

Faculté de Médecine

Année 2020 – Thèse N° 2020-111

**Facteurs prédictifs d'échec de fécondation en Fécondation In Vitro classique et en
Fécondation In Vitro avec injection intracytoplasmique de spermatozoïde :
Résultats d'une étude rétrospective au CHU d'Amiens.**

Thèse de Doctorat en Médecine

Soutenue publiquement le 22 septembre 2020 pour l'obtention du diplôme d'Etat de Docteur
en médecine en Gynécologie Médicale.

Par HIOLET Marjolaine

Sous la direction du Docteur LUISIN Marion

Président du Jury : Monsieur le Professeur COPIN Henri

Membres du Jury : Monsieur le Professeur GONDRY Jean
Monsieur le Professeur BEN KHALIFA Moncef
Madame le Docteur CABRY-GOUBET Rosalie

A mon président du jury,

Monsieur le Professeur Henri COPIN,
Professeur des Universités – Praticien Hospitalier
Histologie – Embryologie – Cytogénétique
Chef du service de Médecine et Biologie de la Reproduction et CECOS de Picardie
Pôle « Femme-Couple-Enfant »
Responsable de l'UF de Cytogénétique du Laboratoire de Génétique Constitutionnelle
Pôle « Biologie-Pharmacie et Santé des Populations »
Chevalier dans l'Ordre des Palmes Académiques

*Vous me faites l'honneur de présider ma soutenance de thèse.
Je vous adresse mes sincères remerciements et ma profonde reconnaissance.*

A mes juges,

Monsieur le Professeur Jean GONDRY

Professeur des Universités - Praticien Hospitalier (Gynécologie et Obstétrique)

Chef du service de Gynécologie-Obstétrique-Orthogénie

Pôle « Femme-Couple-Enfant »

*Vous me faites l'honneur de juger mon travail et de participer à ce jury de thèse.
J'ai pu bénéficier au cours de ces années de votre enseignement universitaire et de la
richesse de vos connaissances cliniques.
Soyez assuré de ma reconnaissance et de mon profond respect.*

Monsieur le Professeur Moncef BEN KHALIFA
Professeur des Universités – Praticien Hospitalier
Biologie et Médecine du développement et de la Reproduction

*Dont les thèmes de recherche ont fortement inspiré cette thèse.
Vous me faites l'honneur de juger mon travail.
Soyez assuré de ma reconnaissance pour votre temps et vos conseils avisés à propos de la
méthodologie et des fondements de cette étude.*

Madame le Docteur Rosalie CABRY-GOUBET
Maitre de Conférences des Universités – Praticien Hospitalier
Histologie et Embryologie
Médecine et Biologie de la Reproduction et CECOS de Picardie
CHU Amiens-Picardie, Centre de Biologie Humaine

*Merci de m'avoir accueilli sept mois au sein de votre service de médecine et biologie de la
reproduction.
Vous me faites l'honneur de siéger au sein de mon jury de thèse aujourd'hui.
Soyez assurée de ma sincère reconnaissance et de tous mes remerciements.*

A ma directrice,

Madame le Docteur Marion LUISIN

Praticien Hospitalier – Contractuel en Gynécologie-Obstétrique

Service de Gynécologie-Obstétrique

CHU Amiens-Picardie

Tu m'as fait l'honneur de m'encadrer tout au long de ce travail. Merci pour la confiance que tu m'as accordée en acceptant de diriger cette thèse.

Merci pour ta gentillesse, ta disponibilité, et pour tes nombreux encouragements.

Ce fut un immense plaisir de travailler avec toi au cours de mon internat, merci pour la formation théorique et pratique dont j'ai pu profiter au cours de mes semestres à tes côtés.

J'espère pouvoir me montrer à la hauteur de ta rigueur et de tes enseignements dans ma pratique future.

Remerciements :

A ma tendre famille,

A ma maman, qui a toujours été là. Sans toi tout ça n'aurait jamais été possible. Merci pour ton soutien, tes bons petits plats réconfortants et ta présence.

A ma sœur d'amour, qui a toujours cru en moi depuis le début de mes études.

A ma petite nièce Zoé, rayon de soleil de chaque instant, et tornade à ses heures perdues !

A mes grands-parents adorés toujours présents au cours de ces années, de près, ou d'un peu plus loin.

A mes (incroyables) collègues,

A Marie-Laure & Clémence, quelle chance d'avoir croisé votre chemin en deuxième semestre ! Vous êtes devenues en si peu de temps tellement plus que des co-internes... Merci de m'avoir permis d'en arriver là aujourd'hui, grâce à votre soutien précieux, et votre bienveillance. Merci de m'avoir toujours tiré vers le haut.

A tous les moments déjà partagés, et à tous ceux à venir encore bien plus nombreux. Je ne vous remercierai jamais assez d'être aussi géniales ! MERCI MERCI MERCI.

A mes supers co-internes, dont certains sont devenus chef depuis, Nouria, Amaury, Betty... Qui m'ont tant appris, et qui ont toujours été au bout du téléphone en cas de besoin.

A Cendrine, pour ta bonne humeur, ton soutien, et pour tout ce que tu m'as appris au cours de mes semestres d'obstétrique. Et à ce semestre inoubliable à Beauvais, où j'ai tant appris grâce à toi.

A François, sans qui la RCP du CHU n'aurait pas été ce qu'elle était, qui m'a tant appris, et qui m'accompagnait il n'y a pas si longtemps encore, à ma toute première consultation d'interne... Merci pour tout.

A Julie & Pierre, pour votre gentillesse, votre bonne humeur, et pour tous les bons moments dans cette région d'adoption, que vous avez presque réussi à me faire aimer. Quelle chance de vous avoir rencontré.

A Marie D, rencontrée au cours d'un stage hors filière, qui a été aux premières loges de tous les rebondissements de cette thèse, et qui a toujours été là, autour d'un brunch, d'un verre, ou d'une partie de Unlock. A ta bonne humeur sans faille. Merci pour ton soutien, et tes œufs mollets parfaits.

A Marie C, meilleure externe de tout mon internat, merci pour tous ces bons moments en stage, ces fous rires, pour ta bienveillance et ton soutien. A tous les moments à venir, encore meilleurs !

Au trio exceptionnel de chef de clinique et assistant rencontré au CHU, Camille, Marion et Arthur, pour tout ce que vous m'avez appris, pour votre temps précieux, votre patience, votre bonne humeur, et votre rigueur. Mille mercis ne suffiront jamais...

A Manon, rayon de soleil de la Réunion, pour ce confinement au labo de PMA. Merci d'avoir ensoleillé mon semestre et pour tout ce que tu m'as appris en bio.

A Elodie L, pour ta gentillesse et tout le temps passé... Merci pour tous tes conseils pour l'aboutissement de ce travail.

A Florence S, merci pour ton temps précieux, tes conseils, et ton aide pour les statistiques.

A mes collègues, partenaires de déjeuner, et parfois même de voyage à l'autre bout du monde, Ludivine, Audrey, Christelle et Laure, grâce à qui le quotidien à l'hôpital était plus doux.

A tout le service de Gynécologie-obstétrique du CHU d'Amiens.

A tout le service de Gynécologie-obstétrique du CH de Beauvais.

A tout le service de PMA du CHU d'Amiens.

A toutes les internes de gynéco, croisées pendant mes stages d'externat en Bourgogne, qui m'ont donné le goût de cette superbe spécialité.

A mes amis,

A mes truites adorées, Amélie, Lucie, Mélodie, Emma, Maud, Margot, Liliana, présentes depuis toujours, et ce, malgré la distance.

A Émilie, mon amie de toujours, pour ces 17 belles années à tes côtés.

A Anne-Laure, binôme depuis la première année de Médecine. Partageuse de coups de mou, de fous rires, de pâtes au pesto & de déjeuner à la Causerie des Mondes. Merci pour ton soutien sans faille, ta bonne humeur, et ton optimisme.

A Olivia, pour toutes tes attentions, petites et grandes au cours de ces longues années d'études, pour tous ces moments partagés de déconnexion totale en France, à la Réunion et partout en Europe, et pour toutes tes ondes positives depuis déjà 8 ans.

A Alexia, sans qui la D4 n'aurait jamais été si cool ! Merci du fond du cœur d'avoir toujours cru en moi.

A Johanna, à tous ces chouettes moments passés ensemble, et à tous ceux encore à venir je l'espère.

A ma lapine d'Amour, ma Jeannette pour toutes ces belles années à tes côtés à Dijon.

A Agathe, pour ces bons moments à tes côtés dans notre jolie cité de la gastronomie, pour ton soutien, tes encouragements, ta bienveillance de chaque instant et ta douceur.

A Héloïse, à nos rencards post dîner au foyer pour travailler, à tous ces litres de tisane « nuit tranquille » bu et aux kilos de chocolat noir engloutis.

A Virginie, petit bouchon, déjà néo-interne, pour toutes ces années d'études partagées, pour ton soutien et ta confiance.

Aux dijonnais(es), Alexandre D, Lila B, Manon M, Lorraine S, Melissa S, Clémence B, Florentine D, Julie G, Chloé B, Quentin M, Solène S, Camille M, Emilien M. Merci pour tous ces moments à vos côtés, au Color's, au CHU, aux WEI, aux galas, à la BU, derrière nos caisses chez Monop', et pendant nos nuits de folie à la Chacha...

A Pierre et Louis, qui ont suivis tous les rebondissements de cette folle aventure, et qui ont supportés mes humeurs, et ce, même pendant le confinement. Merci pour votre patience & pardon pour l'humeur groniouniou à la maison. Vous méritez haut la main l'Oscar des meilleurs colocs 2019-2020 !

TABLE DES MATIERES

I. ABREVIATIONS	13
II. INTRODUCTION	15
1. <i>Généralités et épidémiologie</i>	15
a. Généralités.....	15
b. Épidémiologie	15
2. <i>Physiologie de la fécondation</i>	16
3. <i>Objectifs</i>	17
III. MATERIELS ET METHODES	19
1. <i>Patients de l'étude</i>	19
a. Critères d'inclusion	19
b. Critères d'exclusion.....	19
2. <i>Protocoles de stimulation ovarienne</i>	20
3. <i>Déclenchement de l'ovulation et ponction ovocytaire</i>	20
4. <i>Procédures de FIV/ICSI</i>	21
a. Fécondation in vitro classique	21
b. Fécondation in vitro avec injection intra cytoplasmique de spermatozoïde	22
c. Devenir des gamètes après la mise en fécondation en FIV/ICSI	23
5. <i>Critères d'évaluation de l'étude</i>	23
6. <i>Paramètres étudiés</i>	24
7. <i>Analyse statistique</i>	24
IV. RESULTATS	25
1. <i>En FIV</i>	26
a. Paramètres de la population	26
b. Paramètres de la stimulation	28
c. Paramètres spermatiques, ovocytaires et embryonnaires	28
2. <i>En ICSI</i>	29
a. Paramètres de la population	29
b. Paramètres de la stimulation	31
c. Paramètres spermatiques, ovocytaires et embryonnaires	32
V. DISCUSSION	33
VI. CONCLUSION	39
VII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	41
VIII. RESUME	45

I. ABREVIATIONS

ABM : Agence de Biomédecine

AG : Anesthésie Générale

AL : Anesthésie Locale

AMH : Hormone Anti-Müllérienne

AMP : Aide Médicale à la Procréation

ARIC : Acrosome Response to Ionophore Challenge

BT : Biopsie Testiculaire

CCO : Complexe Cumulo-Ovocytaire

CECOS : Centre d'étude et de conservation des œufs et du sperme humains

CFA : Compte des Follicules Antraux

CO₂ : Dioxyde de carbone

FCS : Fausse Couche Spontanée

FIV : Fécondation In Vitro

FSH : Follicle Stimulating Hormone

GEU : Grossesse Extra-Utérine

GnRH : Gonadotropin Releasing Hormone

GP : Globule Polaire

HCG : Human Chorionic Gonadotropin

HSO : Hyperstimulation Ovarienne

HTLV : Human T-Lymphotropic Virus

ICSI : Intra Cytoplasmic Sperm Injection

IIU : Insémination Intra-Utérine

IM : Intra Musculaire

IMC : Indice de Masse Corporelle

IMG : Interruption Médicale de Grossesse

IMSI : Intra-cytoplasmic Morphologically-selected Sperm Injection

INSERM : Institut National de la Santé Et de la Recherche Médicale

IVG : Interruption Volontaire de Grossesse

OMS : Organisme Mondial de la Santé

PLC : Phospholipase C

PMA : Procréation Médicalement Assistée

PN : Pronucléus

PVP : Poly Vinyl Pyrrolidone

TPMC : Total postwash total progressively motile sperm cell count

UI : Unités Internationales

VHB : Virus de l'Hépatite B

VHC : Virus de l'Hépatite C

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

ZP : Zone Pellucide

II. INTRODUCTION

1. Généralités et épidémiologie

a. Généralités

L'infertilité est un état complexe et multifactoriel, qui n'a été définie comme étant une maladie qu'en 2010 par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) devant une prévalence en augmentation. Elle est définie comme étant l'absence d'obtention de grossesse après au moins un an de rapports sexuels réguliers non protégés chez les femmes âgées de moins de 35 ans, et après 6 mois de rapports sexuels chez les femmes de plus de 35 ans. (1,2,3)

Elle est divisée en deux types, l'infertilité dite primaire, caractérisée par un couple n'ayant jamais obtenu de grossesse ensemble, et l'infertilité dite secondaire qui se définit par l'absence de grossesse au sein d'un couple ayant déjà réussi à obtenir une grossesse ensemble quel qu'en soit l'issue (fausse couche spontanée précoce (FCS), interruption volontaire de grossesse (IVG), interruption médicale de grossesse (IMG), grossesse extra-utérine (GEU), naissance vivante).

La technique de Fécondation In Vitro (FIV) classique est la plus ancienne des deux méthodes de fécondation toujours utilisées actuellement, avec la naissance par césarienne de Louise Brown en 1978, à Manchester, au Royaume-Uni. (4) Cette méthode est plus simple et moins coûteuse sur le plan technique, humain et financier que l'Injection Intra Cytoplasmique de Spermatozoïde (ICSI) qui n'a été introduite qu'en 1992 pour améliorer les faibles taux de fécondation chez les couples présentant une infertilité de type masculine. (5)

Depuis, la Procréation Médicalement Assistée (PMA) s'est fortement répandue dans le monde entier, avec une activité qui aujourd'hui, ne cesse de s'accroître.

b. Épidémiologie

Au niveau mondial, l'infertilité concerne environ 1 couple sur 7, soit 8 à 12% des couples, même si sa prévalence est difficile à estimer. (3)

On estime qu'à travers le monde 186 millions de personnes font face à une infertilité, tous types et toutes causes confondus. (2) On considère qu'un couple sur six consulte pour un problème d'infertilité primaire ou secondaire. Environ 5% des couples seront pris en charge dans un centre de médecine et biologie de la reproduction et parmi eux, 2 à 4% des couples resteront sans enfant. En France, en 2015, 3,1% des enfants sont nés grâce aux techniques de PMA. (7)

2. Physiologie de la fécondation

La fécondation est définie comme étant la fusion entre un gamète mâle (=spermatozoïde) et un gamète femelle (=ovocyte) aboutissant à la formation d'un zygote. Les gamètes sont haploïdes, le zygote quant à lui est diploïde.

In vivo, la fécondation a lieu dans le tiers externe de la trompe, au niveau de la région isthmo-ampullaire. L'espèce humaine est dite mono ovulante, c'est-à-dire qu'à l'état physiologique un seul ovocyte mature par cycle sort du pool ovarien, la durée de vie de cet ovocyte en l'absence de fécondation est d'environ 24h. Classiquement un ovocyte est dit « fécondé » lorsqu'à J1 il y a 2 pronuclei (PN) et 2 globules polaires (GP) expulsés.

Habituellement la fécondation d'un ovocyte par un spermatozoïde se déroule en six étapes. (8) D'abord la pénétration du spermatozoïde dans le cumulus oophorus, puis la reconnaissance spécifique du spermatozoïde par la zone pellucide (ZP) de l'ovocyte empêchant la fécondation inter-espèce, suivi de la fixation à ZP3, puis à ZP2 déclenchant la réaction acrosomique. Cette étape est suivie par la fusion des membranes plasmiques des deux gamètes, provoquant la libération intra-ovocytaire de facteurs spermatiques dont la PLC ζ , responsable du processus d'activation ovocytaire par le biais d'une cascade d'oscillations calciques (7,8)

Un défaut d'activation ovocytaire pourrait être dû à l'incapacité du spermatozoïde à produire assez d'oscillation calcique, potentiellement secondaire à un déficit en PLC ζ , pour lequel a pu être mis en évidence un seuil critique en dessous duquel des taux de fécondation < 30% étaient observés en ICSI. (7,9) En parallèle de ce processus, les granules corticaux sont activés par les variations calciques, puis migrent afin de libérer leur contenu enzymatique dans l'espace péri-vitellin, c'est la réaction corticale. Cette réaction induit un durcissement de la membrane ovocytaire évitant la polyspermie. (8) S'en suit la formation des fuseaux méiotiques, puis des deux pronuclei précédant la syngamie afin d'aboutir à la formation d'un zygote.

Deux processus sont absolument essentiels à la fécondation : la capacitation des spermatozoïdes et la réaction acrosomique.

La capacitation a lieu dans le tractus génital féminin, au moment du passage de la glaire cervicale. C'est à ce moment-là que les spermatozoïdes acquièrent leur pouvoir fécondant. Ce processus permet de sélectionner les spermatozoïdes les plus matures. Au total, on estime que moins de 50000 spermatozoïdes sur plus de 15 millions éjaculés arrivent au lieu de fécondation 1 heure après le rapport sexuel.

La réaction acrosomique est déclenchée par la fixation du spermatozoïde à la ZP de l'ovocyte. S'en suit alors la libération d'enzymes hydrolytiques présentes dans l'acrosome via un phénomène d'exocytose. La hyaluronidase et la proacrosine, permettent le passage de la zone pellucide et du cumulus afin d'atteindre le cytoplasme de l'ovocyte. Le spermatozoïde présent dans le cytoplasme de l'ovocyte n'a donc plus d'acrosome.

Chacune des six étapes de la fécondation peut être défailante et responsable d'un échec de fécondation en médecine de la reproduction, quel que soit la technique utilisée. Les causes d'échec peuvent être multiples, impliquant l'ovocyte ou le spermatozoïde et varient selon la technique utilisée. (10,11)

3. Objectifs

Selon l'Agence de biomédecine (ABM), en France, en 2017, le taux de fécondation par ovocyte inséminé était de 59,7 % pour les fécondations in vitro (FIV) et de 68,7 % pour les FIV avec injection intra-cytoplasmique de spermatozoïde (ICSI). (34)

Le taux d'échec de fécondation en FIV se situe entre 5 et 20 % et entre 2 et 5 % en ICSI, même si la seconde méthode permet de shunter un certain nombre d'étapes physiologiques de la fécondation et qu'elle améliore considérablement les chances de concevoir notamment lorsque l'infertilité est liée à une cause masculine, cette dernière ne permet pas d'exclure totalement le risque d'échec de fécondation. (12,13) Lorsque l'infertilité est de type idiopathique le risque de survenu d'un échec de fécondation est nettement plus élevé, entre 20 et 30% et le risque de récurrence d'échec avoisine alors 30%. (11,13,14,15) Krog et al. suggèrent cependant que l'échec de fécondation soit quelque chose d'épisodique plutôt qu'une altération définitive, car 25% des couples ayant dû faire face à un échec, avaient obtenus une grossesse dans le passé. (16) De plus, 86% des couples qui poursuivent le parcours en PMA après un échec de fécondation arriveront à féconder au cours des tentatives ultérieures, ce qui corrobore l'hypothèse d'un phénomène épisodique. Toutes techniques de PMA confondues, on considère que 60-70% des ovocytes ponctionnés fécondent avec succès. (10,14,17)

Les différentes études réalisées jusqu'alors évoquent le plus souvent des causes spermatiques dans les échecs de fécondation en FIV classique, tandis qu'il s'agirait le plus souvent d'un défaut d'activation ovocytaire dans les échecs qui surviennent en ICSI. (13,18) Nasr-Esfahani et al. montraient qu'environ 30% des ovocytes injectés ne fécondaient pas, alors que chez plus de 80% d'entre eux on retrouvait un spermatozoïde dans le cytoplasme, ce qui renforce l'hypothèse d'un défaut d'activation ovocytaire comme responsable de l'échec de fécondation. (14,17) Ces hypothèses laissent supposer que les couples dont les fonctions

spermatiques sont optimales n'auraient pas à bénéficier de l'ICSI. (5) En revanche pour les couples dont l'infertilité est de nature idiopathique, avec des paramètres spermatiques normaux, l'intérêt de connaître la capacité des spermatozoïdes à s'accrocher à la ZP ainsi qu'à la pénétrer serait utile pour orienter les couples d'emblée vers l'ICSI si des anomalies étaient mises en évidence. (19) Les indications indiscutables de l'ICSI sont les infertilités masculines avec des paramètres spermatiques très altérés, ainsi que les immunisations anti-spermatozoïdes importantes et les azoospermies avec prélèvement chirurgical de spermatozoïdes d'origine testiculaire ou épидидymaire. A contrario, certaines indications de l'ICSI sont plus relatives, notamment les perturbations spermiologiques modérées ainsi que les contextes d'infertilité idiopathique. (35,36)

Dans son étude analysant 32 cas d'échec complet de fécondation en FIV, Huang et al. concluaient de considérer comme un couple à haut risque d'échec de fécondation en FIV, les patients ayant une infertilité de type primaire, une durée d'infertilité supérieure à 6,4 ans, une stimulation dont la durée excédait 12,6 jours, une progestéronémie > 3,12 nmol/L le jour du déclenchement, et une térazoospermie sévère. (26) Cependant les étiologies d'échec de fécondation sont complexes et hétérogènes. A ce jour il n'existe pas de facteurs prédictifs d'échec de fécondation clairement identifiés, des études sur ce sujet semblent essentielles, car la survenue d'un échec de fécondation en FIV ou en ICSI s'avère être une expérience frustrante, tant pour le couple que pour les cliniciens. Il apparaît donc intéressant d'effectuer une étude afin d'améliorer la prise en charge des couples confrontés à cette situation, en identifiant les facteurs de risque d'un échec complet ou d'une pauci fécondation en FIV et en ICSI. Dans le but de pouvoir identifier les couples à haut risque, d'anticiper, et éventuellement de diriger d'emblée certains couples vers l'ICSI. De plus, ce travail permet également d'évaluer notre pratique quotidienne au sein du centre de médecine et de biologie de la reproduction.

III. MATERIELS ET METHODES

1. Patients de l'étude

Il s'agit d'une étude de cohorte rétrospective, de type cas-témoins monocentrique réalisée au sein du laboratoire de médecine de la reproduction, cytogénétique et Centre d'Étude et de Conservation des Œufs et du Sperme humains (CECOS) de Picardie du Centre Hospitalier Universitaire d'Amiens.

Toutes les tentatives de FIV et ICSI réalisées entre le 1^{er} janvier 2016 et le 31 décembre 2019 ont été extraites à partir du logiciel médical MediFirst.

Nous avons dans un premier temps recueilli toutes les tentatives de FIV et ICSI réalisées au sein du centre chez des femmes ayant entre 18 et 43 ans quel que soit le type d'infertilité et la cause.

Au total, 916 cycles de FIV ou ICSI ont pu être analysés dans notre travail, après application de nos critères d'exclusion.

L'accord des patients avait été recueilli lors de la première consultation au centre de médecine et biologie de la reproduction, concernant l'utilisation éventuelle de leurs données à des fins de recherche.

a. Critères d'inclusion

Les critères d'inclusion comprennent l'ensemble des cycles de FIV ou ICSI effectués sur cette période de 4 ans, en intra-couple, quels que soient le rang de la tentative ou de demande, le type de protocole de stimulation ovarienne utilisé, ou l'origine du sperme, et pour lesquels un minimum de 5 ovocytes matures avait été obtenus lors de la ponction ovarienne.

b. Critères d'exclusion

Ont été exclus de notre étude les couples pris en charge pour un risque viral (hépatite B (VHB), hépatite C (VHC), Virus de l'immunodéficience humaine (VIH), Human T lymphotropic Virus (HTLV)), les cycles interrompus sans ponction ovarienne, ou avec un nombre d'ovocyte ponctionné inférieur ou égal à 4.

Les cycles où la moitié des ovocytes étaient inséminés selon la technique de FIV classique et l'autre moitié selon la technique d'ICSI ont été exclus pour simplifier l'interprétation des résultats.

Les cycles pour lesquels une partie ou la totalité de la cohorte ovocytaire, avait dû être vitrifiée sans être mise en fécondation le jour de la ponction ovocytaire (toutes causes confondues), ont également été exclus.

2. Protocoles de stimulation ovarienne

Les patientes ont bénéficié d'une stimulation ovarienne avec monitoring échographique et biologique régulier, au moyen de l'un des 3 types de protocoles suivants : agoniste long (Triptoréline : Décapeptyl®) ou court, antagoniste (Cétreorelix : Cétrotide® ; Elonva®).

La dose initiale de gonadotrophine était choisie au cas par cas, selon l'indication de la prise en charge en PMA, l'âge de la patiente, le poids, les résultats du bilan initial (compte des follicules antraux (CFA), hormone antimüllérienne (AMH)), les éventuelles réponses sur les précédentes tentatives et la réponse ovarienne supposée attendue, allant de 150 à 450 UI par jour. Cette dose pouvait être adaptée au cours de la stimulation en fonction de la réponse ovarienne obtenue. Le type de gonadotrophine utilisé était également défini au cas par cas pour chacune des tentatives.

3. Déclenchement de l'ovulation et ponction ovocytaire

Le déclenchement de l'ovulation se faisait après obtention de 5 follicules matures à l'échographie. Il était réalisé par une injection d'Hormone Chorionique Gonadotrope (HCG) recombinante (Ovitrelle®) ou d'un agoniste de la GnRH (Gonadotropin-Releasing Hormone) (Decapeptyl® 0.1mg : 3 ampoules en intra-musculaire (IM)) en cas de risque d'hyperstimulation ovarienne (HSO).

Les ovocytes étaient recueillis 36 heures en moyenne après le déclenchement de l'ovulation, par ponction transvaginale et échoguidée, au bloc opératoire, sous anesthésie générale ou rachianesthésie.

Une fois recueillis dans des seringues stériles, préalablement rincées avec un milieu de culture dédié de type FERTICULT™, les seringues étaient conservées dans une mallette thermo régulée, pendant toute la durée du geste opératoire.

Une fois la ponction ovocytaire terminée, la mallette était acheminée rapidement au laboratoire de biologie et médecine de la reproduction, où le liquide folliculaire était placé dans une étuve à 37 +/-1°C, avec un milieu de culture contenant 6 +/-1% de CO₂, avant de trier les ovocytes.

4. Procédures de FIV/ICSI

L'indication de la technique de fécondation (FIV ou ICSI) était préalablement discutée au cas par cas, en tenant compte des résultats d'examen féminins et masculins, réalisés dans le cadre du bilan d'infertilité avant d'initier la prise en charge du couple en AMP. C'est au cours d'une réunion hebdomadaire au sein du centre de médecine et biologie de la reproduction, réunissant à la fois des gynécologues-médecins, des gynécologues-obstétriciens, ainsi que des biologistes en médecine de la reproduction que l'indication était validée.

La recherche des complexes cumulo-ovocytaires (CCO) s'effectuait dès réception de la mallette contenant les seringues de liquide folliculaire, sous loupe binoculaire, à 37 +/- 1°C. Après lavage dans un milieu tamponné à l'HEPES (type FERTICULT™), ils étaient placés dans un milieu de fécondation tamponné au bicarbonate (Origio Sequential Fert™), dans des incubateurs, à 37 +/-1°C et sous 6 +/-1% de CO₂ jusqu'à la mise en fécondation. La préparation du sperme (frais ou congelé) s'effectuait le matin de la ponction ovarienne, selon les recommandations du manuel de l'OMS (27), dans le but de sélectionner les spermatozoïdes mobiles, progressifs, rapides et capotés. Les spermatozoïdes ainsi sélectionnés étaient utilisés pour la mise en fécondation des ovocytes, par FIV ou ICSI, en fonction des paramètres spermatiques initiaux, de la cohorte ovocytaire, et des résultats éventuels de précédentes tentatives du couple.

a. Fécondation in vitro classique

La FIV classique est indiquée lorsque l'infertilité est d'origine tubaire, en cas de diminution de la réserve ovarienne, d'endométriose de stade III/IV, ou d'altérations spermatiques modérées. Elle peut également être envisagée d'emblée chez les femmes âgées de plus de 38 ans au moment de la demande de prise en charge en médecine et biologie de la reproduction. Elle est également indiquée en deuxième intention dans le cadre de dysovulations ou d'échec d'insémination intra utérine (IIU).

Deux heures après le tri ovocytaire, les CCO étaient mis en contact avec les spermatozoïdes sélectionnés, dans des puits de 600 µL de milieu de fécondation. Environ 100000 spermatozoïdes mobiles sont inséminés dans des puits contenant jusqu'à 6 CCO.

Trois heures après la mise en fécondation, une première étape de lavage était effectuée, avec transfert des CCO dans un puit propre de milieu de fécondation. Les CCO étaient ensuite mis en culture trigaz sous CO₂ toute la nuit.

Le lendemain les ovocytes étaient décoronisés de façon purement mécanique afin d'évaluer le processus de fécondation.

b. Fécondation in vitro avec injection intra cytoplasmique de spermatozoïde

La FIV avec ICSI est indiquée en cas d'altérations spermatiques sévères, de petite cohorte ovocytaire obtenue à la ponction (<5 ovocytes), ou en cas de sperme obtenu par biopsie testiculaire (BT) ou ponction épидидymaire. L'ICSI est également indiquée en seconde intention, en cas d'échec de FIV classique.

Les premières étapes sont identiques à celles de la FIV classique, après le tri, les techniciens de laboratoire décoronisent les complexes cumulo-ovocytaire (CCO). Cette étape se déroule en deux temps, dans un premier temps à l'aide d'une enzyme, la hyaluronidase (SynVitrTM, Hyadase, Cooper Surgical) puis dans un second temps de façon mécanique à l'aide d'un stripper dans le but d'éliminer les cellules folliculaires de la corona radiata. Une fois décoronisés, les ovocytes sont observés au microscope afin d'apprécier leur stade de maturation, cette étape est spécifique de la FIV avec injection intra cytoplasmique de spermatozoïde, car seuls les ovocytes dits « matures », seront micro-injectés.

Les spermatozoïdes sont préalablement déposés dans un milieu visqueux contenant de la polyvinylpyrrolidone (PVP, Clinical Grade®, Cooper Surgical) dans le but de les ralentir, avant d'être sélectionné un par un en fonction de leur mobilité, et de leur morphologie, puis immobilisés par cisaillement du flagelle à l'aide de la pipette d'injection du micro-manipulateur. Les ovocytes ayant expulsés leur premier GP étaient alors placés un par un dans des micro-gouttes de 10 µL de milieu de rinçage tamponné à l'HEPES puis micro-injectés à l'aide d'un système de micromanipulation (Eppendorf®, Germany), monté sur un microscope inversé (Olympus®). Avant d'effectuer la micro injection, l'ovocyte était placé de façon à ce que le GP soit localisé à midi ou à 6 heures afin d'éviter toute lésion du fuseau mitotique. Puis le spermatozoïde sélectionné était injecté directement dans le cytoplasme ovocytaire, après avoir déclenché mécaniquement la réaction acrosomique, par lésion du

flagelle à l'aide de la pipette d'injection. Les ovocytes micro-injectés étaient ensuite replacés en culture dans des micro-gouttes de 30 µL de milieu de fécondation tamponné au bicarbonate (Origio Séquential Fert™), et recouverts d'huile (Light Mineral Oil, BioCare Europe), puis replacés dans l'étuve à 37 +/- 1°C sous CO₂ pour toute la nuit.

c. Devenir des gamètes après la mise en fécondation en FIV/ICSI

L'observation au premier jour (J1), soit 16-17 heures après la mise en contact des gamètes, permettait d'apprécier la fécondation. Dans les deux cas (FIV et ICSI) à J1, la fécondation était appréciée par la présence de 2 pronuclei (PN) et de 2 globules polaires (GP).

A la suite de l'observation de la fécondation, les zygotes obtenus étaient replacés dans un milieu de culture global (Origio Sage-1step™) jusqu'au cinquième ou sixième jour (J5-6).

L'observation à J2-J3 permettait d'apprécier le développement et la qualité pré-embryonnaire.

Les pré-embryons étaient ensuite transférés à J2/J3, ou J5 en fonction de la stratégie de transfert adoptée ou de la morphologie de la cohorte embryonnaire. Un traitement de soutien de la phase lutéale par progestérone (Utrogestan® 200mg, matin, midi et soir) par voie vaginale était prescrit à chaque patiente à compter du jour de la ponction ovocytaire.

5. Critères d'évaluation de l'étude

Le critère principal d'évaluation est le taux de fécondation défini par le ratio entre le nombre d'ovocytes fécondés et le nombre d'ovocytes inséminés ou micro-injectés.

L'ovocyte est considéré comme fécondé selon les critères suivants :

- Ovocyte avec 2 pronucléi (PN) et 2 globules polaires (GP) au premier jour après l'injection ou l'insémination.
- Ovocyte avec 1 PN et 2 GP au premier jour post injection ou insémination mais avec clivage du pré-embryon au deuxième ou troisième jour (J2-3).
- Ovocyte avec 0 PN et 2 GP au premier jour post injection ou insémination mais avec clivage du pré-embryon au deuxième ou troisième jour (J2-3).

Deux groupes sont constitués :

- Groupe « Échec », défini par une absence totale de fécondation ou une paucifécondation en FIV ou ICSI (= taux de fécondation inférieur ou égal à 20%).
- Groupe « Témoins », avec un taux de fécondation strictement supérieur à 20%.

6. Paramètres étudiés

Les paramètres étudiés pour chaque couple ont été l'âge, le type et la durée d'infertilité, l'indice de masse corporelle (IMC), la consommation de toxiques (tabac, cannabis), et les antécédents féminins et masculins pouvant altérer la fertilité. Les paramètres évaluant la réserve ovarienne ont été recueillis, comprenant le bilan hormonal réalisé à J3 du cycle menstruel, avec un dosage du taux de FSH, et d'AMH, et un compte échographique des follicules antraux. Les paramètres spermatiques étaient interprétés selon les critères de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Le spermocytogramme était interprété selon la classification de David avant 2018, définissant la tératozoospermie comme un taux de spermatozoïde typique inférieur à 15%, puis sur la classification de Kruger, définissant la tératozoospermie comme un taux de forme typique inférieur à 4%.

Les paramètres recueillis liés à la tentative étaient : le type de gonadotrophine utilisé, le nombre d'unités totales reçus pendant toute la stimulation, la durée totale de stimulation (en jours), le type de molécule utilisé pour le déclenchement de l'ovulation, le taux de 17β estradiol et de progestérone au dernier contrôle échographique, le nombre de follicules matures échographiquement, avec une taille supérieure à 14mm au dernier contrôle échographique avant la ponction ovocytaire. Le jour de la ponction, les paramètres spermatiques du recueil étaient recueillis, ainsi que le nombre d'ovocytes ponctionnés, inséminés en FIV classique, ou injectés en ICSI.

Le taux d'ovocytes fécondés était analysé à J3 après l'insémination ou l'injection intracytoplasmique de spermatozoïde afin de répondre aux critères de définition de fécondation utilisés dans cette étude et définis ci-dessus (III.5).

7. Analyse statistique

Le seuil de significativité retenu a été défini par un « p » inférieur à 0.05. L'analyse statistique des données a été réalisée par le logiciel Pvalue.io.

Les variables quantitatives caractérisant les deux populations sont décrites par leur moyenne et leurs extrêmes. Les variables qualitatives sont exprimées en pourcentages. La comparaison des deux groupes a été réalisée par un test de Fisher exact et un test du Chi-2 pour les variables qualitatives et un test T de Student pour celles quantitatives. Pour le traitement des données manquantes un test non paramétrique a été utilisé (Test de Mann Whitney). Les variables ne suivant pas une loi normale ont été évaluées par des tests non paramétriques.

IV. RESULTATS

1459 cycles de stimulation ovarienne ont été réalisés au CHU d'Amiens entre le 1er janvier 2016 et le 31 décembre 2019. 543 tentatives ont été exclues car il s'agissait d'une vitrification ovocytaire (3 cycles), d'une ponction blanche (54 cycles) ou avec un nombre d'ovocytes ponctionnés inférieur ou égale à 4 (298 cycles), que l'un ou les 2 membres du couple étaient à risque viral (156 cycles) ou qu'une technique mi FIV mi ICSI avait été réalisée (32 cycles).

Notre population d'étude, soit nos 916 cycles de stimulation a été divisée en deux groupes distincts selon la technique d'AMP employée : FIV ou ICSI, puis chacun de ces deux groupes a été subdivisé en deux sous-groupes selon l'obtention ou non de signes de fécondation, groupe « Échec » et groupe « Témoins ».

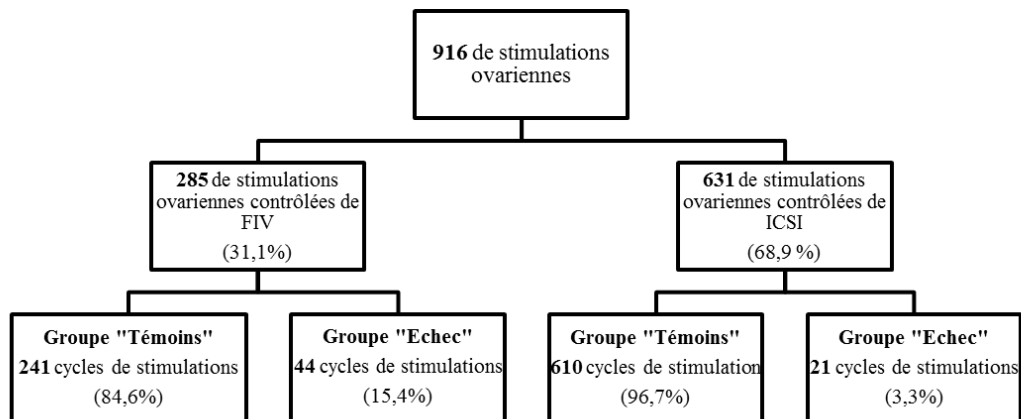


Figure 1 : Diagramme de flux de l'étude.

1. En FIV

En FIV, le groupe « Échec » comportait 44 cycles ne présentant aucun signe de fécondation ou une pauci-fécondation avec un taux de fécondation défini comme inférieur ou égal à 20%. Ce groupe a été comparé au groupe « Témoins » qui comportait 241 cycles. En FIV, le taux d'échec complet ou de pauci-fécondation était de 15,4%.

a. Paramètres de la population

Les paramètres clinico-biologiques de la population étudiée sont représentés par le tableau 1. Concernant les paramètres cliniques, les deux groupes étaient comparables pour les caractéristiques de la population sauf pour l'endométriose. D'après notre analyse statistique, 36% des patientes du groupe « Témoins » présentaient une endométriose diagnostiquée contre uniquement 15% des patientes du groupe « Échec » ($p=0,017$). Par ailleurs les deux groupes étaient comparables en termes d'âge, d'IMC, de consommation de toxiques, de durée et type d'infertilité, et de bilans hormonaux féminins.

Concernant les paramètres biologiques masculins, l'asthénozoospermie était significativement plus élevée dans le groupe « Échec » 16% comparativement au groupe « Témoins » 4,6% ($p=0,011$). Les deux groupes étaient comparables pour l'ensemble des autres paramètres spermatiques étudiés dans le cadre du bilan d'infertilité.

	Groupe "Témoins" (n = 241)	Groupe "Échec" (n = 44)	p
Age Madame (années)	33,4 (±4,84) [19-43]	33,6 (±5,43) [21-43]	NS
Age Monsieur (années)	34,5 (±5,69) [22-51]	36,1 (±5,33) [26-48]	NS
Infertilité Madame			
- Primaire	202 (84%)	33 (75%)	NS
- Secondaire	39 (16%)	11 (25%)	
Infertilité Monsieur			
- Primaire	201 (83%)	34 (77%)	NS
- Secondaire	40 (17%)	10 (23%)	
Infertilité Couple			
- Primaire	138 (57%)	29 (66%)	NS
- Secondaire	103 (43%)	15 (34%)	
Durée infertilité (année)	4,05 (±2,68) [1-16]	4,59 (±3,90) [1-18]	NS
Rang de la tentative			
- Première tentative	175 (73%)	37 (84%)	NS
- Deuxième tentative	39 (16%)	6 (14%)	
- Troisième tentative	16 (6,6%)	1 (2%)	
- Quatrième tentative	8 (3,3%)	0 (0%)	
- Au-delà de la 4ème	3 (1,1%)	0 (0%)	
IMC Madame (kg/m²)	24,5 (±4,69) [17,3-43,3]	26,2 (±5,76) [15,2-43,3]	NS
IMC Monsieur (kg/m²)	26,1 (±4,06) [17,3-43,2]	26,1 (±3,46) [20,6-34,6]	NS
Tabac Madame			
- Actif	61 (25%)	11 (26%)	NS
- Jamais	179 (75%)	32 (74%)	
Tabac Monsieur			
- Actif	89 (37%)	14 (33%)	NS
- Jamais	151 (63%)	29 (67%)	
Cannabis Madame			
- Actif	3 (1,2%)	0 (0%)	NS
- Jamais	238 (98,8 %)	44 (100%)	
Cannabis Monsieur			
- Actif	5 (2,1%)	1 (2,3%)	NS
- Jamais	236 (97,9%)	43 (97,7%)	
Paramètres féminins du bilan d'infertilité			
FSH (UI/L)	6,89 (±2,04) [2,3-13,4]	6,9 (±2,84) [2,1-15,4]	NS
AMH (pg/ml)	3,57 (±3,15) [0,32-16,3]	4,21 (±4,82) [0,25-22,9]	NS
CFA	17 (±9,83) [2-42]	14,9 (±12,4) [2-60]	NS
Endométriose	71 (36%)	5 (15%)	0,017
Anovulation centrale	2 (0,83%)	1 (2,3%)	NS
SOPK	44 (19%)	6 (16%)	NS
Altération de la réserve ovarienne	63 (26%)	11 (25%)	NS
Anomalie tubaire	109 (50%)	22 (52%)	NS
Échec d'IAC	76 (32%)	13 (30%)	NS
Paramètres masculins du bilan d'infertilité			
ATCD génito-urinaire	40 (17%)	8 (18%)	NS
Origine du sperme			
- Sperme frais	240 (99,6%)	42 (95%)	NS
- Sperme congelé	1 (0,4 %)	2 (5%)	
Paramètres spermatiques			
- Oligozoospermie	10 (4,1%)	1 (2,3%)	NS
- OATS	4 (1,7 %)	0 (0 %)	0,011
- Asthénozoospermie	11 (4,6 %)	7 (16 %)	NS
- Azoospermie / Cryptozoospermie	1 (0,41 %)	0 (0 %)	NS

NS : non significatif

Tableau 1 : Paramètres cliniques, biologiques de la population : Analyse descriptive et comparaison des groupes "Échec" (absence de fécondation ou pauci-fécondation) et "Témoins" en FIV.

(Les résultats sont exprimés en moyenne, extrêmes ou pourcentages)

b. Paramètres de la stimulation

	Groupe "Témoins" (n = 241)	Groupe "Échec" (n = 44)	p
Type de protocole			
- Agoniste	139 (58%)	32 (73%)	NS
- Antagoniste	102 (42%)	12 (27%)	
Type de déclenchement			
- Ovitrelle ®	235 (98%)	43 (98%)	NS
- Décapeptyl ®	6 (2 %)	1 (2%)	
Type de Gonadotrophine			
- FSH	201(83%)	38 (86%)	NS
- HMG	40 (17%)	6 (14%)	
Dose totale de gonadotrophines (UI)	2379 (±1257) [300-7650]	2551 (±1358) [1000-6300]	NS
Durée totale de la stimulation (jours)	10,5 (±2,27) [2-20]	11,1 (±2,92) [8-25]	NS
Estradiol au déclenchement (pg/ml)	2015 (±874) [43,8-5461]	1919 (±696) [923-3471]	NS
Progesterone au déclenchement (pg/ml)	1,04 (±0,52) [0,1-2,97]	0,91 (±0,42) [0,26-2]	NS
Nombre de follicules ≥ 14 mm le jour du déclenchement	9,45 (±3,78) [4-27]	10,2 (±4,09) [5-24]	NS

NS : non significatif

Tableau 2 : Paramètres des stimulations ovariennes contrôlées : Analyse descriptive et comparaison des groupes "Échec" (absence de fécondation ou pauci-fécondation) et "Témoins" en FIV.

(Les résultats sont exprimés en moyenne, extrêmes ou pourcentages)

c. Paramètres spermatiques, ovocytaires et embryonnaires

Le tableau 3 représente les paramètres spermatiques, ovocytaires, et embryonnaires. Le pourcentage de forme typique était significativement plus bas dans le groupe « Échec » en comparaison avec le groupe « Témoins » : 12,3% versus 15,9% (p=0,022). Le nombre d'ovocytes ponctionnés et inséminés ainsi que les autres paramètres spermatiques étaient comparables entre les 2 groupes.

En FIV, le taux moyen de fécondation dans le groupe « Témoins » était de 58,7%.

	Groupe "Témoins" (n = 241)	Groupe "Échec" (n = 44)	p
Paramètres spermatiques			
- Concentration de spermatozoïdes sur recueil	87,7 (±68,7) [4,6-464]	101 (±122) [11-722]	NS
- Mobilité progressive avant sélection	46,1 (±9,61) [3-70]	43,3 (±12) [0-63]	NS
- Mobilité progressive après sélection			
- Formes typiques (%)	80,1 (±9,09) [30-95]	76,6 (±15) [9-95]	NS
- Test de migration de survie (TMS)	15,9 (±9,01) [0-45]	12,3 (±9,08) [1-44]	0,022
	23,6 (±33,8) [1,3-442,4]	18,8 (±14,6) [4,2-70,9]	NS
Nombre d'ovocytes ponctionnés	11,8 (±4,89) [5-34]	11,8 (±5,07) [5-30]	NS
Nombre d'ovocytes inséminés	11,8 (±4,89) [5-34]	11,8 (±5,07) [5-30]	NS
Nombre d'ovocytes avec 2GP/2PN	6,77 (±3,50) [2-21]	1,16 (±1,16) [0-5]	<0,001
Taux de fécondation (%)	58,7 (±20,3) [22,2-100]	9,86 (±7,51) [0-20]	<0,001

NS : non significatif

Tableau 3 : Paramètres spermatiques, ovocytaires et embryonnaires : Analyse descriptive et comparaison des groupes "Échec" (absence de fécondation ou pauci-fécondation) et "Témoins" en FIV.

(Les résultats sont exprimés en moyenne, extrêmes ou pourcentages)

2. En ICSI

En ICSI, les 21 cycles du groupe « Échec » ont été comparés aux 610 cycles du groupe « Témoins ». Le taux d'échec complet ou de pauci-fécondation était de 3,3%.

a. Paramètres de la population

Les paramètres clinico-biologiques de la population étudiée sont représentés par le tableau 1. On constatait une différence significative entre les deux groupes concernant le tabagisme actif chez l'homme : 36% versus 62% respectivement dans les groupes « Témoins » et « Échec » (p=0,015). De plus, l'IMC chez la femme était significativement plus élevé dans le groupe « Échec » avec un IMC moyen de 27,6 kg/m² contre 25 kg/m² dans le groupe « Témoins » (p=0,021). Concernant les autres paramètres clinico-biologiques les deux groupes étaient comparables.

	Groupe "Témoins" (n = 610)	Groupe "Échec" (n = 21)	p
Age Madame (années)	32,8 (±4,77) [9-43]	34,4 (±5,35) [26-43]	NS
Age Monsieur (années)	35,4 (±6,16) [23-59]	35,4 (±7,05) [26-51]	NS
Infertilité Madame			NS
- Primaire	515 (85%)	19 (90%)	
- Secondaire	94 (15%)	2 (10%)	
Infertilité Monsieur			NS
- Primaire	524 (86%)	17 (81%)	
- Secondaire	83 (14%)	4 (19%)	
Infertilité Couple			NS
- Primaire	397 (65%)	15 (71%)	
- Secondaire	213 (35%)	6 (29%)	
Durée infertilité (année)	4,17 (±2,75) [1-16]	3,90 (±2,17) [1-8]	NS
Rang de la tentative			NS
- Première tentative	302 (50%)	7 (33%)	
- Deuxième tentative	160 (26%)	12 (57%)	
- Troisième tentative	88 (14%)	2 (10%)	
- Quatrième tentative	42 (7%)	0 (0%)	
- Au-delà de la 4ème	18 (3%)	0 (0%)	
IMC Madame (kg/m²)	25 (±5,14) [15,2-39,2]	27,6 (±5,37) [18,8-38,5]	0,021
IMC Monsieur (kg/m²)	25,5 (±4,67) [16,8-45,7]	25,7 (±6,02) [16,8-36,3]	NS
Tabac Madame			NS
- Actif	133 (22%)	5 (24%)	
- Jamais	477 (78%)	16 (76%)	
Tabac Monsieur			0,015
- Actif	218 (36%)	13 (62%)	
- Jamais	390 (64%)	8 (38%)	
Cannabis Madame			NS
- Actif	4 (0,6%)	0 (0%)	
- Jamais	606 (99,4 %)	21 (100%)	
Cannabis Monsieur			NS
- Actif	32 (5%)	2 (9,5%)	
- Jamais	578 (95%)	19 (90,5%)	
Paramètres féminins du bilan d'infertilité			
FSH (UI/L)	6,98 (±2,59) [1,4-18]	7,13 (±2,56) [2,9-14]	NS
AMH (pg/ml)	3,65 (±3,23) [0,13-21,5]	4,22 (±3,83) [0,9-13,1]	NS
CFA	14,8 (±10,4) [0-66]	18,4 (±7,09) [7-28]	NS
Endométriose	92 (19%)	5 (29%)	NS
Anovulation centrale	1 (0,16%)	0 (0%)	NS
SOPK	134 (22%)	5 (24%)	NS
Altération de la réserve ovarienne	172 (29%)	5 (24%)	NS
Anomalie tubaire	116 (26%)	1 (5,9%)	NS
Échec d'IAC	129 (21%)	7 (33%)	NS
Paramètres masculins du bilan d'infertilité			
ATCD génito-urinaire	277 (45%)	7 (33%)	NS
Origine du sperme			NS
- Sperme frais	541 (88,7%)	18 (86%)	
- Biopsie testiculaire synchrone	1 (0,1%)	0 (0%)	
- Sperme congelé			
- Biopsie testiculaire congelé	20 (3,3 %)	3 (14%)	
- Epididymaire congelé	31 (5,1 %)	0 (0%)	
	17 (2,8 %)	0 (0%)	
Paramètres spermatiques			NS
- Oligozoospermie	55 (9,2%)	1 (4,8%)	NS
- OATS	225 (38 %)	10 (48 %)	NS
- Asthénozoospermie	94 (16 %)	4 (19 %)	NS
- Azoospermie / Cryptozoospermie	46 (7,7 %)	1 (4,8%)	NS

NS : non significatif

Tableau 4 : Paramètres cliniques, biologiques de la population : Analyse descriptive et comparaison des groupes "Échec" (absence de fécondation ou pauci-fécondation) et "Témoins" en ICSI.

(Les résultats sont exprimés en moyenne, extrêmes ou pourcentages)

b. Paramètres de la stimulation

Les caractéristiques de la stimulation sont rapportées dans le tableau 5. Le nombre de follicules de plus de 14 mm le jour du déclenchement de l'ovulation était significativement inférieur dans le groupe « Échec » 7,86 versus 10,3 dans le groupe « Témoins » ($p < 0,01$). Les autres paramètres de la stimulation ovarienne étaient comparables dans les deux groupes.

	Groupe "Témoins" (n = 610)	Groupe "Échec" (n = 21)	p
Type de protocole			
- Agoniste	356 (58%)	10 (48%)	NS
- Antagoniste	254 (42%)	11 (52%)	
Type de déclenchement			
- Ovitrelle ®	598 (98%)	21 (100%)	NS
- Décapeptyl ®	12 (2%)	0 (0%)	
Type de Gonadotrophine			
- FSH	482(79%)	16 (76%)	NS
- HMG	128 (21%)	5 (4%)	
Dose totale de gonadotrophines (UI)	2584 (± 1450) [113,3-8100]	2929 (± 1406) [1012,5-6300]	NS
Durée totale de la stimulation (jours)	10,6 ($\pm 1,95$) [4-20]	10,5 ($\pm 1,63$) [8-14]	NS
Estradiol au déclenchement (pg/ml)	2165 (± 879) [68-4643]	1895 (± 803) [573-3303]	NS
Progestérone au déclenchement (pg/ml)	1,09 ($\pm 0,60$) [0,1-5,5]	0,86 ($\pm 0,43$) [0,16-1,6]	NS
Nombre de follicules ≥ 14 mm le jour du déclenchement	10,3 ($\pm 4,41$) [3-30]	7,86 ($\pm 3,29$) [4-16]	<0,01

NS : non significatif

Tableau 5 : Paramètres des stimulations ovariennes contrôlées : Analyse descriptive et comparaison des groupes "Échec" (absence de fécondation ou pauci-fécondation) et "Témoins" en ICSI.

(Les résultats sont exprimés en moyenne, extrêmes ou pourcentages)

c. Paramètres spermatiques, ovocytaires et embryonnaires

Le taux moyen de fécondation dans le groupe « Témoins » était de 71%. Une différence significative a été mise en évidence concernant le nombre d'ovocytes ponctionnés ($p < 0,001$) et le nombre d'ovocytes micro-injectés ($p < 0,01$). Aucune différence significative n'a pu être mise en évidence concernant les paramètres spermatiques.

	Groupe "Témoins" (n = 610)	Groupe "Échec" (n = 21)	p
Paramètres spermatiques			
- Concentration de spermatozoïdes sur recueil	40,1 ($\pm 75,7$) [0-965]	48,3 ($\pm 61,7$) [0,01-236]	NS
- Mobilité progressive avant sélection	30,5 ($\pm 14,9$) [0-65]	33,5 ($\pm 14,4$) [7-55]	NS
- Mobilité progressive après sélection			NS
- Formes typiques (%)	61,1 ($\pm 23,5$) [1-95]	54,7 ($\pm 20,8$) [15-85]	
- Test de migration de survie (TMS)	9,87 ($\pm 10,2$) [0-80] 11,2 [0,004-101,4]	8,12 ($\pm 8,6$) [1-32] 0,5	NS
Nombre d'ovocytes ponctionnés	12,6 ($\pm 5,37$) [5-38]	10 ($\pm 5,52$) [5-27]	<0,001
Nombre d'ovocytes micro-injectés	9,52 ($\pm 4,16$) [5-32]	7,29 ($\pm 3,18$) [5-19]	<0,01
Nombre d'ovocytes avec 2GP/2PN	6,74 ($\pm 3,47$) [2-24]	0,86 ($\pm 0,65$) [0-2]	<0,001
Taux de fécondation (%)	71 (± 19) [21,4-100]	11,8 ($\pm 7,98$) [0-20]	<0,001

NS : non significatif

Tableau 6 : Paramètres spermatiques, ovocytaires et embryonnaires : Analyse descriptive et comparaison des groupes "Échec" (absence de fécondation ou pauci-fécondation) et "Témoins" en ICSI.

(Les résultats sont exprimés en moyenne, extrêmes ou pourcentages)

V. DISCUSSION

L'objectif de notre travail était d'identifier les facteurs prédictifs d'un échec complet ou d'une pauci-fécondation en FIV et en ICSI.

Nos résultats sont en accord avec les données de la littérature, où les taux d'échec complet de fécondation varient entre 5 et 20% pour la FIV classique et entre 2 et 5% en ICSI selon les études. Dans notre travail, les taux d'échec complet ou de pauci fécondation, sont respectivement de 15,4% en FIV et 3,3% en ICSI.

Ces variations de taux entre les études sont en lien avec les différences de population étudiée. (10,12) Certains excluent les tentatives pour lesquelles l'origine du sperme a nécessité un recueil chirurgical (biopsie testiculaire ou épидидymaire), considérant ce dernier comme de moins bonne qualité et donc moins apte à féconder, afin de ne pas biaiser les résultats en termes de taux de fécondation et de développement embryonnaire. Dans ce travail, nous avons pris le parti d'inclure toutes les tentatives effectuées en intra-couple, quelle que soit l'origine du sperme afin de correspondre à la réalité clinique d'un centre de médecine et biologie de la reproduction.

De plus, afin de pouvoir conclure ou non à un échec de fécondation ou à une pauci fécondation, sur une cohorte ovocytaire de taille satisfaisante, nous avons décidé d'exclure toutes les tentatives pour lesquelles la ponction ovocytaire avait permis d'obtenir moins de 5 ovocytes. (28) Dans certains travaux, seules les patientes ne présentant aucun ovocyte à l'issue de la ponction avaient été exclues. (12) Les échecs complets de fécondation en FIV et en ICSI sont des événements rares. C'est pourquoi, afin d'obtenir un effectif suffisant dans chacun des deux groupes comparés, le groupe « Échec » a été défini par un cycle ne présentant aucun signe de fécondation ou une pauci-fécondation avec un taux de fécondation inférieur ou égal à 20%.

Le caractère rétrospectif et monocentrique de notre travail nécessite la confirmation de nos résultats, par la réalisation d'une étude prospective et multicentrique dans plusieurs centres de biologie et médecine de la reproduction en France. De surcroît, le faible effectif de notre groupe « Échec » représente également une limite à ce travail et à l'interprétation des résultats. Nous avons pris le parti de recueillir les données sur 4 ans, dans le but d'obtenir une cohorte de taille suffisante, mais au décours de ces 4 années, des modifications des pratiques inhérentes à l'arrivée de nouveaux membres dans l'équipe et à l'adaptation des pratiques selon les dernières recommandations en vigueur, peuvent avoir biaisé le recueil de données.

A noter également que les dosages effectués dans le cadre du bilan d'infertilité et dans le suivi des stimulations ovariennes étaient réalisés dans différents laboratoires d'analyses, dont les techniques d'analyse, les seuils, ainsi que le calibrage des appareils peuvent varier.

Cette cohorte reflète la pratique quotidienne au sein de notre centre de PMA, mais la composition démographique de la ville étudiée et nos pratiques internes peuvent ne pas refléter les pratiques des autres centres de PMA. De ce fait, nos résultats ne peuvent pas être étendus à tous les centres d'AMP.

Néanmoins notre étude permet de montrer que les résultats de nos pratiques de centre sont superposables à ceux trouvés dans la littérature.

En ce qui concerne les facteurs explicatifs des échecs de fécondation, la littérature évoque principalement des paramètres masculins en FIV. Nos résultats retrouvaient que le pourcentage de formes typiques était significativement plus bas dans le groupe « Échec » par rapport aux patients du groupe « Témoins » : 12,3% versus 15,9% ($p= 0,022$). Toutefois, le pourcentage de formes typiques est supérieur au seuil de 4% définissant la tératozoospermie (en respectant les critères stricts de la classification de Kruger). Dans la littérature, plusieurs auteurs ont montré une corrélation entre les échecs de fécondation et la tératozoospermie. (24,27) A contrario, des études plus récentes présentaient des résultats discordants avec des taux de fécondation comparables quel que soit le pourcentage de formes typiques, variant de 64% à 68% pour un pourcentage de formes typiques allant de $< 1\%$ et $\geq 5\%$. (29) Il semblerait également que la variable spermatique la plus corrélée à la capacité de fixation à la zone pellucide soit la morphologie spermatique, la globozoospermie semble associée à un fort taux d'échec de fécondation. (10,30)

Parmi les causes masculines d'infertilité, on notait la présence significative d'une asthénozoospermie chez 16% des patients du groupe « Échec », contre 4,6% du groupe « Témoins » ($p= 0,011$). Par ailleurs, les autres caractéristiques des analyses spermatisques (concentration de spermatozoïdes sur recueil, mobilité progressive avant et après sélection et TMS) des patients le jour de la ponction étaient équivalentes dans les 2 groupes. Van der Westerlaken et al. retrouvaient que la mobilité spermatique était un paramètre explicatif pertinent, avec une différence significative entre les groupes « mobilité $\geq 50\%$ » et « mobilité comprise entre 30 et 50% » sur les taux de fécondation. (15) Une de nos limites est le laps de temps écoulé entre le spermogramme réalisé dans le cadre du bilan d'infertilité et la tentative de fécondation in vitro qui pouvait être long, parfois jusqu'à plusieurs mois, or la durée d'un cycle de spermiogénèse étant de 3 mois, les paramètres spermatisques pouvaient fluctuer d'un cycle à un autre. Gallon et al. suggèrent que les spermatozoïdes à haut potentiel de membrane

mitochondriale représenteraient une population avec un fort pouvoir fécondant, car ils seraient associés à un taux de spermatozoïdes mobiles élevé, de morphologie normale, et avec une forte capacité à induire la réaction acrosomique. Dans la sous population de spermatozoïdes avec un haut potentiel de membrane mitochondriale, le score ARIC : Acrosome Response to Ionophore Challenge serait élevé tandis qu'un score ARIC < 10% serait plus souvent associé à des échecs de fécondation (norme > 20%). (10,20) En 2001, Rhemrev et al. suggéraient l'existence d'une corrélation inverse entre le nombre de follicules ponctionnés et le nombre de spermatozoïdes mobiles et progressifs obtenus après lavage (TPMC) sur les taux de fécondation. Dans cette étude la norme fixée pour avoir une probabilité d'échec considérée comme acceptable (<25% dans cette étude) était de $1.11 \cdot 10^6$ spermatozoïdes, $2.22 \cdot 10^6$ en cas de pauvre réponse folliculaire (=1 à 4 ovocytes), $0.97 \cdot 10^6$ si le nombre de follicules se situait entre 5 et 9, et $0.35 \cdot 10^6$ pour un nombre de follicules > 15. (23,24) Des tests secondaires aux analyses spermologiques conventionnelles ont été étudiés afin de savoir s'ils pouvaient prédire un échec de fécondation. Selon Durand et al. deux tests semblent prédictifs d'une pauci-fécondation ou d'un échec complet de fécondation en FIV lié à une cause spermatique : le test de fixation à la zone pellucide et le test dynamique évaluant la réaction acrosomique induite. (10,19)

D'autres paramètres, liés à la stimulation en elle-même pourraient avoir un rôle déterminant dans la fécondation. Le type de gonadotrophines utilisé pour la stimulation ovarienne affecte le profil endocrine du liquide folliculaire et le taux d'apoptose des cellules du cumulus. On note des taux de FSH plus élevés lors de l'utilisation de FSH urinaire, et des taux d'apoptose plus faibles, ce qui renforce le rôle de facteur de survie de la FSH. (25)

A ce jour la littérature ne fait pas mention de tests utilisables en routine au sein d'un centre d'AMP et ayant un niveau de preuve suffisant pour prédire une responsabilité ovocytaire lors d'un échec complet de fécondation en FIV. A noter dans nos résultats que 36% des patientes du groupe « Témoins » présentaient de manière significative une endométriose diagnostiquée contre seulement 15% des patientes du groupe « Échec » ($p = 0,017$). Néanmoins, l'évaluation de la réserve ovarienne reposant à la fois sur les dosages de FSH, et d'AMH et sur le CFA étaient comparables entre les deux groupes, ainsi que la réponse à la stimulation ovarienne et le nombre d'ovocytes ponctionnés et inséminés. Aucun facteur prédictif d'un échec complet ou d'une pauci-fécondation en FIV n'a pu être clairement identifié afin d'orienter d'emblée les couples vers l'ICSI. Actuellement, la stratégie retenue après un premier échec complet de fécondation survenu au décours d'une première tentative de FIV classique avec un nombre suffisant d'ovocytes inséminés, est de recommander l'ICSI pour la tentative ultérieure. (10,15)

En ce qui concerne les facteurs explicatifs d'échecs de fécondation en ICSI, nos résultats retrouvent une différence significative concernant le tabagisme actif chez l'homme avec 62% de patients déclarant une consommation de tabac de manière active dans le groupe "Échec" contre 36% dans le groupe "Témoins" ($p = 0,015$). Les effets néfastes du tabac sur la fertilité masculine sont connus et démontrés avec notamment une diminution de la concentration et de la mobilité spermatique, et du pourcentage de formes typiques et une augmentation de la fragmentation de l'ADN spermatique. (32) Même si les résultats de l'ICSI sont indépendants des analyses spermatiques et que nous n'avons pas retrouvé de différence significative sur les paramètres spermatiques le jour de la tentative entre les 2 groupes, ceci est en accord avec les données de la littérature. Afin d'optimiser le traitement du couple infertile, la prise en charge doit être globale et passe par la recherche d'une consommation tabagique afin d'inciter le patient au minimum, à réduire sa consommation de cigarettes et au mieux, à un sevrage complet afin d'améliorer les chances de réussite en AMP.

A noter, que l'IMC moyen chez la femme était plus élevé dans le groupe "Échec" avec un IMC moyen de 27,6 kg/m² contre 25 kg/m² dans le groupe "Témoins" ($p=0,021$). De même que le tabagisme actif chez l'homme, il semble qu'une prise en compte des facteurs environnementaux et nutritionnels de chaque membre du couple s'inscrive dans la prise en charge globale d'un couple en AMP. Dans notre travail, les 2 groupes étaient comparables notamment sur les antécédents féminins liés à l'infertilité et l'évaluation de la réserve ovarienne par les dosages hormonaux et le CFA.

Un faible nombre d'ovocytes matures, une altération des ovocytes par la technique, un défaut d'activation ovocytaire sont des facteurs explicatifs d'échecs de fécondation en ICSI rapportés dans la littérature. (12,14,21,31)

Le nombre de follicules supérieurs à 14 mm en échographie le jour du déclenchement était moindre dans le groupe "Échec" en comparaison au groupe « Témoins ». De plus, nos résultats retrouvent une différence significative concernant le nombre d'ovocytes ponctionnés ($p<0,001$) et le nombre d'ovocytes micro-injectés ($p<0,01$) qui étaient moindre dans le groupe "Échec", en concordance avec les données actuelles de la littérature. A noter, qu'un réseau a été mis en place dans la région des Hauts de France, afin de faciliter le suivi des patientes au cours de leurs protocoles de stimulation, ainsi les monitorages échographique et biologique étaient réalisés dans des centres différents avec une variabilité inter opérateur inhérente à l'échographie.

Kinzer et al. retrouvaient des conclusions similaires avec une différence significative en termes de nombre de follicules, de nombre total d'ovocytes ponctionnés et matures, avec un

chiffre plus faible en cas d'échec de fécondation. (18) En accord également avec d'autres travaux sur le sujet, un nombre insuffisant d'ovocytes en métaphase II semble responsable d'un échec de fécondation en ICSI. (10,33) Kahyaoglu et al. montraient également une différence significative sur le nombre de follicules matures échographiquement et sur le nombre d'ovocytes ponctionnés entre leurs 2 groupes d'étude. (13) Combelles et al. suggèrent que des anomalies des composants cytoplasmiques ovocytaires pourraient être responsables des cas d'échec complet de fécondation. En 2014 l'étude de Inci Kahyaoglu renforce cette hypothèse en obtenant des taux de fécondation, de clivage et une qualité embryonnaire plus faibles dans le groupe présentant des inclusions cytoplasmiques. (13,22) Xing et al. suggéraient des pistes pour contourner les échecs de fécondation liés à un défaut ovocytaire, en tentant d'améliorer le nombre d'ovocytes matures, ou en utilisant l'ICSI conjointement à l'activation ovocytaire assistée (par voie mécanique, chimique ou électrique). (31) La stratégie retenue après un premier échec de fécondation en ICSI est de proposer une nouvelle tentative d'ICSI après optimisation des paramètres de la stimulation ovarienne afin d'augmenter le nombre d'ovocytes micro-injectés. Lorsque la cause est spermatique, il est indiqué de tenter une ICSI modifiée avec utilisation de pentoxifiline, ou intracytoplasmic morphologically selected sperm injection (IMSI), parfois associé à une activation ovocytaire assistée. Cependant, toutes ces techniques de seconde intention peuvent également se solder par un échec de fécondation, la solution pour ces couples pourrait alors être le recours au don d'ovocytes.

VI. CONCLUSION

Notre étude rejoint les données de la littérature, avec un taux d'échec complet de fécondation ou de pauci-fécondation de 15,4 % en FIV et de 3,3 % en ICSI. Dans notre travail conformément aux données actuelles de la littérature, des facteurs explicatifs masculins sont retrouvés en FIV avec notamment la présence d'une asthénozoospermie ou d'un pourcentage de forme typique inférieur sur les explorations spermatiques. En ICSI, le faible nombre d'ovocyte micro-injecté est le seul facteur que nous mettons en évidence, conformément aux autres travaux sur le sujet. Les causes possibles d'échec de fécondation sont multiples et complexes.

Aucun facteur prédictif masculin et/ou féminin strict d'échec de fécondation en FIV ou en ICSI n'a pu être identifié dans ce travail afin d'anticiper et d'orienter d'emblée les couples vers l'ICSI.

L'ICSI reste le traitement de référence en cas d'altérations spermatiques majeures, ou d'échec de fécondation en FIV classique. C'est pourquoi, en l'absence de cause masculine identifiée, la littérature ne recommande pas d'utiliser l'ICSI en première intention dans le but de minimiser le risque d'échec de fécondation.

Il serait donc intéressant de poursuivre ce travail par une étude prospective avec des effectifs plus importants, afin d'améliorer la prise en charge des couples confrontés à un échec de fécondation.

VII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1 - Ray, P.-F. Causes masculines des échecs prévisibles en fécondation in vitro (FIV) avec injection spermatique intracytoplasmique (ICSI). *Gynécologie, Obstétrique & Fertilité* 2010 ; 38 : 114-118.
- 2 - Vander Borgh M, Wyns C. Fertility and Infertility: definition and epidemiology. *Clinical Biochemistry* 2018 ; 62 : 2-10.
- 3 - Amdani S-N, Jones C, Coward K. Phospholipase C Zeta (PLC ζ): oocyte activation and clinical links to male factor infertility. *Advances in Biological Regulation* 2013 ; 53 : 292-308.
- 4 - Niederberger C, Pellicer A, et al. Forty Years of IVF. *Fertility and Sterility* 2018 ; 110 : 185-324.
- 5 - Ju Yeong K, Jee Hyun K, Byung Chul J, Jung Ryeol L, Chang Suk S, Seok Hyun K. Can intracytoplasmic sperm injection prevent total fertilization failure and enhance embryo quality in patients with non-male factor infertility? *EJOG* 2014 ; 178 : 188-191.
- 6 - Vaiman D, Multigner L, Binart N. Infertilité ; Des difficultés à concevoir d'origine multiple. INSERM [en ligne]. Consulté le 12 juillet 2020. Mis à jour le 19 septembre 2019. Disponible sur <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/infertilite>
- 7 - Anifandis G, Michopoulos A, Daponte A, Chatzimeletiou K, Simopoulou M et al. Artificial oocyte activation: physiological, pathophysiological and ethical aspects. *Systems Biology in Reproductive Medicine* 2019 ; 65 : 3-11.
- 8 - Swain J-E. et Pool T-B. ART Failure: oocyte contributions to unsuccessful fertilization. *Human Reproduction Update* 2008 ; 14 : 431-446.
- 9 - Zahabiya H, Chithiwala, Hoi Chang L, Hill D-L, Jellerette-Nolan T, Fissore R, Grow D, Dumesic D-A. Phospholipase C-Zeta deficiency as a cause for repetitive oocyte fertilization failure during ovarian stimulation for in vitro fertilization with ICSI: a case report. *J Assist Reprod Genet* 2015 ; 32 : 1415-1419.
- 10 - Durand M, Sifer C. Échecs complets de fécondation après FIV ou ICSI : Peut-on les prédire ? Conduite à tenir ? *Gynécologie, Obstétrique & Fertilité* 2013 ; 41 : 727-734.
- 11 - Gianaroli L, Racowsky C, Geraedts J, Cedars M, Makrigiannakis A, Lobo R. Best practices of ASRM and ESHRE: a journey through reproductive medicine. *Human Reproduction* 2012 ; 27 : 3365-3379.
- 12 - Peultier A-S, Fréour T, Cazenave N, Barrière P. Les échecs de fécondation en FIV et en ICSI. *Journal de Gynécologie-Obstétrique et biologie de la reproduction* 2015 ; 44 : 380-386.
- 13 - Kahyaoglu I, Demir B, Turkkani A, Cinar O, Dilbaz S, Dilbaz B, Mollamahmutoglu L. Total fertilization failure: is it the end of the story? *J Assist Reprod Genet* 2014 ; 31: 1155-1160.

- 14 - Mahutte N-G, Arici A. Failed fertilization: is it predictable? *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology* 2003 ; 15 : 211-218.
- 15 - Van der Westerlaken L, Helmerhorst F, Dieben S, Naaktgeboren N. Intracytoplasmic sperm injection as a treatment for unexplained total fertilization failure or low fertilization after conventional in vitro fertilization. *Fertility and Sterility* 2005 ; 83 : 612-617.
- 16 - Krog M, Prior M, Carlsen E, Loft A, Forman J, Pinborg A, Nyboe Andersen A. Fertilization failure after IVF in 304 Couples: a case control study on predictors and long-term prognosis. *EJOG* 2015 ; 184 : 32-37.
- 17 - Nasr-Esfahani M-H, Razavi S, Tavalae M. Failed fertilization after ICSI and spermogenic defects. *Fertility and Sterility* 2008 ; 89 : 892-898.
- 18 - Kinzer D-R, Brent Barrett C, Douglas Powers R. Prognosis for clinical pregnancy and delivery after total fertilization failure during conventional in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection. *Fertility and Sterility* 2008 ; 90 : 284-288.
- 19 - De Yi Liu H, Gordon Baker H-W. Sperm nuclear chromatin normality: relationship with sperm morphology, sperm-zona pellucida binding, and fertilization rates in vitro. *Fertility and Sterility* 1992 ; 58 : 1178-1184.
- 20 - Gallon F, Marchetti C, Jouy N, Marchetti P. The functionality of mitochondria differentiates human spermatozoa with high and low fertilizing capability. *Fertility and Sterility* 2006 ; 86 : 1526-1530.
- 21 - Ebner T, Moser M, Sommergruber M, Jesacher K, Tews G. Complete oocyte activation failure after ICSI can be overcome by a modified injection technique. *Human Reproduction* 2004 ; 19 : 1837-1841.
- 22 - Combelles M.H C, Morozumi K, Yanagimachi R, Zhu L, H.Fox J, Racowsky C. Diagnosing cellular defects in an unexplained case of total fertilization failure. *Human Reproduction* 2010 ; 25 : 1666-1671.
- 23 - Rhemrev J-P, Lens J-W, McDonnell J, Schoemaker J, Vermeiden J-P. The postwash total progressively motile sperm cell count is a reliable predictor of total fertilization failure during in vitro fertilization treatment. *Fertility and Sterility* 2001 ; 76 : 884-891.
- 24 - Repping S, Van Weert J-M, Ben W. J. Mol, Jan W. A. de Vries, Van der Veen F. Use of the total motile sperm count to predict total fertilization failure in in vitro fertilization. *Fertility and Sterility* 2002 ; 78 : 22-28.
- 25 - Requena A, Cruz M, Agudo D, Pacheco A, García-Velasco J-A. Type of gonadotropin during controlled ovarian stimulation affects the endocrine profile in follicular fluid and apoptosis rate in cumulus cells. *EJOG* 2016 ; 197 : 142-146.
- 26 - Huang Y-L, Du H-Z, Kang X-J, Fan Y. Related factors of in vitro fertilization and embryo transfer patients with complete fertilization failure. *Journal of Reproduction and Contraception* 2013 ; 24.

- 27 - Guide de bonnes pratiques cliniques et biologiques en Assistance Médicale à la Procréation. Légifrance [en ligne]. JORF n°50 du 28 février 1999 (Page 3061). Arrêté du 12 janvier 1999. (Consulté le 25 août 2020). Disponible sur www.legifrance.gouv.fr
- 28 - Ferraretti A. P, La Marca A, Fauser B-C-J-M, Tarlatzis B, Nargund G, Gianaroli L, ESHRE working group on Poor Ovarian Response Definition. ESHRE consensus on the definition of “poor response” to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Human Reproduction* 2011 ; 26 : 1616-1624.
- 29 – Keegan B-R, Barton S, Sanchez X, Berkeley A-S, Krey L-C, Grifo J. Isolated teratozoospermia does not affect in vitro fertilization outcome and is not an indication for intracytoplasmic sperm injection. *Fertility and Sterility* 2007 ; 88 : 1583-1588.
- 30 - Gamzu R.L, Yogev L, Amit A, Lessing J, Homonnai Z-T, Yavetz H. The hemizona assay is of good prognostic value for the ability of sperm to fertilize oocytes in vitro. *Fertility and Sterility* 1994 ; 62 : 1056-1059.
- 31 – Xing X, Zhao H, Li M, Sun M, Li Y, Chen Z-J. Morphologically abnormal oocytes not capable of fertilization despite repeated strategies. *Fertility and Sterility* 2011; 95 : 2435.e5-2435.e7.
- 32 - Bendayan M, Alter L, Swierkowski-Blanchard N, Caceres-Sanchez L, Selva J, Robin G, et al. Toxiques, mode de vie, environnement : quels impacts sur la fertilité masculine ? *Gynécologie Obstétrique Fertilité & Sénologie* 2018 ; 46 : 47- 56.
- 33 - Esfandiari N, Javed M, Gotlieb L, Casper R. Complete failed fertilization after intracytoplasmic sperm injection-analysis of 10 years’ data. *Int J Fertil Womens Med.* 2005 ; 50 : 187.
- 34 - Embryology ESIG and Alpha Scientists in Reproductive Medicine. The Vienna consensus: report of an expert meeting on the development of ART laboratory performance indicators. *Hum Reprod Open.* 2017 : 1-17.
- 35 - Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *The Lancet* 1992 ; 340 : 17-18.
- 36 - Lucas H, Lammers J, Pfeffer J, Aknin I, Carré-Pigeon F, Jafou N, et al. FIV conventionnelle versus ICSI sur une même cohorte ovocytaire: analyse de l’expérience française pour les BLEFCO. *Gynécologie Obstétrique Fertil.* 2010 ; 38 : 515–520.

VIII. RESUME

Facteurs explicatifs ou prédictifs d'un échec de fécondation en Fécondation In Vitro classique et en Fécondation In Vitro avec Injection Intra Cytoplasmique de Spermatozoïde : Résultats d'une étude rétrospective au CHU d'Amiens.

Objectif : Le but de ce travail est d'identifier les facteurs explicatifs d'un échec complet ou d'une pauci-fécondation (avec un taux de fécondation inférieur ou égale à 20 %) en fécondation in vitro (FIV) et en FIV avec injection intra-cytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI).

Matériel et Méthodes : Il s'agit d'une étude de cohorte rétrospective de type cas-témoins incluant 916 cycles sur la période du 1er janvier 2016 au 31 décembre 2019 au centre hospitalier universitaire Amiens-Picardie. Deux groupes sont constitués : le groupe «Echec», pour lequel une absence totale de fécondation ou une pauci-fécondation en FIV et ICSI était observées et le groupe «Témoins» (avec un taux de fécondation supérieur à 20 %).

Résultats : Le groupe "Echec" qui incluait 44 cycles en FIV et 21 cycles en ICSI a pu être comparé au groupe "Témoins" comportant respectivement 241 cycles en FIV et 610 cycles en ICSI. Le taux d'échec complet de fécondation ou de pauci-fécondation était de 15,4 % en FIV et de 3,3 % en ICSI. En FIV, on notait la présence d'une asthénozoospermie chez 16 % des patients du groupe "Echec", contre 4,6% des patients du groupe "Témoins", de manière significative ($p = 0,011$). De plus, le pourcentage de formes typiques était significativement plus bas dans le groupe "Echec" ($p = 0,022$). En ICSI, on retrouvait des différences significatives concernant le nombre de follicule supérieur à 14 mm à l'échographie le jour du déclenchement ($p < 0,01$), ainsi que sur le nombre d'ovocytes ponctionnés et micro-injectés ($p < 0,001 / p < 0,01$) moindres dans le groupe " Echec ".

Conclusion : Nos résultats sont concordants avec ceux de la littérature. Une altération des paramètres spermatiques est mise en cause en cas d'échec de fécondation ou de pauci fécondation en FIV tandis qu'en ICSI c'est le faible nombre d'ovocyte micro-injecté qui est incriminé dans les échecs de fécondation. A l'heure actuelle, les échecs de fécondation restent des évènements rares et imprévisibles. L'ICSI permet de garantir des taux de fécondation élevés, autour de 70 %, mais n'exclut pas totalement la possibilité d'échec de fécondation.

Mots clés : PMA, infertilité, échec de fécondation, FIV, ICSI

Predictors of fertilization failure in conventional In Vitro Fertilization and In Vitro Fertilization with Intracytoplasmic Sperm Injection : Results of a retrospective study at the CHU of Amiens.

Background : The main objective of this study is to identify the predictive or explanatory factors of a complete failure or pauci-fertilization (fertilization rate less than or equal to 20%) in conventional In Vitro Fertilization (IVF) and IVF with intracytoplasmic sperm injection (ICSI).

Methods : This is a retrospective case-control cohort study including 916 cycles over the period from January 1st, 2016 to December 31th, 2019 at the Amiens-Picardie University Hospital Centre. Two groups are constituted: the "Failure" group, for which a total absence of fertilisation or poor fertilisation in IVF and ICSI was observed, and the "Control" group (with a fertilisation rate of more than 20%).

Results: The "Failure" group, which included 44 cycles in IVF and 21 cycles in ICSI, could be compared to the "Control" group with 241 cycles in IVF and 610 cycles in ICSI respectively. The rate of complete fertilisation failure or pauci-fertilisation was 15.4% in IVF and 3.3% in ICSI. In IVF, asthenozoospermia was present in 16% of patients in the "Failure" group, compared to 4.6% of patients in the "Control" group, significantly ($p = 0.011$). Furthermore, the percentage of typical forms was significantly lower in the "Failure" group ($p= 0.022$). In ICSI, there were significant differences in the number of follicles greater than 14 mm on ultrasound on the day of induction ($p<0.01$), as well as in the number of oocytes punctured and microinjected ($p<0.001/ p<0.01$) less in the "Failure" group.

Conclusion: Our results are consistent with those in the literature. An alteration in sperm parameters is implicated in the case of fertilisation failure or poor fertilisation in IVF, whereas in ICSI it is the low number of micro-injected oocytes which is incriminated in fertilisation failures. At present, fertilisation failures remain rare and unpredictable events. ICSI makes it possible to guarantee high fertilisation rates, around 70%, but does not totally exclude the possibility of total fertilisation failure.

Key words: ART, Infertility, Fertilization failure, IVF, ICSI

