / 1769 (1406 - 2223)	0,95
Nombre de follicule > 15 mm	6,5 / 6 (4 - 8)	6,8 / 6 (4 - 8)	6,7 / 6 (4 - 9)	0,82
Nombre de follicules entre 13,5 et 15 mm	2,8 / 2 (1 - 4)	2,8 / 2 (1 - 4)	2,8 / 2 (1 - 4)	0,98
E2 / Follicule > 15 mm	346,3 / 286 (216 - 394)	324,7 / 269 (210 - 363)	367 / 296 (220 - 424)	0,23
Nombre d'ovocytes obtenus	11 / 10 (8 - 14)	12 / 11 (8 - 15)	11 / 10 (8 - 14)	0,18
Nombre d'ovocytes matures MII	7,7 / 7 (5 - 10)	8,6 / 8 (6 - 11)	7,5 / 7 (5 - 10)	0,054
Nombre d'ovocytes injectés	7,7 / 7 (5 - 10)	8,6 / 8 (6 - 11)	7,5 / 7 (5 - 10)	0,051
Nombre ovocytes à 2PN	4,5 / 4 (2 - 6)	5,6 / 5 (3 - 7)	3,8 / 3 (2 - 5)	0,0001
Nombre d'embryons obtenus	4,3 / 4 (3 - 7)	6,5 / 6 (4 - 9)	4,6 / 4 (2 - 7)	<0,0001
Taux d'ovocytes matures (%)*	70,3 / 72 (58 - 84)	74 / 75 (62,5 - 86,2)	71,2 / 74,1 (50 - 85,7)	0,26
Taux de fécondation (%)*	58 / 57 (40 - 48)	66,3 / 68,7 (50 - 83,3)	50,6 / 50 (33,3 - 72,4)	<0,0001
Taux de développement embryonnaire (%)*	83,3 / 94 (71 - 100)	86,4 / 91,7 (75 - 100)	82,3 / 100 (71,4 - 100)	0,23
Taux de congélation (%)*	21,6 / 14 (0 - 40)	26,6 / 28,6 (0 - 42,6)	20,2 / 0 (0 - 43,6)	0,06

E2 : Oestradiol, M2 : Métaphase II, 2PN : 2 pronoyaux

II. Impact du taux d'ovocytes matures

Afin d'identifier s'il existe un impact sur l'issue des tentatives ICSI en fonction du taux d'ovocytes matures, nous avons réalisé une étude de corrélation entre le taux d'ovocytes matures et les différents paramètres des résultats des tentatives (Tableau 3).

Le taux d'ovocytes matures est corrélé négativement au nombre d'ovocytes immatures ($r = -0,018$, $p < 0,0001$) et au nombre d'ovocytes atrétiques après micro-injection de spermatozoïde ($r = -0,347$, $p < 0,0001$). Le taux d'ovocytes matures est corrélé positivement au nombre d'ovocytes injectés ($r = 0,41$, $p < 0,0001$), au nombre d'ovocytes à 2 PN ($r = 0,35$, $p < 0,0001$), et au nombre d'embryons

obtenus ($r = 0,363$, $p < 0,0001$).

Nous avons également recherché une corrélation entre le taux d'ovocytes matures à la T1 ICSI et à la T2 ICSI, afin d'évaluer l'impact des modifications de la stimulation de l'ovulation proposées après l'échec de la T1 ICSI. Le taux d'ovocytes matures à la T1 ICSI est corrélé positivement au taux d'OM obtenus à la T2 ICSI ($r = 0,71$, $p < 0,0001$).

De plus, afin de répondre à notre objectif, nous avons recherché une corrélation entre le taux d'ovocytes matures et le taux cumulé de naissance vivante obtenu en T1 ou T1 + T2 ICSI. Le taux cumulé de naissance vivante augmente significativement avec le taux d'ovocytes matures ($r = 0,1656$, $p = 0,0063$). Il en est de même avec le taux de fécondation ($r = 0,33$, $p < 0,0001$), le taux de développement embryonnaire ($r = 0,1423$, $p = 0,0222$) et le taux de congélation ($r = 0,2$, $p = 0,0012$).

TABLEAU 3 : Corrélation entre le taux d'ovocytes matures et les résultats des tentatives

Paramètres	Coefficient de corrélation (r)	P
Nombre d'ovocytes retenus	- 0,01841	0,7629
Nombre d'ovocytes immatures (tous stades confondus)	- 0,5670	< 0,0001
Nombre de VG	- 0,3530	0,0001
Nombre de pellucides cassées	0,09729	0,5399
Nombre d'ovocytes atrétiques	- 0,3470	< 0,0001
Nombre d'ovocytes injectés	0,4101	< 0,0001
Nombre d'ovocytes à 2PN	0,3545	< 0,0001
Nombre d'embryons obtenus	0,3630	< 0,0001
Taux d'ovocytes matures T1/T2	0,7115	< 0,0001
Taux de fécondation	0,3302	< 0,0001
Taux de développement embryonnaire	0,1423	0,0222
Taux de congélation	0,2015	0,0012
Taux cumulé de naissance vivante	0,1656	0,0063

VG : vésicule germinale, 2PN : 2 pro noyaux

La corrélation est significative si $p < 0,05$. Résultats après étude de régression linéaire.

Nous avons réalisé une courbe de ROC, afin d'étudier la sensibilité du taux d'ovocytes matures sur le taux de naissance vivante, cette dernière est peu contributive (Fig. 4). En effet, la valeur seuil qui correspond à la valeur à partir de laquelle le taux d'OM a un impact sur le taux cumulé de naissance vivante est une valeur avec une sensibilité et une spécificité de 100% soit sur la courbe une valeur se trouvant au coin gauche du graphique. En revanche, si le taux a une capacité de discrimination nulle, la valeur seuil se rapproche de la diagonale du graphique. L'analyse de la courbe de ROC n'a pas permis de déterminer une valeur seuil pour le taux d'OM prédictif du taux de naissance vivante. La sensibilité de l'impact du taux d'OM sur le taux cumulé de naissance vivante est donc faible. Nous avons également essayé d'établir le seuil à partir duquel le taux d'OM a un impact négatif sur le taux cumulé de naissance vivante par la réalisation d'une autre courbe (Fig. 5).

Figure 4: Courbe de ROC

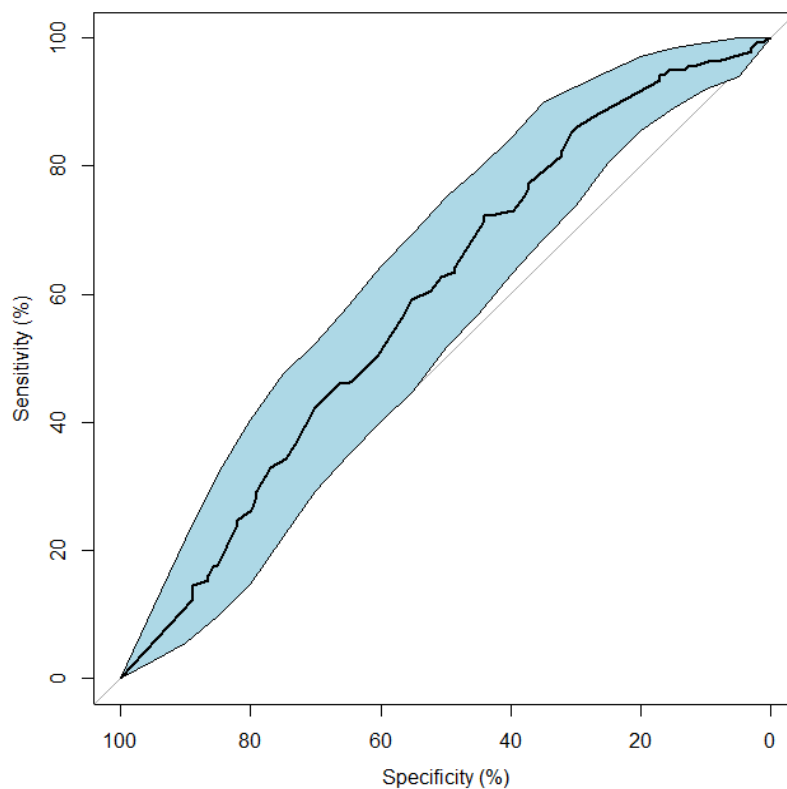
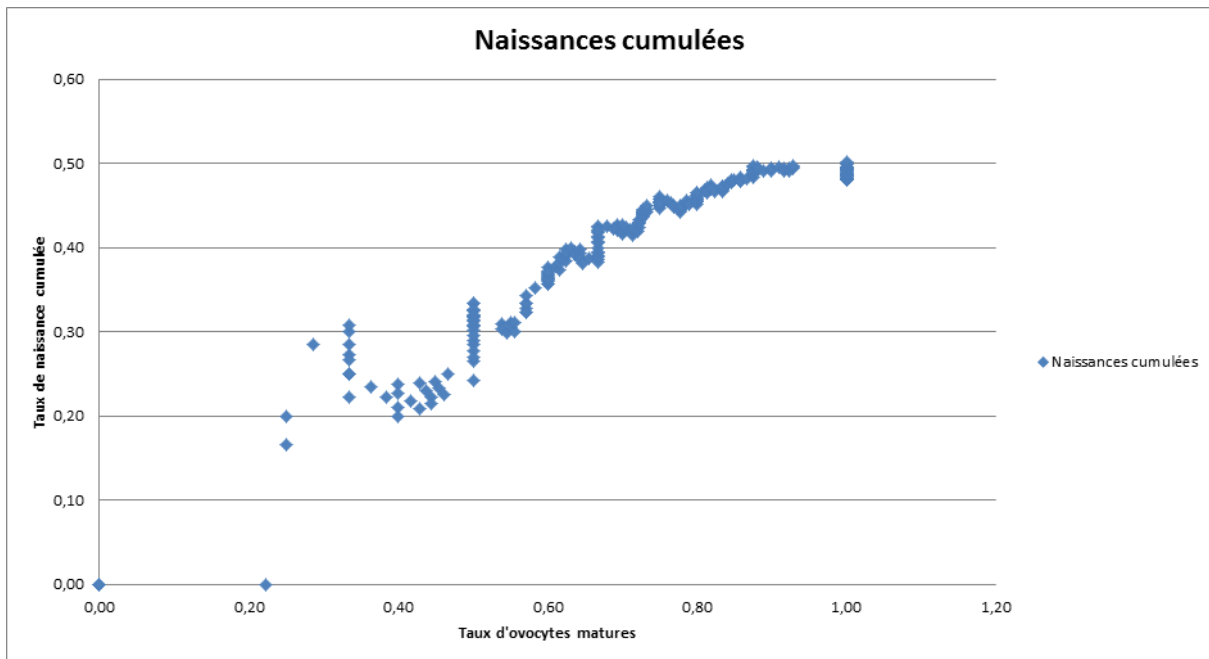


Figure 5 : Taux cumulé de naissance vivante par rapport au taux d'ovocytes matures



Nous pouvons visualiser qu'à partir d'un taux de 80% d'ovocytes matures, le taux cumulé de naissance vivante n'évolue plus (45 à 50%). En dessous de 70% d'ovocytes matures, le taux cumulé de naissance diminue fortement (0 à 45%).

Tenant compte des résultats obtenus et des données rapportées dans l'étude de Bar-Ami et al., nous avons essayé d'établir si le taux d'ovocytes matures à 70% est un seuil à partir duquel il existe un impact sur les naissances vivantes [28]. Pour cela, nous avons séparé la population étudiée en deux groupes ; le groupe A contenant les patientes avec un taux d'ovocytes matures inférieur à 70% et le groupe B avec un taux d'ovocytes matures supérieur à 70%. Les résultats de la comparaison entre les deux groupes sont représentés dans le tableau 4.

TABLEAU 4 : Comparaison des résultats des tentatives ayant abouti à une naissance vivante entre le groupe A et B :

Paramètres	Groupe A (taux d'OM < 70%)	Groupe B (taux d'OM > 70%)	P
Âge patiente (années)	31,2 +/- 0,42	31,3 +/- 0,42	0,8505
IMC patiente (kg/m ²)	23,9 +/- 0,47	24 +/- 0,43	0,8990
IMC patient (kg/m ²)	25,3 +/- 0,56	25,4 +/- 0,52	0,8992
Délai infertilité (années)	5,2 +/- 0,3	5,2 +/- 0,26	0,9625
FSH (UI/L)	5,8 +/- 0,2	6 +/- 0,2	0,4689
LH (UI/L)	4,7 +/- 0,3	4,7 +/- 0,2	0,9168
E2 (pg/mL)	44,9 +/- 2,8	49,9 +/- 3,3	0,2624
AMH (ng/mL)	3,8 +/- 0,4	4 +/- 0,36	0,8038
CFA (n)	17,1 +/- 1,3	17,1 +/- 0,97	0,9791
Durée de stimulation (jours)	10,8 +/- 0,13	10,9 +/- 0,2	0,5056
Dose totale de gonadotrophines (UI)	2079 +/- 97	1890 +/- 80	0,1293
E2 / follicule > 15 mm	335,4 +/- 26,2	332,3 +/- 21,4	0,9249
Ovocytes obtenus (n)	10,7 +/- 0,5	11,6 +/- 0,5	0,1942
Ovocytes matures (n)	5,5 +/- 0,35	9,2 +/- 0,37	< 0,0001
Taux de fécondation (%)	60,5 +/- 3	58 +/- 2,27	0,5138
Taux de développement embryonnaire (%)	83,6 +/- 2,8	84,2 +/- 1,8	0,86
Taux de congélation (%)	16,6 +/- 2,4	29,2 +/- 2,26	0,0002
Taux d'implantation sur TEF (%)	42,3 +/- 4,5	44,3 +/- 4	0,7433
Taux d'implantation cumulé (%)	34,2 +/- 3,4	38,9 +/- 3	0,31

OM : Ovocytes Matures, IMC : Indice de Masse Corporelle, FSH : Follicle Stimulating Hormone, LH : Luteinizing Hormone, E2 : Oestradiol, AMH : Hormone Anti-Mullérienne, ; Compte de Follicules Antraux, TEF : Transfert d'Embryon Frais. Résultats exprimés en moyenne avec écarts types.

Nous pouvons constater une différence significative concernant le nombre d'ovocytes matures entre les deux groupes sur les tentatives ayant abouti à une naissance vivante avec $p < 0,0001$. A contrario, il n'existe pas de différence significative entre les deux groupes sur le taux de fécondation, de développement embryonnaire et d'implantation. Cependant, il existe une différence significative concernant le taux de congélation avec $p = 0,0002$. Le groupe B présente un taux de congélation presque deux fois plus important que le groupe A, ce qui montre une meilleure qualité embryonnaire pouvant aboutir à la congélation dans le groupe avec plus de 70% d'OM.

III. Etude des facteurs prédictifs de la maturité ovocytaire

Les corrélations entre le taux d'ovocytes matures et les différents paramètres des tentatives d'ICSI sont rapportées dans le tableau 5.

TABLEAU 5 : Facteurs corrélés au taux d'ovocytes matures

Paramètres	Coefficient de corrélation	P
Cause de l'infertilité	- 0,07391	0,2253
Age	0,02334	0,7021
IMC	0,01093	0,8595
Durée de l'infertilité	- 0,03577	0,5577
FSH	0,1025	0,0923
LH	0,07811	0,1999
E2	0,08537	0,1611
AMH	0,003890	0,9492
CFA	0,0004949	0,9935
Durée de stimulation	0,07325	0,2294
Protocole utilisé	*	0,2825
Dose totale de gonadotrophine	- 0,1207	0,0472
E2 avant déclenchement	- 0,01818	0,7657
Nombre de follicules > 15 mm	- 0,01438	0,8137
Nombre de follicules entre 13,5 et 15 mm	0,009757	0,873
E2/follicule	- 0,04653	0,4455

* : test de corrélation non réalisé car variable qualitative. Un test non paramétrique de Mann et Whitney a été réalisé.

IMC : Indice de Masse Corporelle, FSH : Follicle Stimulating Hormone, LH : Luteinizing Hormone, E2 : Oestradiol, AMH : Hormone Anti-Mullérienne, ; Compte de Follicules Antraux, TEF : Transfert d'Embryon Frais.

En fonction de l'âge de la patiente, de l'IMC, ou de la durée d'infertilité, il n'a pas été mis en évidence de différence significative en terme de pourcentage d'ovocytes matures sur le taux cumulé de naissance vivante. L'impact de ces critères sur la maturité ovocytaire n'a donc pas été démontré. Concernant le bilan d'infertilité ou bilan de réserve ovarienne, nous n'avons pas mis en évidence de différence significative pour le taux de FSH, de LH, d'E2, de l'AMH ou encore pour le CFA. La cause d'infertilité n'était pas non plus un facteur prédictif de maturité ovocytaire.

Par contre, il a été objectivé une différence significative concernant la dose totale de gonadotrophine ($p = 0,0472$). Ainsi, la dose totale de gonadotrophine utilisée pendant la stimulation apparait être un facteur prédictif négatif de maturité ovocytaire. Le taux d'E2 avant déclenchement, ou par follicule ne sont pas corrélés au taux d'ovocytes matures. Egaleme nt, le nombre de follicules supérieurs à 15 mm ou entre 13,5 et 15 mm n'ont pas d'impact sur la maturité ovocytaire.

En ce qui concerne le protocole utilisé pour les cycles d'ICSI, il n'a pas été mis en évidence de corrélation significative avec le taux d'ovocytes matures. De même, la durée de stimulation n'était pas non plus un facteur prédictif de maturité ovocytaire.

DISCUSSION

Dans cette étude, nous avons évalué l'impact du taux d'ovocytes matures obtenus sur le taux cumulé de naissance vivante en ICSI, et recherché les facteurs associés susceptibles d'être prédictifs de maturité ovocytaire.

I. Impact du taux d'ovocytes matures sur les résultats des cycles d'ICSI et le taux cumulé de naissance vivante

Notre étude révèle que le taux d'ovocytes matures joue un rôle sur le taux de fécondation, le taux de développement embryonnaire, le taux de congélation et le taux cumulé de naissance vivante. Nos données sont en accord avec la littérature. En effet, récemment, Lin et al. ont montré que les taux de fécondation et de développement embryonnaire étaient inférieurs chez les couples présentant un taux d'OM < 30% comparé aux couples ayant un taux d'OM > 30% [9]. Par ailleurs, Halvaei et al. ont évalué la répercussion du nombre d'ovocytes immatures (OI) sur le taux de fécondation des ovocytes matures ainsi que sur le développement et la qualité des embryons au cours d'ICSI. Dans leur étude prospective, 101 cycles ICSI ont été inclus. Les patients ont été divisés en 2 groupes : A (≤ 2 ovocytes immatures) et B (> 2 ovocytes immatures, sans tenir compte du nombre total d'ovocytes), le déclenchement étant réalisé quand au moins deux follicules > 18 mm étaient présents [29]. Le taux de fécondation était plus élevé de façon significative dans le groupe A ($p = 0,03$). En revanche, aucun retentissement sur le développement embryonnaire n'a été retrouvé. Les auteurs supposent que la sensibilité des follicules ovariens à la stimulation est liée au nombre d'OI de la cohorte. Ainsi, les ovocytes recueillis au cours de cycles comportant peu d'OI ont une meilleure condition de maturation nucléaire et cytoplasmique [29]. De plus, les OI pourraient avoir des effets négatifs sur l'ensemble de la cohorte ovocytaire via des sécrétions paracrines. Le facteur de croissance TGF- β opère via des mécanismes paracrines et autocrines afin de réguler le développement folliculaire et la maturation de l'ovocyte. L'AMH inhibe le recrutement des follicules primordiaux via l'activité paracrine [29]. En outre, une étude menée par Hill et al. a montré que les patients présentant une diminution du taux de maturation des ovocytes avaient de moins bons résultats cliniques en ICSI avec une diminution du taux de fécondation et de développement embryonnaire [30]. Ko DS et al. ont étudié les chances de grossesse d'ovocytes

immatures prélevés au cours de cycles d'ICSI et ont conclu que le potentiel de fécondation et de grossesse des OI étaient inférieurs à ceux des ovocytes matures [12]. Dans l'étude de Bar-Ami et al., lorsque le pourcentage d'OI était de 25% ou plus, aucune grossesse n'était présente [28]. L'immaturité cytoplasmique d'ovocytes maturés in vitro a été suggérée comme une explication possible de cette diminution du taux de fécondation. Enfin, une étude récente réalisée à Lille a retrouvé de façon significative davantage d'OI dans leur groupe de patientes où il n'y avait pas de grossesses que dans celui où il y avait des grossesses cliniques ($p = 0,018$) [31]. En revanche, la littérature fait état de l'absence d'impact de l'immaturité ovocytaire sur les résultats des tentatives d'ICSI. En effet, une étude réalisée par Kok et al. a montré qu'on obtenait plus d'OI dans les syndromes d'hyperstimulation ovarienne mais que cela n'affectait pas les taux de fécondation [32]. Ou encore, Wittemer et al. ont déclaré que le taux de fécondation était plus élevé dans les cycles de FIV avec plus de 10% d'ovocytes en VG par rapport aux cycles avec moins de VG [33]. Cependant, ils n'évoquent pas le retentissement sur les issues de grossesses. A l'heure actuelle, il n'existe pas de consensus concernant l'impact du taux d'ovocytes matures sur le devenir des ovocytes recueillis en FIV, des embryons et sur les taux de grossesse et de naissance. Néanmoins, nous pouvons supposer, compte-tenu de nos résultats et de la littérature, qu'un fort taux d'immaturité ovocytaire serait un facteur péjoratif sur les taux de naissance vivante. Enfin, notre étude rapporte, pour la 1^{ère} fois à notre connaissance, l'impact du taux d'ovocytes matures sur le taux de congélation des embryons.

II. Seuil d'ovocyte mature

Notre étude n'a pas permis de définir un seuil à partir duquel le taux de naissance est impacté par le taux d'ovocytes matures. Polyzos et al. ont défini à partir des données multicentriques européennes de 15 000 cycles d'ICSI, le taux cumulé de naissance vivante en fonction du nombre d'ovocytes obtenus sans tenir compte du nombre d'ovocytes matures [34]. Dans notre étude, nous avons obtenu en moyenne 10 ovocytes à la ponction ovocytaire. D'après les données de Polyzos et al., le taux cumulé de naissance vivante est d'environ 45% pour 10 ovocytes. Ainsi, par extrapolation, notre étude suggère qu'en dessous de 80% d'ovocytes matures, le taux de naissance vivante semble diminué par rapport à celui attendu. Notre étude sur la comparaison des groupes entre +/- 70% d'OM n'a pas mis en évidence de différence significative sur les taux de fécondation, de développement embryonnaire et d'implantation sur TEF et en cumulé, à partir du seuil de 70% d'OM. Lin et al. récemment ont retrouvé une différence significative à partir de +/-

30% d'OM sur le taux de grossesse clinique avec aucune naissance vivante quand le taux d'OM était inférieur à 75% [9]. La littérature ne fait état de peu d'études sur l'impact du taux d'ovocytes matures sur les résultats des tentatives d'ICSI, il est donc difficile de savoir à partir de quel seuil le taux d'OM impact celui de naissance vivante. De plus, il n'y a pas de consensus sur la définition du taux cumulé de naissance vivante, certains auteurs utilisent des taux cumulés de naissance vivante à court, moyen et long terme [35]. Zhou et al ont retrouvé un taux cumulé de naissance vivante par transfert de 68.1% chez des femmes âgées de 35 à 40 ans. Abuzeid et al. et Wu et al. ont quant à eux, retrouvé respectivement 66 % et 69.8% de naissances vivantes cumulées chez des femmes âgées de 35 à 39 ans. D'autres études ont retrouvé des taux plus inférieurs entre 31,2 et 52,6% mais en prenant le taux cumulé de naissance vivante que sur la première tentative d'ICSI [35]. En comparaison, dans notre étude, nous avons retrouvé un taux cumulé de naissance vivante par transfert de 46,1 % mais de 79 % par patiente après deux tentatives d'ICSI.

III. Facteurs prédictifs de la maturité ovocytaire

a) Paramètres cliniques féminins

Enfin, nous avons étudié le lien entre les paramètres cliniques féminins, l'origine de l'infertilité et les données clinico-biologiques de la tentative d'ICSI. En ce qui concerne l'âge féminin, nous n'avons pas mis en évidence de corrélation avec le taux d'ovocytes matures dans notre étude. Cha et al. n'ont également pas retrouvé de différence statistique entre les taux d'OI et de clivage des embryons dans les différents groupes d'âge [36]. Par ailleurs, Moore et al. n'ont pas démontré un taux anormalement plus élevé d'OI chez les femmes de plus de 35 ans en ICSI [37]. Pourtant, l'âge féminin intervient de façon évidente, le nombre d'ovocyte diminuant avec l'âge [2]. Lee et al. ont montré dans une étude que le taux d'OI était significativement plus important chez les femmes de plus de 40 ans. En revanche, entre 30 et 40 ans, le pourcentage d'OI n'était pas proportionnel avec l'avancée en âge [38]. Halvaei et al ont également démontré l'obtention plus importante d'OI chez les femmes de plus de 35 ans [29]. De même, nous n'avons pas mis en évidence de corrélation entre l'IMC et le taux d'ovocytes matures. Lenoble et al. n'ont pas retrouvé un nombre d'ovocytes associé à l'IMC [39], alors que Chaouache et al. plus récemment ont retrouvé une corrélation avec un pourcentage d'ovocytes matures significativement plus important chez les patientes avec un IMC normal [40]. Concernant l'origine féminine de l'infertilité, nous avons étudié si l'insuffisance ovarienne débutante, l'endométriose, le syndrome des ovaires polykystiques ou encore l'obstruction tubaire avaient un impact sur la maturité ovocytaire. Nous

n'avons pas mis en évidence de corrélation entre la cause de l'infertilité et le taux d'ovocytes matures avec $p = 0,2253$. Dans la littérature, en ce qui concerne le SOPK, Mendes-Pereira et al. ont montré que les patientes produisaient autant d'ovocytes matures que leur population témoin [41]. Sigala et al. n'ont pas retrouvé de différence significative concernant le nombre d'OI entre le groupe SOPK et le groupe non SOPK [42]. En revanche, l'étude lilloise avait mis en évidence une différence significative concernant le pourcentage d'OI entre les patientes ayant une baisse de réserve ovarienne et celles ayant une AMH et un CFA normaux [31]. De même, Boucret et al. ont montré que le pourcentage d'OI était significativement plus important chez les patientes ayant une baisse de réserve ovarienne comparé à un groupe contrôle ayant une AMH > 2 ng/ml et/ou un CFA > 5 par ovaire [43].

Dans notre étude, nous n'avons pas mis en évidence de corrélation entre le taux d'ovocytes matures et le bilan de réserve ovarienne à savoir la FSH à J3 du cycle, la LH, l'E2 et l'AMH. Or, une étude menée par Child et al. a établi que les taux sériques basaux de FSH et d'E2, entre J2 et J4 du cycle permettaient de prédire le nombre d'OI récupérés et le taux de grossesse chez des femmes soumises à un traitement par maturation *in vitro* (MIV) non stimulé [44]. De même, Mikkelsen et al. ont montré que le taux basal de FSH était également un facteur prédictif négatif de la maturité ovocytaire et ils ont constaté que des taux d'œstradiol supérieur à 55 pg/mL diminuaient de façon significative le taux de grossesse en MIV [45]. Concernant l'AMH, la littérature est controversée. Pour Guerif et al., le taux d'ovocytes matures ne diffère pas en fonction des concentrations sériques de l'AMH [46]. En revanche, pour Jee BC et al., le taux sérique d'AMH le jour du déclenchement semble être étroitement lié au nombre d'OI et pourrait être un bon facteur prédictif négatif de la maturité ovocytaire [47]. Mais selon Dewailly et al., il n'y a pas de lien entre AMH et qualité ovocytaire [48]. A l'heure actuelle, la majorité des études s'intéressant au lien entre l'AMH et la qualité embryonnaire n'a pas démontré de corrélation significative entre les deux [49-52]. Ainsi, si l'AMH est corrélée à la réserve ovarienne sur le plan quantitatif, au niveau qualitatif, elle ne semble pas apporter d'information sur le degré de maturité nucléaire, la compétence au développement des ovocytes et ne permet pas de prédire les chances de grossesses [53]. Concernant le CFA, nous n'avons pas mis en évidence de différence significative dans notre étude. Le diamètre échographique d'un follicule permet de supposer la maturité folliculaire [54] et il a été démontré que la numération des follicules antraux était le facteur prédictif indépendant le plus important du nombre d'ovocytes retrouvés à la ponction ovocytaire [55]. Cependant, Jayaprakasan et al. ont démontré que le nombre de follicules antraux reflétait mieux le statut quantitatif de la réserve

ovarienne, que leur capacité à prédire la qualité ovocytaire, soit le nombre d'ovocytes matures retrouvés à la ponction ovocytaire [56]. A l'inverse, Hsieh et al. rapportent une corrélation entre le CFA et l'issue d'une tentative de FIV. En effet, ils ont observé que les taux de grossesse et d'implantation étaient beaucoup plus bas chez les femmes ayant un CFA inférieur à 4 [57].

b) Paramètres de la stimulation ovarienne contrôlée

1) Dose totale de gonadotrophine

Notre étude a mis en évidence une corrélation négative entre le taux d'ovocytes matures et la dose totale de gonadotrophine reçue par la patiente au cours de la stimulation ovarienne. Certaines études suggèrent que l'utilisation de fortes doses de gonadotrophine est négativement corrélée avec la probabilité de naissance vivante [58-59]. Baker et al. ont montré qu'une dose totale de gonadotrophine supérieure à 3 000 UI était associée à une diminution statistiquement significative du taux de naissance quel que soit le nombre d'ovocytes recueillis [60]. Shavit et al. ont également démontré qu'il y avait d'avantage d'ovocytes matures avec des doses plus faibles de gonadotrophine [61]. De la même façon, une étude réalisée au centre d'AMP de Tenon a révélé également que l'utilisation de faible dose de gonadotrophine est significativement associée à une plus forte proportion d'ovocytes matures [14]. De plus, une autre étude a également retrouvé une proportion plus élevée d'embryons de bonne qualité lors d'une stimulation douce par gonadotrophine [59]. En revanche, Rombauts et al. ont effectué une revue d'études randomisées qui évalue les résultats de la FIV en fonction de la dose de gonadotrophine de départ. Cinq de ces dix études ont mis en évidence un nombre significativement plus important d'ovocytes prélevés avec la dose la plus élevée mais aucune ne montre un avantage concernant le taux de grossesse clinique [62]. Coelho et al. ne trouvaient pas de différence significative sur la proportion d'OI selon la dose de gonadotrophine en comparant une mild stimulation avec une stimulation classique [63]. La mild stimulation ayant pour principe de se rapprocher d'un cycle naturel en utilisant de faibles doses de gonadotrophines (75 à 150 UI) vers le 5ème jour du cycle afin de sélectionner quelques follicules de plus de 15 mm [64]. En outre, il existe un biais dans ces études. En effet, l'augmentation des doses de gonadotrophine est souvent nécessaire chez les mauvaises répondeuses pour lesquelles nous savons que la diminution de la réserve ovarienne est souvent associée à une baisse de la qualité ovocytaire [43].

2. Durée de la stimulation ovarienne contrôlée

Dans la littérature, peu de données concernant l'influence possible de la durée de stimulation sont rapportées. Néanmoins, une étude rétrospective de la Yale University [65] a étudié le taux de grossesses parmi une cohorte de 460 patientes au cours de 555 cycles. Elle a évalué les résultats en fonction du nombre de jours de stimulation, 6 à 9, 10 à 11 et > à 12 jours. Aucune différence significative n'a été mise en évidence concernant les taux de grossesses cliniques et évolutives. L'étude lilloise de 2016 a également retrouvé qu'une forte proportion d'OI pouvait s'expliquer par une durée de stimulation trop courte [31]. Cependant elle conclut à un possible biais pouvant s'expliquer par l'obtention d'un nombre plus important de follicules de petite taille lorsqu'il y a une courte durée de stimulation. Par ailleurs, une stimulation prolongée peut aussi altérer l'issue d'une FIV. En effet, Wirleitner et al. supposent qu'un retard de déclenchement de l'ovulation pourrait réduire les chances de naissance vivante par une diminution du nombre de blastocystes obtenus [66]. Les études de Clark et al. et de Laufer et al. confirment ces résultats [67-68].

3. Protocole de stimulation ovarienne contrôlée et monitoring échographique

Concernant les facteurs de la stimulation ovarienne, il n'y a pas de différence significative en fonction du protocole de stimulation utilisé. A ce jour, il a été clairement démontré dans la littérature que les stimulations ovariennes avec des protocoles antagonistes de la GnRH obtiennent des taux de naissances vivantes similaires à ceux des protocoles long agonistes de la GnRH, et par conséquent, aucun impact sur la qualité des ovocytes n'a été observé [30,69]. Cependant, Baart et al. concluent dans leur étude qu'une stimulation douce se rapproche davantage du mécanisme physiologique avec la sélection de quelques follicules dominants ayant une bonne maturité cytoplasmique à la différence d'une stimulation avec un protocole long agoniste de la GnRH qui recrute certainement trop de follicules, y compris des follicules contenant des ovocytes non compétents sur le plan moléculaire au moment de la ponction ovocytaire [70]. Dans notre analyse, nous n'avons pas montré de corrélation entre le taux d'ovocytes matures et le nombre de follicules > 15mm. En revanche, la littérature précise que le nombre de follicules > 15mm est plutôt en faveur de l'obtention d'un ovocyte mature [10]. En effet, on sait qu'au-delà d'un diamètre folliculaire de 15 mm, on a un pourcentage d'ovocytes matures assez constant. Le seuil critique se situe entre 12 et 14 mm (30% d'ovocytes en métaphase II), et en dessous de 11 mm, il existe très peu d'ovocytes en métaphase II (<10%) [10,11]. Nogueira et al. évoquent la même conclusion dans leur étude. En étudiant les ovocytes selon leur degré de maturation en fonction du diamètre folliculaire, ils retrouvaient de faible taux d'ovocytes matures issus des follicules < 11 mm et estimaient qu'il était

préférable de ne pas les ponctionner [71]. Une étude plus récente menée par Wirleitner et al. a analysé la compétence des ovocytes en ce qui concerne la maturité, le taux de fécondation et de blastocystes et les résultats cliniques (taux de gestation et de naissance vivante) par rapport au volume folliculaire mesuré par échographie 3D et composition du liquide folliculaire. Ils concluent que le volume folliculaire optimal pour un rendement élevé en blastocyste de bonne qualité avec un bon potentiel de naissance vivante est compris entre 13 et 23 mm / 1 à 6 ml. Les ovocytes issus de petits follicules de 8-12 mm / 0,3-0,9 ml ont toujours la capacité de se développer normalement et d'aboutir par la suite à des enfants en bonne santé, ce qui suggère que l'aspiration de ces follicules augmente le nombre de blastocystes par stimulation [66]. Cette étude montre qu'il n'existe pas de biais par le fait d'aspirer les petits follicules lors de la ponction ovocytaire. En effet, dans la littérature, on retrouve deux explications potentielles à la présence d'ovocytes immatures lors du recueil des ovocytes ; tout d'abord, des follicules hétérogènes à différents stades de développement au début de l'hyperstimulation ovarienne conduisant à différents stades de maturation des ovocytes. Puis, en second lieu, l'aspiration de petits follicules à différents stades de maturation pendant la récupération des ovocytes [12]. On peut donc penser qu'idéalement il faut ponctionner le maximum de follicules > 15 mm mais que la ponction des follicules plus petits peut aboutir à des ovocytes matures et donc à des chances de grossesse. De même, l'étude réalisée au centre d'AMP de Tenon montre que des taux élevés d'estradiol avant et après injection d'hCG sont corrélés à un nombre élevé d'ovocytes recueillis en métaphase II [14]. L'étude de Lille a également mis en évidence une corrélation négative significative entre le taux d'estradiol au moment du déclenchement et le taux d'OI [31]. A l'inverse, l'étude de Levy et al. n'a pas retrouvé de différence significative en terme de maturité ovocytaire selon le taux d'estradiol élevé ou non avant le déclenchement de l'ovulation [72]. Par ailleurs, Loumaye et al. a introduit la notion de rapport oestradiolémie/ovocyte comme critère de bonne qualité folliculaire. Il remarquait qu'un rapport < 70 pg/ml était péjoratif en terme de grossesse [73]. Nous n'avons pas mis en évidence de différence significative concernant ce facteur.

Au sein de notre étude, nous n'avons pas étudié le type de déclenchement de l'ovulation comme facteur prédictif car la plupart de nos tentatives ont été déclenchées à l'hCG. Il est cependant intéressant d'évoquer que plusieurs solutions ont été proposées pour remédier à l'augmentation du nombre d'OI dont l'allongement de la période d'exposition de l'ovocyte à l'hCG en augmentant le délai entre d'administration de celui-ci et du prélèvement d'ovocytes. Un groupe israélien a testé l'effet de la variation de l'intervalle entre hCG et la ponction d'ovocytes. Cet

intervalle variait de 33h45 à 38h45. Le taux d'ovocytes matures augmente avec l'intervalle jusqu'à un seuil de 35h puis stagne jusqu'à 38h. Cependant, les taux de grossesse clinique ne sont pas différents [74]. Une méta-analyse a quant à elle retrouvé une maturité ovocytaire significativement plus élevée pour des intervalles de déclenchement longs > 36h avec un OR = 0,67 IC(0,62-0,73). Par contre, il n'y a pas de différence pour les taux de fécondation, les taux d'implantation et les taux de grossesse [75]. D'autres auteurs ont proposé d'augmenter les doses d'hCG administrées pour le déclenchement ou d'effectuer un double déclenchement avec un agoniste de la GnRH (en cas de protocole antagoniste) afin de profiter de l'effet flair-up qui provoque un pic de FSH. L'augmentation empirique de la dose d'hCG jusqu'à 20 000 UI a fait l'objet de case report mais pas d'études avec un bon niveau de preuve [76]. Par contre, l'efficacité du double déclenchement a été documenté par une étude rétrospective réalisée sur 27 cas ayant présenté plus de 25% d'OI [77]. Cette méthode a été confirmée par Zilgerberg et al. pour les patientes ayant un taux d'OI > 33%. Cette étude a montré l'obtention d'un nombre plus important d'ovocytes matures ($p < 0,008$) et un meilleur taux de maturité ovocytaire [78]. Enfin, la méta-analyse de Youssef et al. a montré que l'administration d'hCG pour la maturation ovocytaire était meilleur dans les protocoles antagonistes en ICSI. Néanmoins, l'agoniste de la GnRH est très utile en cas de risque d'hyperstimulation ovarienne [79].

Enfin, Beall et al. ont mis en avant le concept de « syndrome d'échec de maturation des ovocytes », qui signifie la production répétée d'une majorité d'OI. Ce syndrome réduirait le taux de réussite des tentatives de FIV en diminuant le nombre d'ovocytes obtenus. Cependant, la définition de « majorité » n'a pas été donnée. Dans notre étude, le taux d'ovocytes matures à la T1 ICSI et à la T2 ICSI est corrélé. On peut donc penser que certains critères de maturité ovocytaire nous échappent et sont indépendants de la stimulation ovarienne [80]. Levran et al. ont signalé huit cas d'arrêt de maturation d'ovocytes chez des patientes âgées de 25 à 35 ans et ayant échoué à au moins six cycles de procréation assistée [81]. Hourvitz et al. incluaient deux patientes avec arrêt répété des ovocytes en VG et toutes deux avaient une infertilité primaire de 7 ans et au moins trois tentatives infructueuses de FIV [82]. Gulekli et al. ont rapporté que deux patientes présentaient des arrêts répétés de maturation des ovocytes avec des antécédents d'infertilité primaire de 5 à 10 ans et plusieurs échecs de FIV [83]. Le polymorphisme du gène du récepteur à la FSH peut expliquer ces différences. En effet, le génotype du récepteur de la FSH influencerait la sensibilité à la FSH endogène mais également la sensibilité à la FSH exogène. Par exemple, le variant homozygote Ser/Ser est associé à un taux de FSH en début de phase folliculaire plus élevé et à une augmentation de

la durée de la phase folliculaire, ce qui témoignerait d'une moins bonne sensibilité à la FSH chez ces patientes. Ainsi, lors d'une stimulation ovarienne, des doses de gonadotrophines plus importantes sont nécessaires lorsque la patiente est homozygote pour le variant serine [84].

Au total, notre étude a permis de démontrer un lien entre le taux d'ovocytes matures et le taux cumulé de naissance vivante. En revanche, nous n'avons pas pu déterminer un seuil délétère sur l'issue de la tentative. Parmi les facteurs susceptibles d'être prédictifs de la maturité ovocytaire, nous avons identifié la dose totale de gonadotrophine reçue par la patiente au cours de la stimulation ovarienne. Cependant, notre étude a pour limite d'avoir un effectif faible, pouvant diminuer la puissance de l'étude. Malgré nos résultats significatifs, nos facteurs de corrélation sont faibles, et peu de facteurs prédictifs de la maturité ovocytaire ont été retrouvés dans notre étude en comparaison à la littérature.

Face à tout ceci, comment pouvons-nous remédier à l'immaturité ovocytaire?

La maturation *in vitro* (MIV) des ovocytes humains, est une technique plus récente d'AMP et pourrait être intéressante dans l'immaturité ovocytaire après stimulation ovarienne pour FIV. La technique de MIV peut venir au secours de ces ovocytes immatures (« *rescue IVM* ») et donner lieu à des grossesses et à la naissance d'enfants en bonne santé, comme l'a démontré la première naissance d'un enfant issu d'un ovocyte mûré *in vitro* en 1983. D'autres grossesses obtenues dans ce contexte et suivies de naissance ont été publiées [85]. Cependant, la comparaison entre les ovocytes matures et immatures au moment du recueil a montré que ces derniers présentaient un taux de fécondation plus faible [18]. Même en se limitant à des ovocytes qui, au moment du recueil, se trouvaient déjà en métaphase I et qui ont mûré en moins de 4 heures, une équipe bruxelloise a pu observer un taux de fécondation significativement inférieur (52,7 %) à celui obtenu avec les ovocytes matures dès le recueil (70,8 %). De plus, ce travail portant sur 1 210 ovocytes immatures, comparés à 8803 ovocytes matures a également mis en évidence un taux d'implantation nettement plus bas pour les embryons issus des ovocytes mûrés *in vitro* (5,5 %, contre 20 % pour les embryons issus d'ovocytes matures au départ) [17]. De plus, d'autres études ont démontré que les ovocytes matures *in vitro* présentent un développement embryonnaire anormal, avec des blocages ou des retards de développement plus fréquents, ou encore un taux de FCS plus élevé [12, 85-88]. C'est pourquoi, actuellement, cette alternative n'est pas pratiquée dans les centres d'AMP.

CONCLUSION

Notre étude révèle que la maturité ovocytaire a un impact sur l'ensemble de la cohorte d'ovocytes ponctionnés, et par conséquent, sur les taux de fécondation, de développement embryonnaire, de congélation des embryons et sur le taux cumulé de naissance vivante. Nous n'avons pas établi de seuil à partir duquel le taux de naissance vivante est impacté par le taux d'ovocytes matures mais notre étude suggère qu'en dessous de 70% d'ovocytes matures, le taux cumulé de naissance diminue fortement. Les données de la littérature sur ce sujet sont rares. Ainsi, une étude de plus grande ampleur pourrait être réalisée afin de mieux expliquer la maturité ovocytaire et afin de définir en particulier un seuil à partir duquel la maturité ovocytaire impacterait sur le taux cumulé de naissance vivante.

Notre étude montre également que la dose totale de gonadotrophine reçue au cours de la stimulation ovarienne est un facteur prédictif négatif de la maturité ovocytaire et que le taux d'ovocytes matures à la T1 ICSI est corrélé positivement à celui de la T2 ICSI. Ainsi d'autres paramètres semblent impliqués dans la maturation ovocytaire. De plus en plus d'équipe de médecine de la reproduction s'intéresse à ce sujet afin d'approfondir nos connaissances et d'améliorer nos résultats en ICSI.

ANNEXE 1

REGISTRE NATIONAL DES FIV

Note d'information à l'attention des couples

Vous avez décidé de recourir à la technique de la fécondation in vitro (FIV) pour avoir un enfant.

En France, chaque année, environ 35 000 couples bénéficient de cette technique et 11 000 enfants voient ainsi le jour.

L'Agence de la biomédecine, établissement public administratif sous la tutelle du ministère de la santé, a été chargée par la loi d'évaluer les conséquences des activités de l'assistance médicale à la procréation sur la santé des personnes qui y ont recours et sur celle des enfants qui en sont issus. Ainsi, pour mieux comprendre les facteurs de réussite ou d'échec des fécondations in vitro et pour identifier les conséquences éventuelles des pratiques actuelles sur la santé, des statistiques doivent être établies et des études spécifiques doivent être menées. Elles permettent d'identifier des pistes d'amélioration des résultats de l'activité de fécondation in vitro pour l'avenir.

Pour réaliser ces études et assurer ce suivi, l'Agence de la biomédecine, avec l'autorisation de la CNIL¹, autorité administrative indépendante, a mis en place un **recensement national des tentatives de FIV**. Celui-ci a pour objet d'enregistrer toutes les tentatives de fécondation in vitro et comporte des données sur vos antécédents médicaux et chirurgicaux, le déroulement de la ou des tentatives de FIV, le déroulement et l'issue des grossesses et l'état de santé des enfants à la naissance. Ces informations sont celles qui sont habituellement recueillies pour votre dossier médical. **N'hésitez pas à en demander le détail à votre médecin.**

Pour retracer le parcours de soins suivi par une personne, d'un centre à un autre et éviter les doublons, il est nécessaire de recueillir des données nominatives :

- Vos nom patronymique (de naissance), prénom(s) et nom marital (d'usage)
- Votre date de naissance
- Votre pays et code postal de résidence
- Les numéros de dossier médical et biologique dans les établissements clinique et biologique où est réalisée la FIV.

Dans la mesure où les données recueillies sont relatives à votre santé ou à celle des enfants naissant à la suite de votre recours à la FIV, votre nom ne peut figurer dans le registre national que si vous y consentez expressément. A défaut, les données recueillies seront totalement anonymisées.

En cas de recueil de données nominatives, conformément à la loi informatique et libertés, vous disposez d'un droit d'accès, de rectification et d'opposition qui peut s'exercer à tout moment en adressant une demande au centre dans lequel vous avez réalisé la FIV et/ou au correspondant informatique et liberté (CIL) de l'Agence de la biomédecine, cil@biomedecine.fr.

L'Agence de la biomédecine a mis en œuvre toutes les mesures nécessaires à la protection des données et au respect de la confidentialité. En particulier, des mesures de sécurité informatique ont été prises et seules les personnes **chargées de la gestion du fichier, du contrôle de qualité et de la sécurité des données**, dûment autorisées par le directeur général de l'Agence, pourront avoir accès aux informations nominatives, et uniquement lorsque cela s'avèrera indispensable. Autrement dit, l'exploitation statistique des données est réalisée sur des données entièrement anonymisées et les données nominatives ne sont en aucun cas transmises à d'autres organismes.

Il est possible que, dans l'avenir, vous soyez sollicité(e) pour participer à des études spécifiques complémentaires. Il vous appartiendra alors, le cas échéant, d'indiquer si vous consentez à cette participation.

Nous vous remercions par avance de contribuer ainsi à ces travaux de recherche et d'évaluation des techniques médicales et à l'amélioration des pratiques et des résultats de cette activité.

Signature des 2 membres du couple précédée de la mention " Lu et approuvé"

Madame

Monsieur

BIBLIOGRAPHIE

1. Rossin B, Amar-Hoffet A, Melone C, Berdah N. Epidémiologie de la fertilité, *Journal Gynécologie & Obstétrique Pratique*, 25 octobre 2017
2. Site fiv.fr, rubriques la Fiv et déroulement d'une FIV
3. Clément P. Consequences of stimulation on oocyte quality. *Gynécologie Obstétrique Fertil.* 2007 ; 35(9) :890–897
4. Kwang-Yul Cha and Ri-Cheng Chian. Maturation in vitro of immature human oocytes for clinical use. *Human Reproduction Update.*1998; 4(2) : 103–120
5. Site fivfrance.com, rubrique traitements et protocoles, principaux protocoles en AMP
6. Feuerstein P, Cadoret V, Dalbies-Tran R, Guérif F, Royère D. Le dialogue ovocyte–cumulus. *Gynécologie Obstétrique Fertil.* 2006 Sep;34(9):793–800
7. Site ebiologie.fr, rubriques la reproduction sexuée : ovogenèse et folliculogenèse
8. Hazout A. Développement folliculaire ovarien induit : bases théoriques et applications thérapeutiques. *Contracept. Fertil.* 1999 ; 27(3) :203-209
9. Lin Y, Puyu Y, Yanrong C, Jinliang Z, Xinyu Z, Caihong M. Factors inducing decreased oocyte maturation rate: a retrospective analysis of 20,939 ICSI cycles. *Archives of Gynecology and Obstetrics.* 4 July 2018. <https://doi.org/10.1007/s00404-018-4958-3>
10. Royère D. Maturation ovocytaire : peut-on définir la compétence d'un ovocyte ? *Journal Gynecol Obstet Biol Reprod.* 2006 ; 35 (Cahier 2) : 2S8-2S13
11. Scott RT, Hofmann GE, Muasher SJ, Acosta AA, Kreiner DK, Rosenwaks Z. Correlation of follicular diameter with oocyte recovery and maturity at the time of transvaginal follicular aspiration. *J in vitro Fert Embryo Transf.* 1989; 6: 73-5
12. Ko DS, Lee S-H, Park D-W, Yang KM, Lim CK. Pregnancy and fertilization potential of immature oocytes retrieved in intracytoplasmic sperm injection cycles. *Clin Exp Reprod Med.* 2015 Sep;42(3):118–25
13. Shin SB, Cho JW, Lee S-H, Yang KM, Lim CK, Lee H-S. Fertilization and pregnancy potential of immature oocytes from stimulated intracytoplasmic sperm injection cycles. *Clin Exp Reprod Med.* 2013 Mar;40(1):7–11

14. D'après la communication de J-M, Fiori O, Mandelbaum J. Peut-on prévoir la qualité ovocytaire par la qualité de la réponse? *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 2006;35(cahier2): 2S47-2S48
15. Yuechao LU et al. Patients with a high proportion of immature and meiotically resistant oocytes experience defective nuclear oocyte maturation patterns and impaired pregnancy outcomes. *Reproductive BioMedicine Online*, 2017. S1472-6483(18)30037-3
16. Chen SU, Ho HN, Chen HF, Huang SC, Lee TY, Yang YS (1996): Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) for severe semen abnormalities: dissecting the tail of spermatozoa at the tip. *Hum Reprod* 11:2640–2644
17. De Vos A, Van de Velde H, Joris H, Van Steirteghem A. In-vitro matured metaphase-I oocytes have a lower fertilization rate but similar embryo quality as mature metaphase-II oocytes after in- tracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1999;14:1859-63
18. Junca AM, Mandelbaum J, Belaisch-Allart J, Salat-Baroux J, Plachot M, Antoine JM, et al. Oocyte maturity and quality: value of intra- cytoplasmic sperm injection. Fertility of microinjected oocytes after in vitro maturation. *Contracept Fertil Sex* 1995;23:463-5
19. McAvey B, Zapantis A, Jindal SK, Lieman HJ, Polotsky AJ. How many eggs are needed to produce an assisted reproductive technology baby: is more always better? *Fertil Steril.* 2011;96(2):332–335
20. World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. Geneva, Switzerland: WHO Press; 2010.
21. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2004;81(1):19-25
22. Fréour T, Barrière P. Place actuelle de la réserve ovarienne dans le bilan et la prise en charge d'une infertilité. 35^{ème} journée nationale CNGOF. 2011;19-37
23. Rock JA, Zoladex Endometriosis Study Group. The revised American Fertility Society classification of endometriosis: reproducibility of scoring. *Fertile Steril.* 1995;63(5): 1108-1110
24. El-Toukhy T, Coomarasamy A, Khairy, M, Sunkara, K, Seed, P, Khalaf, Y, Braude P. The relationship between endometrial thickness and outcome of medicated frozen embryo replacement cycles. 2008. *Fertil. Steril.* 89, 832–839

25. Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. 2011. *Human Reproduction*, 26(6) ;1270–1283
26. Ciray HN, Campbell A, Agerholm IE, Aguilar J, Chamayou S; Time-Lapse User Group. Proposed guidelines on the nomenclature and annotation of dynamic human embryo monitoring by a time-lapse user group. *Hum Reprod*. 2014 Dec;29(12):2650-60
27. Van Royen E, Mangelschots K, De Neubourg D, Valkenburg M, Van de Meerssche M, Ryckaert G, et al. Characterization of a top quality embryo, a step towards single-embryo transfer. *Hum Reprod Oxf Engl*. 1999 Sep;14(9):2345–9
28. Bar-Ami S, Zlotkin E, Brandes JM, Itskovitz-Eldor J. Failure of meiotic competence in human oocytes. *Biol Reprod*. 1994;50(5):1100–1107
29. Halvaei I, Ali Khalili M, Razi MH, Nottola SA. The effect of immature oocytes quantity on the rates of oocytes maturity and morphology, fertilization, and embryo development in ICSI cycles. *J Assist Reprod Genet*. 2012 Aug;29(8):803–10
30. Hill GA, Freeman M, Bastias MC, Rogers BJ, Herbert CM 3rd, Osteen KG, Wentz AC. The influence of oocyte maturity and embryo quality on pregnancy rate in a program for in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril*. 1989 Nov;52(5):801-6
31. Bardiaux L. Immaturité ovocytaire : analyse de 1017 tentatives de FIV-ICSI au Centre Hospitalier Régional et Universitaire de Lille. Thèse - Médecine. Université Lille;2016,1-26
32. Kok JD, Looman CWN, Weima SM, Velde ER. A high number of oocytes obtained after ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection is not associated with decreased pregnancy outcome. *Fertil Steril*. 2006;85(4):918–924
33. Wittemer C, Ohl J, Bettahar-Lebugle K, Viville S, Nisand I. A quantitative and morphological analysis of oocytes collected during 438 IVF cycles. *J Assist Reprod Genet*. 2000;17(1):44–50
34. Polyzos NP, Drakopoulos P, Parra J, Pellicer A, Santos-Ribeiro S, Tournaye H, Bosch E, Garcia-Velasco J. Cumulative live birth rates according to the number of oocytes retrieved after the first ovarian stimulation for in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection: a multicenter multinational analysis including 15,000 women. *Fertil Steril*. 2018;110(4): 661-670

35. Zhou J, Wang B, Hu Y, Sun H. Association between the number of oocytes retrieved and cumulative live birth rate in women aged 35–40 years undergoing long GnRH agonist IVF/ICSI cycles. *Gynecologic endocrinology and reproductive medicine*. 2017; 4503-9
36. Cha KY et al. In vitro fertilization using immature follicular oocytes harvested from ovarian tissue. *Progress in Infertility*. 1992; 7:99–112.
37. Moore et al. Oocyte maturation arrest more common in younger patients undergoing IVF/ICSI. *Fertil Steril*. 2007 Jul;S271
38. Lee HJ, Jee BC, Suh CS, Kim SH, Moon SY. Oocyte maturity in relation to woman's age in in vitro fertilization cycles stimulated by single regimen. *Yonsei Med J*. 2012 Jan;53(1):181–185.
39. Lenoble C, Guibert J, Lefebvre G, Dommergues M. Influence du poids sur les taux de succès en fécondation in vitro. *Gynécologie Obstétrique Fertil*. 2008 Sep;36(9):940–4.
40. Chaouache N, Ajina M, Gaddas M, Miled A, Tabka Z, Zbidi A, et al. Effets de l'hyperlipidémie sur la qualité embryonnaire et les résultats de la fécondation in vitro chez des femmes tunisiennes infertiles. *Nutr Clin Métabolisme*. 2015 Sep;29(3):140–6.
41. Mendes-Pereira et al. Outcome of ICSI cycles in patients with polycystic ovary syndrome and in normo-ovulatory women, *Fertil Steril*. 2006 Jul;S459
42. Sigala J, Sifer C, Dewailly D, Robin G, Bruyneel A, Ramdane N, et al. Is polycystic ovarian morphology related to a poor oocyte quality after controlled ovarian hyperstimulation for intracytoplasmic sperm injection? Results from a prospective, comparative study. *Fertil Steril*. 2015 Jan;103(1):112–8
43. Boucret L, Chao de la Barca JM, Morinière C, Desquret V, Ferré-L'Hôtelier V, Descamps P, et al. Relationship between diminished ovarian reserve and mitochondrial biogenesis in cumulus cells. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2015 Jul;30(7):1653–64
44. Child TJ, Sylvestre C, Pirwany I, Tan SL. Basal serum levels of FSH and estradiol in ovulatory and anovulatory women undergoing treatment by in-vitro maturation of immature oocytes. *Hum Reprod*. 2002;17(8):1997-2002

45. Mikkelsen AL, Andersson AM, Skakkebaek NE and Lindenberg S. Basal concentrations of oestradiol may predict the outcome of in-vitro maturation in regularly menstruating women. *Hum Reprod.* 2001;16, 862–867
46. Guerif F, Lemseffer M, Couet M-L, Gervereau O, Ract V, Royère D. Serum antimüllerian hormone is not predictive of oocyte quality in vitro fertilization. *Ann Endocrinol.* 2009 Sep; 70(4):230–4 Site guide-de-l-infertilite.fr, rubriques infertilité et stérilité, la femme et l'infertilité, l'insuffisance ovarienne
47. Jee BC, Ku SY, Suh CS, Kim KC, Lee WD, Kim SH. Serum anti-Müllerian hormone and inhibin B levels at ovulation triggering day can predict the number of immature oocytes retrieved in in vitro fertilization cycles. *J Korean Med Sci.* 2008;23(4):657–661
48. Dewailly D. Le dosage d'AMH peut-il prédire la réponse ovarienne et la qualité ovocytaire? *Gynécologie Obstétrique Fertil.* 2008 Dec;36:4–5
49. Smeenk MJ, Sweep FCGJ, Zielhuis GA, Kremer JAM, Thomas CMG, Braat DDM. Antimüllerian hormone predicts ovarian responsiveness, but not embryo quality or pregnancy, after in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 2007 Jan;87(1):223–6
50. Wunder DM, Guibourdenche J, Birkhäuser MH, Bersinger NA. Anti-Müllerian hormone and inhibin B as predictors of pregnancy after treatment by in vitro fertilization/ intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 2008 Dec;90(6):2203–10
51. Ebner T, Sommergruber M, Moser M, Shebl O, Schreier-Lechner E, Tews G. Basal level of anti-Müllerian hormone is associated with oocyte quality in stimulated cycles. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2006 Aug;21(8):2022–6
52. Takahashi C, Fujito A, Kazuka M, Sugiyama R, Ito H, Isaka K. Anti-Müllerian hormone substance from follicular fluid is positively associated with success in oocyte fertilization during in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2008 Mar;89(3):586–91
53. Broer SL, Mol BWJ, Hendriks D, Broekmans FJM. The role of antimüllerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count. *Fertil Steril.* 2009 Mar;91(3):705–14

54. Salama S, Torre A, Paillusson B, Thomin A, Ben Brahim F, Muratorio C, Bailly M, Wainer R. Ovarian stimulation monitoring: past, present and perspective. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*. 2001aug; 39(4):245-254
55. Child TJ, Gulekli B and Tan SL. Success during in-vitro maturation (IVM) of oocyte treatment is dependent on the numbers of oocytes retrieved which are predicted by early follicular phase transvaginal ultrasound measurement of the antral follicle count and peak ovarian stromal blood flow velocity. *Hum. Reprod*. 2001;16:41
56. Jayaprakasan K, Deb S, Batcha M, Hopkisson J, Johnson I, Campbell B, Raine-Fenning N. The cohort of antral follicles measuring 2–6 mm reflects the quantitative status of ovarian reserve as assessed by serum levels of anti-Müllerian hormone and response to controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril*. 2010;94(5):1775–1781
57. Hsieh Y et al. Antral follicle counting in predicting the retrieved oocyte number after ovarian hyperstimulation. *J Assist Reprod Genet*. 2001 Jun;18(6):320-4
58. Webb R, Garnsworthy PC, Campbell BK, Hunter MG. Intra-ovarian regulation of follicular development and oocyte competence in farm animals. *Theriogenology* 2007;68:22–29
59. Bosch E, Labarta E, Kolibianakis E, Rosen M, Meldrum D. Regimen of ovarian stimulation affects oocyte and therefore embryo quality. *Fertil Steril*. 2016 Mar;105(3):560–70
60. Baker VL, Brown MB, Luke B, Smith GW, Ireland JJ. Gonadotropin dose is negatively correlated with live birth rate: analysis of more than 650,000 assisted reproductive technology cycles. *Fertil Steril*. 2015 Nov;104(5):1145–52
61. Shavit T, Shalom-Paz E, Samara N, Aslih N, Michaeli M, Ellenbogen A. Comparison between stimulation with highly purified hMG or recombinant FSH in patients undergoing IVF with GnRH antagonist protocol. *Gynecol Endocrinol Off J Int Soc Gynecol Endocrinol*. 2016 Mar 3;1–5
62. Rombauts L. Is there a recommended maximum starting dose of FSH in IVF? *J Assist Reprod Genet*. 2007;24(8):343-9
63. Coelho F, Aguiar LF, Cunha GSP, Cardinot N, Lucena E. Comparison of results of cycles treated with modified mild protocol and short protocol for ovarian stimulation. *Int J Reprod Med*. 2014;2014:367474

64. Qu'est-ce que la *mild stimulation* ?What is mild stimulation?Merviel P, Lourdel E, Cabry R, Boulard V, Scheffler F, Dupond S, Lombart M, Marc C. Gynécologie Obstétrique & Fertilité. 2012; 40 (9):467-471
65. Martin JR, Mahutte NG, Arici A, Sakkas D. Impact of duration and dose of gonadotrophins on IVF outcomes. Reprod Biomed Online. 2006 Nov;13(5):645-50
66. Wirleitner B, Okhowat J, Vištejnova L, Králíčková M, Karlíkova M, Vanderzwalmen P, Ectors F, Hradecky L, Schuff M, Murtinger M. Relationship between follicular volume and oocyte competence, blastocyst development and live-birth rate: optimal follicle size for oocyte retrieval. 2018 (Article accepté non publié pour le moment)
67. Clark L, Stanger J, Brinsmead M. Prolonged follicle stimulation decreases pregnancy rates after in vitro fertilization. Fertil Steril 1991;55:1192-1194
68. Laufer N, DeCherney AH, Tarlatzis BC, Zuckerman AL, Polan ML, Dlugi AM, Graebe R, Barnea ER, Naftolin F. Delaying human chorionic gonadotropin administration in human menopausal gonadotropin-induced cycles decreases successful in vitro fertilization of human oocytes. Fertil Steril 1984;42:198-203
69. Al-Inany HG, Youssef MA, Aboulghar M, Broekmans F, Sterrenburg M, Smit J, et al. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology. Cochrane Database Syst Rev 2011:CD001750
70. Baart E, Martini E, Eijkemans M, Van Opstal D, Beckers N, Verhoeff A, et al. Milder ovarian stimulation for in-vitro fertilization reduces aneuploidy in the human preimplantation embryo: a randomized controlled trial. Hum Reprod. 2007;22:980–8
71. Nogueira D, Friedler S, Schachter M, Raziel A, Ron-El R, Smitz J. Oocyte maturity and preimplantation development in relation to follicle diameter in gonadotropin-releasing hormone agonist or antagonist treatments. Fertil Steril. 2006 Mar;85(3):578–83
72. Loumaye E, Engrand P, Howles C, O’dea L. Assessment of the role of serum luteinizing hormone and estradiol response to follicle-stimulating treatment outcome. fertility and sterility. 1997; 67(5):889-899

73. Levy G, Hill M, Beall S, Pilgrim JD, Payson M, Propst A. Falling estradiol levels on day after human chorionic gonadotropin administration in assisted reproductive technology cycles are not predictive of decreasing oocyte maturity or pregnancy rates. *J Reprod Med.* 2014;59(5-6):255-9
74. Weiss A, Neril R, Geslevich J, Lavee M, Beck-Fruchter R, Golan J, et al. Lag time from ovulation trigger to oocyte aspiration and oocyte maturity in assisted reproductive technology cycles: a retrospective study. *Fertil Steril.* 2014 Aug;102(2):419–23
75. Wang W, Zhang XH, Wang WH. The time interval between hCG priming and oocyte retrieval in ART program: a meta-analysis. *J Assist Reprod Genet.* 2011; 28(10):901-10
76. Delvigne A. Comment améliorer les résultats d'une tentative de fécondation *in vitro* en changeant la stimulation ovarienne? *Gynecol Obstet.* 2016;17(1):79-86
77. Griffin D, Feinn R, Engmann L, Nulsen J, Budinetz T, Benadiva C. Dual trigger with gonadotropin-releasing hormone agonist and standard dose human chorionic gonadotropin to improve oocyte maturity rates. *Fertile Steril.* 2014;102(2):405-9
78. Zilberberg E, Haas J, Dar S, Kedem A, Machtinger R, Orvieto R. Co-administration of GnRH-agonist and hCG, for final oocyte maturation (double trigger), in patients with low proportion of mature oocytes. *Gynecol Endocrinol Off J Int Soc Gynecol Endocrinol.* 2015 Feb;31(2):145–7
79. Youssef M, Abdelmoty HI, Ahmed MAS, Elmohamady M. GnRH agonist for final oocyte maturation in GnRH antagonist co-treated IVF/ICSI treatment cycles: Systematic review and meta-analysis. *J Adv Res.* 2015 May;6(3):341–9
80. Beall S, Brenner C, Segars J. Oocyte maturation failure: a syndrome of bad eggs. *Fertil Steril.* 2010;94(7):2507–2513
81. Levran D, Farhi J, Nahum H, Glezerman M, Weissman. Maturation arrest of human oocytes as a cause of infertility: case report. *Hum Reprod.* 2002 ; 17(6):1604–1609
82. Hourvitz A, Maman E, Brengauz M, Machtinger R, Dor J. In vitro maturation for patients with repeated in vitro fertilization failure due to “oocyte maturation abnormalities”. *Fertil Steril.* 2010; 94(2):496–501

83. Gulekli B, Olgan S, Aydiner F. In vitro oocyte maturation from unstimulated cycles: does it offer a realistic chance to overcome the problem of repeated oocyte maturation arrest in IVF? *Arch Gynecol Obstet.* 2011; 283(Suppl 1):133–134
84. Théron-Gérard L, Pasquier M, Czernichow C, Cédric-Durnerin I, Hugues J.N. Polymorphisme du gène du récepteur de la FSH et fonction ovarienne. *Gynécologie Obstétrique & fertilité.* 2007;35(2):135-141
85. Forges T, Monnier-barbarino P. La maturation ovocytaire in vitro : intérêts, indications, résultats. *CNGOF.* 2005; tome 29:225-253
86. Shu Y, Gebhardt J, Watt J, Lyon J, Dasig D, Behr B. Fertilization, embryo development, and clinical outcome of immature oocytes from stimulated intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertil Steril* 2007;87:1022-7
87. Alvarez C, Garcia-Garrido C, Taronger R, Gonzalez de Merlo G. In vitro maturation, fertilization, embryo development & clinical outcome of human metaphase-I oocytes retrieved from stimulated intracytoplasmic sperm injection cycles. *Indian J Med Res* 2013;137:331-8
88. Lanzendorf SE, Zelinski-Wooten MB, Stouffer RL, Wolf DP. Maturity at collection and the developmental potential of rhesus monkey oocytes. *Biol Reprod* 1990;42:703-11
89. Vanhoutte L, De Sutter P, Van der Elst J, Dhont M. Clinical benefit of metaphase I oocytes. *Reprod Biol Endocrinol* 2005;3:71

RESUME

Introduction :

Les ovocytes immatures représentent 10 à 20% minimum du nombre total des ovocytes récupérés à la ponction ovocytaire en ICSI. Seuls les ovocytes matures peuvent être micro-injectés en ICSI et potentiellement évoluer vers un embryon. L'objectif principal de l'étude a été d'évaluer l'impact de la maturité ovocytaire sur le taux cumulé de naissance vivante en ICSI et de déterminer les facteurs prédictifs de la maturité ovocytaire.

Méthodes :

Il s'agit d'une étude rétrospective, monocentrique, menée au sein du centre d'Assistance Médicale à la Procréation (AMP) du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Rouen entre le 1^{er} janvier 2015 et 1^{er} mars 2017, incluant des couples en parcours d'infertilité primaire ou secondaire ayant bénéficié d'une (T1) ou de deux tentatives complètes (T1+T2) d'ICSI incluant aussi les tentatives de transferts d'embryons congelés (TEC) issus de ces tentatives d'ICSI. Au total, 188 couples ont été inclus dans cette étude ayant bénéficié de 356 cycles d'ICSI. Les caractéristiques basales cliniques et biologiques des patientes, les paramètres biologiques et les issues des tentatives d'ICSI, incluant les informations sur la stimulation de l'ovulation ont été recueillies et analysées.

Résultats :

Les 356 cycles d'ICSI ont abouti à 306 cycles de transferts d'embryons frais (TEF) et 50 cycles de transferts d'embryons congelés. Le taux d'ovocytes matures est corrélé positivement au taux cumulé de naissance vivante ($p=0,0063$), au taux de fécondation ($p<0,0001$), au taux de développement embryonnaire ($p=0,0222$), et au taux de congélation ($p=0,0012$). Le taux d'ovocytes matures à la T1 ICSI est corrélé positivement au taux retrouvé lors de la T2 ICSI ($p<0,0001$). La dose totale de gonadotrophine reçue par la patiente au cours de la stimulation ovarienne est un facteur prédictif négatif de maturité ovocytaire ($p=0,0472$). Enfin, notre étude suggère qu'en dessous de 70% d'ovocytes matures, le taux cumulé de naissance vivante diminue fortement.

Conclusion :

La maturité ovocytaire a un impact sur l'ensemble de la cohorte d'ovocytes ponctionnés, et par conséquent, sur les taux de fécondation, de développement embryonnaire, de congélation et sur le taux cumulé de naissance vivante. La dose totale de gonadotrophine reçue par la patiente est un facteur prédictif négatif de la maturité ovocytaire.

Mots clés : ICSI / Maturité ovocytaire/ Taux cumulé de naissance vivante