



HAL
open science

Évaluation de l'impact d'une sérologie Chlamydia trachomatis positive sur les taux cumulés de naissance vivante en fécondation in vitro

Clara Gadenne

► **To cite this version:**

Clara Gadenne. Évaluation de l'impact d'une sérologie Chlamydia trachomatis positive sur les taux cumulés de naissance vivante en fécondation in vitro. Sciences du Vivant [q-bio]. 2022. dumas-03826201

HAL Id: dumas-03826201

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03826201v1>

Submitted on 24 Oct 2022

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.

UNIVERSITE DE LA RÉUNION

UFR SANTE

Année : 2022

N° : 2022LARE068M

**THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE**

THÈSE - ARTICLE

**Évaluation de l'impact d'une sérologie Chlamydia trachomatis
positive sur les taux cumulés de naissance vivante
en fécondation in vitro**

Présentée et soutenue publiquement le 03 Octobre 2022 à 16h00
à Marseille

Par Clara GADENNE

JURY :

Président :

Madame le Professeur Jeanne PERRIN

Assesseurs :

Monsieur le Professeur Peter VON THEOBALD

Madame le Docteur Laura MIQUEL

Directeur de Thèse :

Madame le Professeur Blandine COURBIERE

SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité.

Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire. Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément. Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission.

Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité. Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION.....	12
MATÉRIELS ET MÉTHODES	15
1. Population	15
2. Sérologie Chlamydia trachomatis.....	16
3. Bilan d'infertilité	16
4. Protocole de stimulation.....	17
5. Paramètres étudiés	18
6. Analyses statistiques.....	19
7. Considérations éthiques.....	19
RÉSULTATS	20
DISCUSSION	24
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	28
ANNEXE	31
ARTICLE.....	32

TABLEAUX ET FIGURES

FIGURES

Figure 1 : Cycle de développement de Chlamydia trachomatis	13
Figure 2 : Diagramme de flux de la population étudiée	20

TABLEAUX

Tableau 1 : Caractéristiques cliniques et biologiques initiales de la population étudiée	21
Tableau 2 : Données et caractéristiques des cycles de FIV/ICSI.....	22
Tableau 3 : Sérologie Chlamydia trachomatis et issues de grossesse par cycle de FIV/ICSI	23

TABLE DES ABRÉVIATIONS

AFS	: American Fertility Society
AMH	: Hormone anti-müllérienne
AMP	: Assistance médicale à la procréation
CE	: Corps élémentaire
CHSP60	: Chlamydia Heat Shock Protein 60 kDa
CLIA	: Chemiluminescence Immunoassay
CNGOF	: Collège national des gynécologues et obstétriciens français
CR	: Corps réticulé
CT	: <i>Chlamydia trachomatis</i>
DOR	: Diminution de la réserve ovarienne
E2	: Oestradiol
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FIV	: Fécondation in vitro
FSH	: Hormone folliculo-stimulante
GnRH	: Gonadotropin-Releasing Hormone
HAS	: Haute Autorité de santé
HCG	: Hormone chorionique gonadotrope
HMG	: Gonadotrophine humaine ménopausique
HSP60	: Heat Shock Protein 60 kDa
HSPs	: Heat Shock Proteins
ICSI	: Injection intra cytoplasmique de spermatozoïdes
IGG	: Immunoglobuline G
IGH	: Infection génitale haute
IMC	: Indice de masse corporelle
IRM	: Imagerie par résonance magnétique
IST	: Infection sexuellement transmissible
LH	: Hormone lutéinisante
MIF	: Microimmunofluorescence
MOMP	: Major Outer Membran Protein
OATS	: Oligoasthénospermie
OMS	: Organisation mondiale de la santé
PCR	: Polymerase Chain Reaction
SA	: Semaine d'aménorrhée
TEC	: Transfert d'embryon congelé
TMS	: Test de migration survie

INTRODUCTION

Chlamydia trachomatis (CT) est une bactérie intracellulaire, représentant la principale cause d'infection sexuellement transmissible (IST) bactérienne. Elle touche particulièrement les femmes jeunes. Selon le rapport de la Haute Autorité de Santé (HAS), la prévalence de l'infection à CT en France en 2006 chez les femmes âgées de 18 à 25 ans a été estimée à 3,6 % (1). En France en 2020, 142 082 personnes ont été testées positives pour une infection à CT. Parmi celles-ci, 70 % étaient des femmes (2). L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a estimé à 129 millions le nombre de nouvelles infections à *Chlamydiae* dans le monde en 2020 (3).

L'infection à CT peut se manifester par une atteinte génitale basse avec un tableau de vaginite ou de cervicite. Dans 60 à 70 % des cas, l'infection demeure asymptomatique (1) favorisant d'une part sa propagation dans la population en cas de rapports sexuels non protégés, et d'autre part l'ascension de la bactérie au niveau du tractus génital, pouvant aboutir à une infection génitale haute (IGH) (4,5). En cas de traitement bien conduit, une IGH peut ne pas avoir de conséquence clinique. Cependant, l'atteinte inflammatoire pelvienne et les adhérences séquellaires peuvent entraîner des dommages irréversibles au niveau tubaire, conduisant à un risque accru d'infertilité tubaire (6) et de grossesse extra-utérine (7). Certaines études se sont intéressées au lien entre CT et la grossesse : la sérologie CT positive était associée à une diminution de chances de grossesse spontanée (8,9) ainsi qu'une augmentation du risque de fausse couche (10).

L'impact de CT peut s'expliquer par la physiopathologie de l'infection. La bactérie évolue sous trois formes antigéniquement distinctes : le corps élémentaire (CE) est la forme extracellulaire et infectieuse, responsable de la dissémination de l'infection. Sa membrane externe se compose de protéines de structure telles que les protéines majeures de la membrane externe, appelées « *Major Outer Membran Protein* » (MOMP), qui sont spécifiques d'espèce et de sérovar. Le corps réticulé (CR) est la forme intracellulaire, responsable de la réplication de la bactérie. Le corps aberrant représente la forme persistante, responsable de la chronicité de l'infection. Cette forme a une structure antigénique particulière, riche en protéines de stress que sont les « *Chlamydia Heat Shock Protein 60 kDa* » (CHSP60) c'est-à-dire les protéines de choc thermique 60 kDa, spécifiques de la bactérie *Chlamydiae*. La présence d'anticorps anti-CHSP60 témoigne d'une infection chronique à *Chlamydiae* (11).

Le cycle de développement de *Chlamydiae* passe par plusieurs étapes (figure 1) : le corps élémentaire s'attache à la cellule hôte puis il est incorporé dans le phagosome de celle-ci. Cela permet l'inhibition de la fusion phagolysosomale, la bactérie n'est pas détruite ce qui favorise sa survie dans les cellules épithéliales de l'hôte. Le corps élémentaire se différencie en corps réticulé qui se multiplie ensuite avec une croissance par fission binaire. Puis les corps réticulés créés se différencient à leur tour en corps élémentaires, qui sont ensuite relâchés dans le milieu extracellulaire par lyse de la cellule ou par extrusion. Les corps élémentaires relâchés s'attachent aux cellules épithéliales adjacentes et créent un nouveau cycle d'infection. La capacité de la bactérie à se transformer de façon répétée de la forme quiescente (corps élémentaire, CE) à la forme répliquative (corps réticulé, CR) favorise la survie de la bactérie dans l'appareil génital féminin.

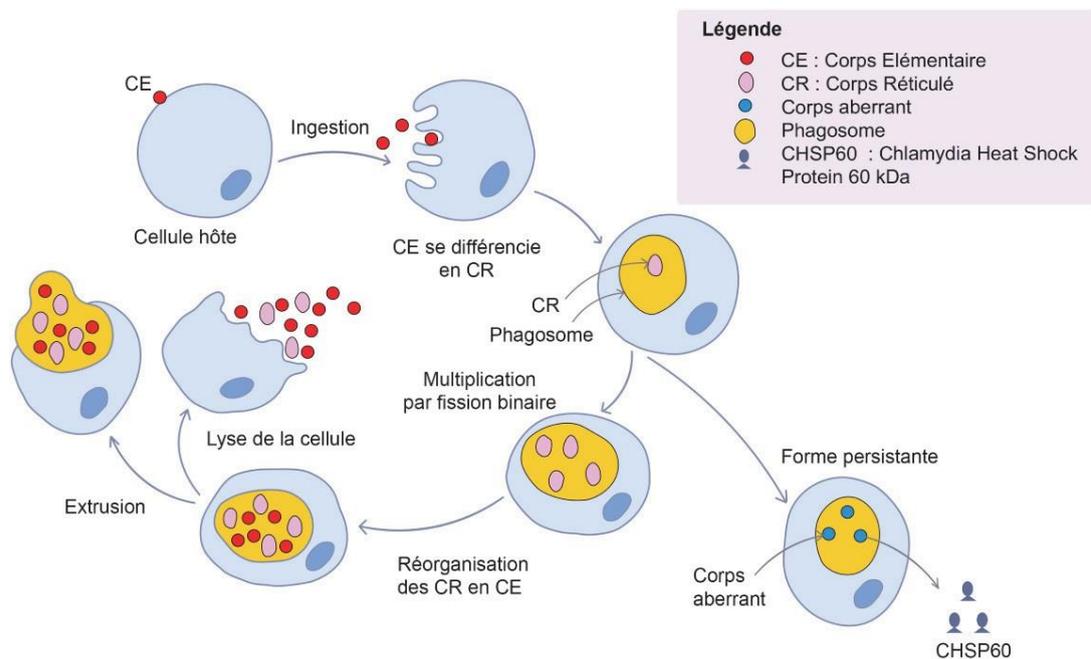


Figure 1 : Cycle de développement de *Chlamydia trachomatis*

Dans certaines circonstances, le cycle de développement est altéré : le corps réticulé ne se différencie pas en corps élémentaire mais persiste sous une forme altérée appelée le corps aberrant : c'est la forme chronique de l'infection. Dans la forme persistante, les gènes de CHSP60 sont surexprimés et libérés (12). Quand il est libéré dans l'environnement extracellulaire, CHSP60 induit une réponse immunitaire pro-inflammatoire notamment au niveau de l'épithélium des trompes de Fallope, pouvant aboutir à des dommages tissulaires, allant jusqu'à la fibrose et l'occlusion tubaire (13).

En cas d'infertilité d'origine tubaire due à une séquelle d'infection génitale haute à CT, la stratégie de prise en charge repose sur la fécondation in vitro (FIV). Quelques études ont étudié l'impact d'une infection à CT sur les résultats de la FIV. Les résultats sont discordants : certaines études n'ont pas retrouvé d'association entre une sérologie CT positive et le taux de grossesse en FIV (14–16). D'autres études ont observé qu'une infection à CT, par la réaction inflammatoire chronique, pouvait entraîner une altération de l'endomètre ayant pour conséquence une diminution des taux d'implantation (17) et de grossesse évolutive en FIV (18,19). Licciardi et al. a retrouvé une augmentation du taux de fausse couche en FIV chez les femmes ayant une sérologie CT positive (20). Keay et al. a mis en évidence une prévalence significativement plus élevée d'anticorps anti-CT chez les femmes étant définies comme mauvaises répondeuses à la stimulation ovarienne en FIV (21). Pacchiaroti et al. a retrouvé une diminution significative du nombre d'ovocytes matures ponctionnés chez les femmes pour lesquelles des anticorps anti-CT ont été détectés dans le sérum et dans le liquide folliculaire (22).

Au regard de la littérature actuelle, l'évaluation de l'impact de la sérologie CT sur les taux de grossesse en FIV reste peu développée et repose sur des études anciennes, présentant des résultats discordants. L'objectif de notre étude a été d'évaluer les taux cumulés de naissance vivante en FIV des femmes ayant une sérologie CT positive, par rapport à une population de femmes témoins ayant une sérologie CT négative.

MATERIELS ET METHODES

1. Population

Nous avons mené une étude observationnelle historique rétrospective unicentrique, entre le 1^{er} janvier 2016 et le 31 décembre 2021. Les données des patientes ont été analysées rétrospectivement dans le centre d'assistance médicale à la procréation (AMP) de l'Hôpital de La Conception (Marseille, France). Le nombre de sujets à inclure a été contraint par la durée définie de l'étude : janvier 2016 correspondait à la date du début de la réalisation systématique de la sérologie CT dans le bilan de première intention des femmes infertiles dans notre centre d'AMP.

Deux groupes de femmes ont été constitués : les femmes ayant une sérologie CT positive ont été incluses dans le groupe A, et celles ayant une sérologie CT négative dans le groupe B. Les critères d'inclusion étaient les suivants : femmes âgées de 18 à 43 ans, ayant réalisé au moins une ponction pour une FIV ou une injection intra-cytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI) sur la période d'étude, dans le but de transférer par la suite un ou plusieurs embryons frais ou congelés, et pour lesquelles la sérologie CT était documentée. Pour limiter les biais et facteurs pouvant impacter le taux de naissance vivante, les critères de non inclusion étaient les suivants : diagnostic d'endométriose stade III ou IV selon la classification révisée de l'American Fertility Society (AFS) (23), les femmes impliquées dans un programme de don d'ovocytes, les couples ayant bénéficié d'un accueil d'embryon, et les données manquantes pour l'appariement.

Chaque femme ayant une sérologie CT positive a été appariée (1:2) à deux femmes ayant une sérologie CT négative selon les critères d'appariement suivants : l'âge, le taux d'hormone anti-müllérienne (AMH), l'indice de masse corporelle (IMC), la consommation de tabac, le rang de la tentative de FIV et la technique d'AMP (FIV ou ICSI). Pour l'appariement sur l'âge, les femmes ont été classées en quatre catégories : moins de 30 ans, entre 30 et 35 ans, entre 36 et 40 ans et les femmes âgées de plus de 40 ans. Pour le taux d'AMH, les femmes ont été appariées selon les catégories suivantes : ≤ 2 ng/mL (diminution de la réserve ovarienne - DOR), 2–5 ng/mL et > 5 ng/mL (réserve ovarienne élevée). Pour l'IMC, nous avons défini deux catégories : les femmes ayant un $IMC < 30$ kg/m² et les femmes atteintes d'obésité selon la catégorisation de l'OMS, ayant un $IMC \geq 30$ kg/m². Pour le tabagisme, nous avons distingué les femmes ayant une consommation active de tabac et celles ne fumant pas. Les femmes du

groupe B devaient avoir réalisé le même nombre de ponctions que la femme du groupe A à laquelle elles étaient appariées.

2. Sérologie *Chlamydia trachomatis*

Dans notre étude, la réalisation d'une sérologie CT consistait à mettre en évidence dans le sang des anticorps spécifiques de type immunoglobulines G (IgG) anti CT. Parmi les différentes techniques à disposition (la microimmunofluorescence (MIF), le test immunoenzymatique « *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* » (ELISA) et l'immunofluorescence indirecte), la plus utilisée par les laboratoires était la technique ELISA et plus spécifiquement le test immunologique par chimiluminescence « *Chemiluminescence Immunoassay* » (CLIA). Pour les femmes ayant une sérologie CT positive, la réalisation d'un prélèvement vaginal pour une détection directe de la bactérie par « *Polymerase Chain Reaction* » (PCR) était systématique, suivie d'une prescription d'antibiotiques adaptés si le prélèvement revenait positif.

3. Bilan d'infertilité

Un bilan d'infertilité complet de première intention, féminin et masculin, a été réalisé avant toute tentative de stimulation. Les femmes ont bénéficié d'un bilan de leur réserve ovarienne par le compte des follicules antraux en échographie couplé à un dosage hormonal entre le deuxième et le cinquième jour du cycle avec un dosage de l'hormone anti-müllérienne (AMH), de l'hormone folliculo-stimulante (FSH) et de l'œstradiol (E2). L'analyse de la perméabilité tubaire a été effectuée par une hystérosalpingographie ou par une épreuve au bleu tubaire au cours d'une cœlioscopie réalisée pour une indication médicale. Un hydrosalpinx pouvait être suspecté sur une échographie, une hystérosalpingographie ou une imagerie par résonance magnétique (IRM). L'hydrosalpinx était confirmé et pris en charge au cours d'une cœlioscopie, soit par salpingectomie, soit par exclusion tubaire. Une biopsie d'endomètre était réalisée avant le traitement chirurgical d'un hydrosalpinx ou dans le cadre du bilan d'échec d'implantation, caractérisé par l'absence d'obtention d'une grossesse évolutive suite au transfert d'au moins trois embryons de bonne qualité chez une femme de moins de 35 ans (24). Comme décrit par Bouet et al., l'endométrite chronique a été définie par la présence sur un prélèvement endométrial d'au moins cinq plasmocytes pour dix champs à fort grossissement (x400), avec confirmation histologique par une coloration immunohistochimique utilisant le

marqueur syndecan-1 (CD138) (24). En cas de diagnostic d'endométrite chronique, une bi-antibiothérapie probabiliste a été systématiquement instaurée avant la FIV, selon le protocole du service, combinant de la Doxycycline (100 mg deux fois par jour) et du Métronidazole (500mg deux fois par jour) par voie orale, pendant 14 jours. Dans notre centre, nous avons systématiquement réalisé une seconde biopsie sur le cycle suivant l'arrêt de l'antibiothérapie, pour confirmer la guérison.

L'analyse des paramètres spermatiques a été effectuée selon la classification de l'OMS de 2010 (25) sur un spermogramme associé à un spermocytogramme et un test de migration survie (TMS). Dans notre étude, les caractéristiques spermatiques ont été classées en trois catégories selon les paramètres du sperme le jour de la fécondation des ovocytes. Le nombre de spermatozoïdes progressifs dans l'éjaculat a été obtenu en multipliant le volume du sperme initial (en mL) par la concentration initiale de spermatozoïdes (en millions/mL) par le pourcentage de spermatozoïdes mobiles progressifs. Les trois catégories étaient : sperme normal (groupe G1), oligoasthénotéatospermie (OATS) modérée avec plus de cinq millions de spermatozoïdes mobiles progressifs dans l'éjaculat (groupe G2) et OATS sévère avec moins de cinq millions de spermatozoïdes mobiles progressifs dans l'éjaculat (groupe G3).

4. Protocole de stimulation

Les femmes ont bénéficié d'une hyperstimulation ovarienne contrôlée par l'administration de gonadotrophines exogènes à base de FSH recombinante ou de gonadotrophine humaine ménopausique (hMG). Les doses quotidiennes variaient entre 150 et 450UI/jour, la dose initiale étant définie selon l'âge de la femme, l'IMC, l'AMH et en fonction de la réponse ovarienne aux éventuelles stimulations antérieures. Les différents protocoles de stimulation utilisaient les analogues de la Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH). Le protocole antagoniste utilisait des antagonistes de la GnRH à partir du 5^{ème} jour de la stimulation. Le protocole long agoniste retard consistait en une injection d'un agoniste long dès la phase lutéale du cycle précédent. Le protocole long agoniste quotidien correspondait à l'injection quotidienne d'un agoniste immédiat de la GnRH dès la phase lutéale du cycle précédent. Le protocole court correspondait à l'administration d'un agoniste court dès le premier jour de la stimulation.

Un monitoring de l'ovulation a été réalisé avec une ou plusieurs échographies endovaginales à partir du 8^{ème} jour de la stimulation, associées au dosage de l'oestradiolémie,

du taux d'hormone lutéinisante (LH) et de la progestéronémie. La dose de gonadotrophines était ensuite ajustée selon la réponse ovarienne à la stimulation. Lorsque les critères étaient obtenus, soit au moins 3 follicules à l'échographie dont le diamètre moyen atteignait 17 mm, le déclenchement de l'ovulation se faisait par l'injection d'une ampoule pré-remplie de 250 microgrammes d'hormone chorionique gonadotrope (HCG) recombinante (choriogonadotropine alpha, *Merck Serono, Suisse*), ou par un agoniste immédiat de la GnRH (triptoréline, *Ipsen Pharma, France*). Le double déclenchement correspondait à l'utilisation de ces deux molécules conjointement. La ponction ovocytaire écho-guidée se déroulait 36 heures après le déclenchement, par voie vaginale, sous anesthésie locale ou générale. Les ovocytes recueillis lors de la ponction ont ensuite été mis en fécondation avec les spermatozoïdes sélectionnés et capautés au laboratoire. Une ICSI était réalisée si nécessaire, selon les caractéristiques spermatiques. Après la FIV ou l'ICSI, un ou deux embryons étaient transférés sous contrôle échographique 48 heures après la ponction (embryon J2), 72 heures après la ponction (embryon J3) ou au stade blastocyste (embryon J5). Les embryons surnuméraires ont été cryoconservés en vue d'un éventuel transfert ultérieur. Pour le soutien de la phase lutéale après le transfert d'un embryon frais, nous avons prescrit de la dydrogestérone par voie orale (10 mg trois fois par jour), dès le jour de la ponction ovocytaire. Le transfert d'embryon congelé (TEC) pouvait être réalisé sur un cycle naturel modifié, sur un cycle substitué ou après induction de l'ovulation pour les femmes présentant une dysovulation ou une anovulation. Le soutien de la phase lutéale pour un TEC correspondait à l'administration de progestérone naturelle par voie vaginale (200 mg deux fois par jour).

5. Paramètres étudiés

Le critère de jugement principal de l'étude était le taux cumulé de naissance vivante par cycle de FIV/ICSI et par transfert d'embryon. Une naissance vivante a été définie comme la naissance d'un enfant né vivant à partir de 22 semaines d'aménorrhée (SA) (26). Les critères de jugement secondaires incluaient : les taux cumulés de grossesse clinique, de grossesse extra-utérine et de perte de grossesse par cycle et par transfert d'embryon, le taux d'implantation (correspondant au nombre de sacs gestationnels visualisés à l'échographie divisé par le nombre d'embryons transférés), le nombre d'ovocytes matures recueillis à la ponction, le taux de fécondation (correspondant au nombre d'embryons diploïdes obtenus divisé par le nombre d'ovocytes matures ponctionnés) et le taux d'endométrite chronique.

Une grossesse clinique a été définie par la présence d'un embryon avec une activité cardiaque visualisée lors de l'échographie pelvienne réalisée à partir de six semaines d'aménorrhée. Les pertes foetales ont été répertoriées selon la définition du Collège national des gynécologues et obstétriciens français (CNGOF) de 2014 (27). Cela incluait les grossesses biochimiques, les fausses couches spontanées précoces avant 14 SA, les « *vanishing twins* » (ou jumeaux évanescents), les fausses couches tardives entre 14 et 22 SA, ainsi que les grossesses extra-utérines.

6. Analyses statistiques

Toutes les analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel IBM SPSS Statistics 20 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Les variables qualitatives ont été présentées sous forme d'effectifs et de pourcentages et les variables quantitatives sous forme de moyenne \pm écart-type. Pour les analyses comparatives entre les deux groupes, le test du Chi² de Pearson ou le test exact de Fisher ont été utilisés en fonction des conditions d'application pour comparer les variables qualitatives. Les variables quantitatives ont été comparées à l'aide du test-T de Student ou de Mann Whitney en fonction des conditions d'application. Tous les tests ont été réalisés en situation bilatérale, et pour toutes les analyses une p-value inférieure à 0,05 a été considérée comme statistiquement significative.

7. Considérations éthiques

Le projet a été soumis à l'avis du comité d'éthique et approuvé. L'étude a été enregistrée sur le portail d'accès aux données de santé (PADS) de l'Assistance publique – Hôpitaux de Marseille (AP-HM) sous le numéro 2022-39.

RESULTATS

Durant la période d'étude, 1512 femmes ont réalisé au minimum une ponction ovocytaire dans le cadre d'une FIV ou d'une ICSI dans le centre d'AMP de l'hôpital de La Conception à Marseille. Après application des critères d'inclusion et de non-inclusion, 1141 femmes étaient éligibles à l'appariement. Un total de 151 femmes ayant une sérologie CT positive dans le groupe A ont été appariées à 302 femmes ayant une sérologie CT négative dans le groupe B (appariement 1:2), représentant respectivement 220 et 440 cycles de stimulation (figure 2).

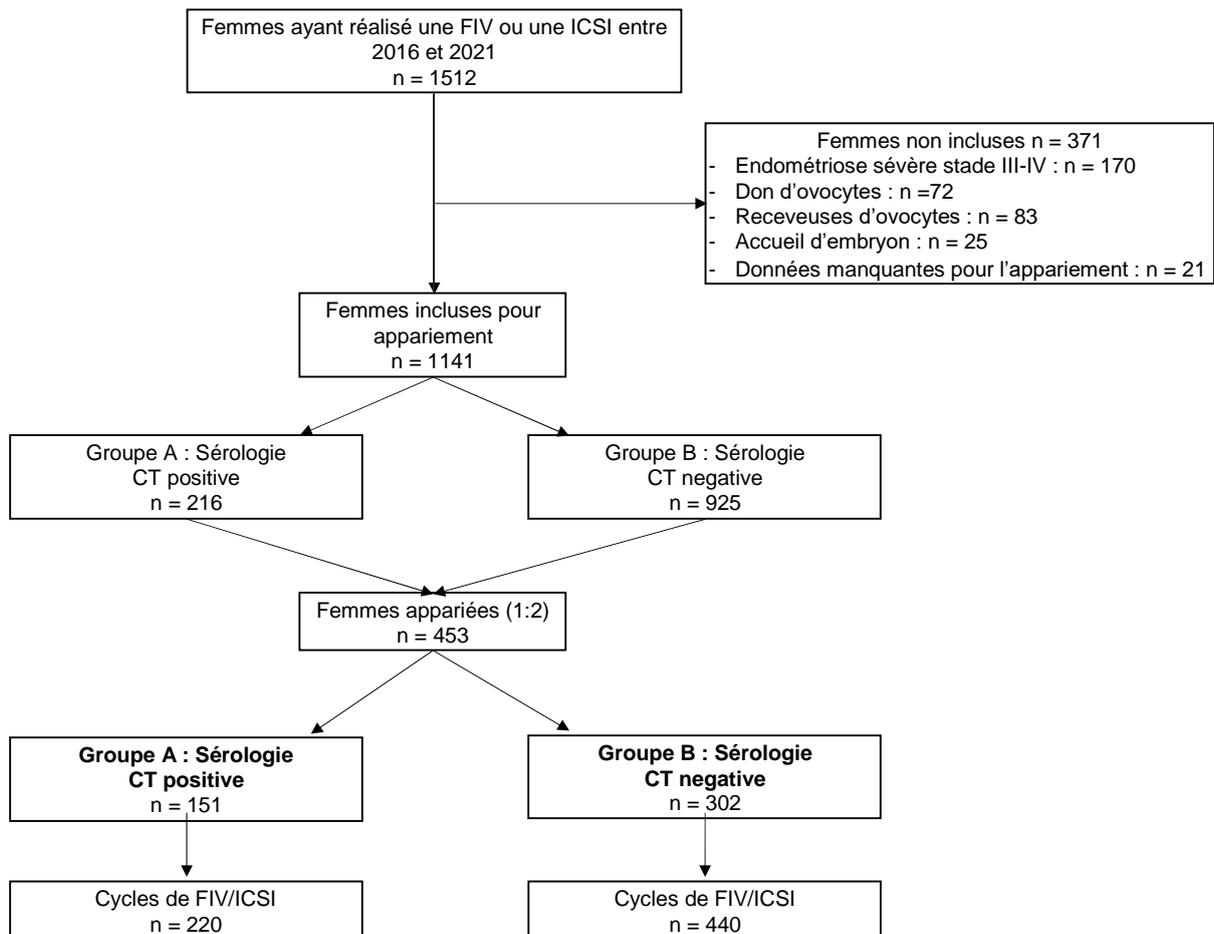


Figure 2 : Diagramme de flux de la population étudiée

Les caractéristiques cliniques et biologiques des femmes et de leurs partenaires sont présentées dans le tableau 1. Nous n'avons pas retrouvé de différence significative entre les femmes des deux groupes concernant l'âge, le statut tabagique, l'IMC, les taux d'AMH, de FSH basale et d'oestradiol. Les caractéristiques initiales des hommes ne différaient pas entre les deux groupes. Le taux d'infertilité secondaire des femmes du groupe A était

significativement plus élevé que celui des femmes du groupe B : 53,6 % contre 40,7 % respectivement ($p = 0,009$) et la durée d'infertilité était plus longue dans le groupe A. Les femmes ayant une sérologie CT positive présentaient des taux significativement plus élevés d'obstruction tubaire et d'hydrosalpinx exclus ou opérés. Le taux d'endométrite chronique était significativement plus élevé dans le groupe A avec 18 biopsies positives sur les 28 réalisées (64,3 %) alors que seulement 11 biopsies sont revenues positives sur les 47 réalisées dans le groupe B (23,4 %) ($p < 0,001$).

Tableau 1 : Caractéristiques cliniques et biologiques initiales de la population étudiée

	Groupe A Sérologie CT positive n = 151	Groupe B Sérologie CT négative n = 302	p
Caractéristiques des femmes			
- Age (années)	33,7 ± 4,6	33,8 ± 4,4	0,716
- Tabagisme actif	28 (18,5)	56 (18,5)	1,000
- IMC (kg/m ²)	24,0 ± 4,2	23,8 ± 4,5	0,463
- FSH (UI/L)	7,3 ± 2,5	7,1 ± 2,2	0,260
- E2 (pg/mL)	49,9 ± 56,6	51 ± 37,2	0,763
- AMH (ng/mL)	2,9 ± 3,8	2,8 ± 2,8	0,891
Caractéristiques des hommes			
- Age (années)	36,3 ± 5,8	37,2 ± 6,8	0,072
- Tabagisme actif	56 (37,1)	108 (35,8)	0,782
- IMC (kg/m ²)	26,0 ± 3,9	25,2 ± 6,0	0,117
Infertilité			
- Secondaire du couple	43 (28,5)	86 (28,5)	1,000
- Secondaire de la femme	81 (53,6)	123 (40,7)	0,009
- Durée d'infertilité (années)	4,5 ± 2,8	3,9 ± 2,4	0,024
Cause de l'infertilité			
- DOR	46 (30,5)	89 (29,5)	0,828
- Ovulatoire	29 (19,2)	46 (15,2)	0,283
- Tubaire	73 (48,3)	66 (21,9)	<0,001
- Masculine	83 (55,0)	164 (54,3)	0,894
- Idiopathique	8 (5,3)	47 (15,6)	0,002

Les variables quantitatives sont présentées sous forme de moyenne ± écart-type et les variables catégorielles sous forme d'effectifs et de pourcentages.

Abréviations : IMC : indice de masse corporelle, FSH : hormone folliculo-stimulante, E2 : taux d'œstradiol, AMH : hormone anti-müllérienne, DOR : diminution de la réserve ovarienne.

Les données relatives aux caractéristiques des cycles de stimulation sont présentées dans le tableau 2.

Tableau 2 : Données et caractéristiques des cycles de FIV/ICSI

	Groupe A Sérologie CT positive n = 220 cycles	Groupe B Sérologie CT négative n = 440 cycles	p
Technique d'AMP utilisée			
FIV	128 (58,2)	257 (58,4)	
ICSI	92 (41,8)	183 (41,6)	0,955
Paramètres spermatiques			
Nombre de spermatozoïdes mobiles progressifs dans l'éjaculat (millions)	43,5 ± 48,9	43,8 ± 51,9	0,944
Groupe G1	85 (38,6)	147 (33,4)	
Groupe G2	70 (31,8)	160 (36,4)	
Groupe G3	65 (29,5)	133 (30,2)	0,362
Caractéristiques du cycle			
Dose totale de gonadotrophines (UI)	2893,3 ± 1290,6	2802,6 ± 1339,5	0,407
Durée de la stimulation (jours)	10,8 ± 1,9	10,7 ± 1,9	0,465
E ₂ le jour du déclenchement (pg/mL)	2208,8 ± 1435,7	2298,9 ± 1552	0,471
Paramètres de la ponction			
Nombre d'ovocytes matures	7,3 ± 4,8	7,0 ± 4,8	0,449
Taux de fécondation (%)	55,3 ± 29,4	59,3 ± 28,5	0,095
Ponction blanche	7 (3,2)	13 (3,0)	0,872
Congélation totale des embryons	67 (30,5)	128 (29,1)	0,717
Caractéristiques des embryons			
Nombre d'embryons diploïdes	2,46 ± 2,1	2,27 ± 1,7	0,228
Nombre d'embryons transférés	1,76 ± 1,3	1,75 ± 1,2	0,858
Nombre d'embryons congelés	1,37 ± 2,2	1,09 ± 1,9	0,107

Les variables quantitatives sont présentées sous forme de moyenne ± écart-type et les variables catégorielles sous forme d'effectifs et de pourcentages. AMP : assistance médicale à la procréation, FIV : fécondation in vitro, ICSI : injection intra cytoplasmique de spermatozoïdes, groupe G1 : sperme normal, groupe G2 : oligoasthénospermie < 5 millions, groupe G3 : oligoasthénospermie > 5 millions, E₂ : taux d'œstradiol.

Les paramètres spermatiques n'étaient pas statistiquement différents entre les deux groupes. La dose totale de gonadotrophines, la durée moyenne de la stimulation, le taux d'œstradiol le jour du déclenchement, le type de protocole de stimulation ainsi que le mode de déclenchement étaient similaires entre les deux groupes. Il n'y avait pas de différence significative sur le nombre moyen d'ovocytes matures ponctionnés, sur le taux de fécondation, ni sur le taux de syndrome d'hyperstimulation ovarienne. Le nombre moyen d'embryons diploïdes obtenus par cycle et le nombre moyen d'embryons transférés par cycle n'étaient pas statistiquement différents. Le nombre moyen d'embryons utiles (correspondant à la somme des embryons transférés et congelés divisée par le nombre d'embryons diploïdes) était similaire entre les deux groupes. Il y avait un nombre significativement plus élevé d'embryons J5 transférés dans le groupe A. Nous avons réalisé une analyse en sous-groupes pour analyser séparément les taux d'implantation des embryons J2-J3 et des embryons J5 pour chaque transfert d'embryon : il n'a pas été retrouvé de différence significative entre les deux groupes.

Les issues de grossesse en FIV et en ICSI sont présentées dans le tableau 3. Nous n'avons pas retrouvé de différence significative entre les deux groupes en ce qui concerne les taux cumulés de naissance vivante par cycle : 36,7 % dans le groupe A contre 34,9 % dans le groupe B ($p = 0,692$) et par transfert d'embryon. Les résultats étaient similaires en termes de taux cumulés de grossesse clinique par cycle et par transfert. Une analyse en sous-groupe a été réalisée chez les femmes ayant un taux de HCG positif 14 jours après le transfert d'embryon, afin de calculer les taux cumulés de grossesse extra-utérine et de perte de grossesse par cycle et par transfert. Les groupes étaient comparables en termes de taux de grossesses gémeillaires (3,3 % dans le groupe A et 6,2 % dans le groupe B, $p = 0,160$).

Tableau 3 : Sérologie Chlamydia trachomatis et issues de grossesse par cycle de FIV/ICSI

	Groupe A Sérologie CT positive n = 180 cycles avec transfert d'embryon	Groupe B Sérologie CT négative n = 372 cycles avec transfert d'embryon	p
Taux cumulés de naissance vivante	66 (36,7)	130 (34,9)	0,692
Taux cumulés de grossesse clinique	76 (42,2)	166 (44,6)	0,594
Taux cumulés de grossesse extra-utérine	2/83 (2,4)	2/180 (1,1)	0,593
Taux cumulés de perte de grossesse	20/83 (24,1)	59/180 (32,8)	0,153

Les variables sont présentées sous forme d'effectifs et de pourcentages.

DISCUSSION

Nos résultats suggèrent que le statut sérologique vis-à-vis de CT n'a pas d'impact sur les issues de grossesse en FIV. Par extrapolation, un antécédent d'infection à CT n'aurait pas de conséquences délétères sur les résultats de la FIV, si les hydrosalpinx sont exclus et si les endométrites chroniques sont traitées. Nos résultats sont en accord avec ceux de Claman et al. qui a réalisé une étude comparant 118 femmes ayant une sérologie CT positive à 77 femmes ayant une sérologie CT négative. Les taux de grossesse par cycle étaient similaires entre les deux groupes : 23% dans le groupe sérologie CT positive contre 13% dans le groupe sérologie CT négative ($p = 0,125$) (14).

Concernant le nombre d'ovocytes matures recueillis à la ponction et le taux de fécondation, nos résultats sont cohérents avec ceux de Jakus et al. qui a mené une étude cas-témoin en double aveugle sur 253 femmes en cours de FIV, en analysant le taux d'IgG anti-CHSP60 dans le liquide folliculaire. La détection d'anticorps anti-CHSP60, correspondant à la cicatrice sérologique d'une infection persistante à CT, n'avait pas d'impact sur le nombre d'ovocytes recueillis à la ponction ni sur le taux de fécondation (17).

Dans notre étude, nous avons observé un taux plus élevé d'endométrite chronique chez les femmes ayant un antécédent d'infection à CT. Une infection par CT peut entraîner une inflammation locale au niveau du tractus génital, entraînant une réponse immunitaire pro-inflammatoire et donc une altération de la distribution des lymphocytes impliqués dans l'implantation des embryons (28). De nombreuses études ont retrouvé un lien entre l'endométrite chronique et les échecs répétés d'implantation en FIV (29). Dans notre étude, malgré un taux plus élevé d'endométrite chronique dans le groupe sérologie CT positive, le taux de naissance vivante n'était pas diminué. Cela pourrait être expliqué par le traitement systématique des endométrites chroniques dans notre centre par une antibiothérapie adaptée, ainsi que la confirmation histologique de la guérison.

Dans notre étude, les femmes ont effectué la sérologie CT dans le laboratoire de leur choix. Cependant, la technique de détection des anticorps anti-CT peut être différente selon le laboratoire choisi. La microimmunofluorescence (MIF) est la méthode de référence mais elle présente une lecture opérateur-dépendante, une faible standardisation et des variations inter-laboratoires. La technique ELISA utilise des peptides recombinants notamment le peptide MOMP qui contient des épitopes spécifiques d'espèce et de sérovar. C'est la technique la plus utilisée actuellement par les laboratoires (11). Le dosage immunologique par chimiluminescence (CLIA)

est une variante du test ELISA traditionnel : il s'agit d'un test qui combine la technique de chimiluminescence avec des réactions immuno-chimiques. Il y a donc une variabilité inter-laboratoire, d'autant plus que le choix du seuil de positivité de la sérologie peut varier d'un laboratoire à l'autre. L'interprétation de la sérologie CT est difficile : l'infection étant majoritairement asymptomatique, la découverte d'une sérologie CT positive peut survenir des mois, voire des années après l'infection. Plusieurs facteurs influencent l'ampleur de la réponse immunitaire et la capacité des tests sérologiques à détecter une infection à CT, notamment : le test utilisé, l'anticorps cible, le temps écoulé depuis l'infection, le nombre d'infections antérieures et les caractéristiques du patient telles que l'âge, le sexe et l'ethnie (30). Ainsi, le taux d'IgG anti-CT ne permet pas de dater une infection à *Chlamydiae*. La sérologie CT peut rester positive à vie. Dans notre étude, si le test PCR sur le prélèvement vaginal revenait négatif, l'ancienneté de l'infection à CT et son possible impact sur l'inflammation locale et la réceptivité endométriale n'ont pas pu être pris en considération.

Les femmes ayant été infectées par CT ne vont pas toutes développer une pathologie tubaire. C'est seulement suite à une infection chronique, qu'elle soit récurrente ou persistante, que les séquelles tubaires peuvent apparaître. Il a été mis en évidence que la protéine de stress CHSP60, sécrétée lors de la phase chronique de l'infection, jouait un rôle crucial dans le processus inflammatoire chronique, lui-même impliqué dans les séquelles au niveau tubaire. Selon l'étude réalisée par Tiitinen et al. la présence d'anticorps dirigés contre CHSP60 pourrait être un facteur prédictif d'infertilité d'origine tubaire après une infection à CT (31). Selon Land et Evers, les anticorps anti-CHSP60 auraient une sensibilité de 70 % et une spécificité de 83 % dans la prédiction de l'obstruction tubaire après une infection à CT (32).

En plus du lien établi dans la littérature entre CHSP60 et l'infertilité tubaire, il a également été décrit une augmentation du risque de fausse couche spontanée précoce chez les femmes présentant des anticorps dirigés contre CHSP60 (12). Les protéines de choc thermique « *Heat Shock Proteins* » (HSPs) sont des protéines de réponse au stress qui se composent de régions d'acides aminés hautement conservés entre les organismes qui les expriment. Il existe des régions spécifiques homologues entre les « *Heat Shock Proteins 60 kDa* » (HSP60) humaines et les HSP60 de *Chlamydiae* (CHSP60). Une exposition à long terme au CHSP60 peut entraîner une sensibilisation immunitaire responsable d'une production de lymphocytes dirigés contre les épitopes de HSP60 présents à la fois chez la bactérie et chez l'homme. HSP60 est exprimé au début du développement de l'embryon ainsi qu'à la surface des cellules épithéliales de la caduque maternelle pendant la grossesse. Ainsi, l'expression de HSP60 par

l'embryon pourrait réactiver les lymphocytes sensibilisés contre ce dernier et déclencher une réponse immunitaire dirigée contre la HSP60 humaine exprimée dans l'embryon précoce. Cela aurait pour conséquence un rejet de l'embryon et donc une augmentation du risque de fausse couche spontanée précoce (33). Notre étude n'a pas mis en évidence de lien entre une sérologie CT positive et le risque de perte de grossesse mais la sérologie réalisée dans notre centre correspondait à la recherche d'IgG anti-CT et non pas d'anticorps dirigés contre CHSP60.

Une des faiblesses de notre étude est relative au manque de données concernant l'éventuel traitement reçu par les femmes ayant un antécédent d'infection à CT, entraînant un biais de recueil. De plus, dans notre centre, la réalisation d'une sérologie CT dans le bilan masculin de première intention n'est pas systématique. Ce facteur n'a donc pas été pris en considération, alors que Idahl et al. a démontré que la présence d'IgG anti CT chez le partenaire masculin du couple infertile était significativement et inversement corrélée au taux de grossesse global, avec un Odds Ratio de non obtention de grossesse estimé à 2,6 (intervalle de confiance à 95 % : 1,3 – 4,9, $p = 0,005$) (34). Une autre limite de notre étude est inhérente à son caractère rétrospectif et monocentrique. Cependant un essai contrôlé randomisé n'était pas réalisable dans cette situation.

Notre étude est la première étude de grande ampleur à avoir inclus un grand nombre de femmes, sur une longue période d'étude, dans un centre d'AMP ayant une politique de réalisation systématique de la sérologie CT pour toutes les femmes, permettant de limiter le biais de sélection. Une des forces de notre étude est d'avoir été restrictive sur les critères d'inclusion : nous n'avons pas inclus les femmes ayant une endométriose de stade III ou IV, cela pouvant influencer le taux de naissance vivante. Afin d'analyser la qualité ovocytaire et le taux de fécondation, nous n'avons pas inclus les couples ayant bénéficié d'un don d'ovocytes ou d'un accueil d'embryon. À notre connaissance, il s'agit de la première étude sur le sujet ayant des critères d'appariement multiples, permettant de contrôler les éventuels facteurs de confusion. Les critères d'appariement étaient nombreux : l'âge de la femme, l'IMC, la consommation de tabac, le taux d'AMH et la technique d'AMP, ces facteurs ayant un impact sur les critères de jugement analysés. Il était nécessaire d'avoir un appariement sur le nombre de tentatives réalisées afin de pouvoir comparer les deux groupes. Cependant, bien que cela ait permis d'avoir une population d'étude homogène, le nombre de ces critères d'appariement a eu comme désavantage de diminuer nettement l'effectif des femmes incluses dans l'étude, et ce bien que le recueil ait été mené sur plusieurs années.

En conclusion, notre étude suggère qu'une sérologie CT positive n'a pas d'impact sur les issues de grossesse en FIV. Un antécédent d'infection génitale haute à CT pourrait ne pas avoir de répercussion sur les issues de grossesse en FIV si les hydrosalpinx et endométrites chroniques sont traités avant la FIV. Ces données pourraient contribuer à rassurer les femmes ayant un antécédent d'infection à CT, mais doivent être confirmées par des études de plus grande ampleur avec une évaluation microbiologique homogène des anticorps anti-CT.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Réévaluation de la stratégie de dépistage des infections à *Chlamydia trachomatis* [Internet]. Haute Autorité de Santé. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/c_2879401/fr/reevaluation-de-la-strategie-de-depistage-des-infections-a-chlamydia-trachomatis
2. Chlamydiae [Internet]. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/infections-sexuellement-transmissibles/chlamydiae>
3. Sexually transmitted infections (STIs) [Internet]. Disponible sur: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-\(stis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-(stis))
4. Haggerty CL, Gottlieb SL, Taylor BD, Low N, Xu F, Ness RB. Risk of sequelae after *Chlamydia trachomatis* genital infection in women. *J Infect Dis*. 15 juin 2010;201 Suppl 2:S134-155.
5. Paavonen J, Eggert-Kruse W. *Chlamydia trachomatis*: impact on human reproduction. *Hum Reprod Update*. oct 1999;5(5):433-47.
6. Land JA, Van Bergen JE a. M, Morré SA, Postma MJ. Epidemiology of *Chlamydia trachomatis* infection in women and the cost-effectiveness of screening. *Hum Reprod Update*. avr 2010;16(2): 189-204.
7. Egger M, Low N, Smith GD, Lindblom B, Herrmann B. Screening for chlamydial infections and the risk of ectopic pregnancy in a county in Sweden: ecological analysis. *BMJ*. 13 juin 1998;316(7147):1776-80.
8. Coppus SFPJ, Land JA, Opmeer BC, Steures P, Eijkemans MJC, Hompes PGA, et al. *Chlamydia trachomatis* IgG seropositivity is associated with lower natural conception rates in ovulatory subfertile women without visible tubal pathology. *Hum Reprod Oxf Engl*. nov 2011;26(11): 3061-7.
9. Ness RB, Soper DE, Richter HE, Randall H, Peipert JF, Nelson DB, et al. *Chlamydia* antibodies, *chlamydia* heat shock protein, and adverse sequelae after pelvic inflammatory disease: the PID Evaluation and Clinical Health (PEACH) Study. *Sex Transm Dis*. févr 2008;35(2):129-35.
10. Baud D, Goy G, Jatton K, Osterheld MC, Blumer S, Borel N, et al. Role of *Chlamydia trachomatis* in miscarriage. *Emerg Infect Dis*. sept 2011;17(9):1630-5.
11. Diagnostic biologique de l'infection à *Chlamydia trachomatis* - Document d'avis [Internet]. Haute Autorité de Santé. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/r_1498796/fr/diagnostic-biologique-de-l-infection-a-chlamydia-trachomatis-document-d-avis
12. Stephens AJ, Aubuchon M, Schust DJ. Antichlamydial Antibodies, Human Fertility, and Pregnancy Wastage. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2011;2011:525182.
13. Hafner LM. Pathogenesis of fallopian tube damage caused by *Chlamydia trachomatis* infections. *Contraception*. août 2015;92(2):108-15.
14. Claman P, Amimi MN, Peeling RW, Toye B, Jessamine P. Does serologic evidence of remote *Chlamydia trachomatis* infection and its heat shock protein (CHSP 60) affect in vitro fertilization-embryo transfer outcome? *Fertil Steril*. janv 1996;65(1):146-9.
15. Osser S, Persson K, Wramsby H, Liedholm P. Dose previous *Chlamydia trachomatis* infection influence the pregnancy rate of in vitro fertilization and embryo replacement? *Am J Obstet Gynecol*. janv 1990;162(1):40-4.

16. Spandorfer SD, Neuer A, LaVerda D, Byrne G, Liu HC, Rosenwaks Z, et al. Previously undetected Chlamydia trachomatis infection, immunity to heat shock proteins and tubal occlusion in women undergoing in-vitro fertilization. *Hum Reprod Oxf Engl.* janv 1999;14(1):60-4.
17. Jakus S, Neuer A, Dieterle S, Bongiovanni AM, Witkin SS. Antibody to the Chlamydia trachomatis 60 kDa heat shock protein in follicular fluid and in vitro fertilization outcome. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989. févr 2008;59(2):85-9.
18. Lunenfeld E, Shapiro BS, Sarov B, Sarov I, Insler V, Decherney AH. The association between chlamydial-specific IgG and IgA antibodies and pregnancy outcome in an in vitro fertilization program. *J Vitro Fertil Embryo Transf IVF.* août 1989;6(4):222-7.
19. Witkin SS, Sultan KM, Neal GS, Jeremias J, Grifo JA, Rosenwaks Z. Unsuspected Chlamydia trachomatis infection and in vitro fertilization outcome. *Am J Obstet Gynecol.* nov 1994;171(5):1208-14.
20. Licciardi F, Grifo JA, Rosenwaks Z, Witkin SS. Relation between antibodies to Chlamydia trachomatis and spontaneous abortion following in vitro fertilization. *J Assist Reprod Genet.* juin 1992;9(3):207-10.
21. Keay SD, Barlow R, Eley A, Masson GM, Anthony FW, Jenkins JM. The relation between immunoglobulin G antibodies to Chlamydia trachomatis and poor ovarian response to gonadotropin stimulation before in vitro fertilization. *Fertil Steril.* août 1998;70(2):214-8.
22. Pacchiarotti A, Sbracia M, Mohamed MA, Frega A, Pacchiarotti A, Espinola SMB, et al. Autoimmune response to Chlamydia trachomatis infection and in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril.* mars 2009;91(3):946-8.
23. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertil Steril.* mai 1997;67(5):817-21.
24. Bouet PE, El Hachem H, Monceau E, Gariépy G, Kadoch IJ, Sylvestre C. Chronic endometritis in women with recurrent pregnancy loss and recurrent implantation failure: prevalence and role of office hysteroscopy and immunohistochemistry in diagnosis. *Fertil Steril.* janv 2016;105(1):106-10.
25. World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. 2010;271.
26. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, Racowsky C, de Mouzon J, Sokol R, et al. The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017. *Hum Reprod Oxf Engl.* 1 sept 2017;32(9):1786-801.
27. Delabaere A, Huchon C, Lavoue V, Lejeune V, Iraola E, Nedellec S, et al. Definition of pregnancy losses: Standardization of terminology from the French National College of Obstetricians and Gynecologists (CNGOF). *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris).* déc 2014;43(10):756-63.
28. Park HJ, Kim YS, Yoon TK, Lee WS. Chronic endometritis and infertility. *Clin Exp Reprod Med.* déc 2016;43(4):185-92.
29. Johnston-MacAnanny EB, Hartnett J, Engmann LL, Nulsen JC, Sanders MM, Benadiva CA. Chronic endometritis is a frequent finding in women with recurrent implantation failure after in vitro fertilization. *Fertil Steril.* févr 2010;93(2):437-41.
30. Woodhall SC, Gorwitz RJ, Migchelsen SJ, Gottlieb SL, Horner PJ, Geisler WM, et al. Advancing the public health applications of Chlamydia trachomatis serology. *Lancet Infect Dis.* déc 2018;18(12):e399-407.

31. Tiitinen A, Surcel HM, Halttunen M, Birkelund S, Bloigu A, Christiansen G, et al. Chlamydia trachomatis and chlamydial heat shock protein 60-specific antibody and cell-mediated responses predict tubal factor infertility. *Hum Reprod Oxf Engl.* juin 2006;21(6):1533-8.
32. Land JA, Evers JLH. Chlamydia infection and subfertility. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* déc 2002;16(6):901-12.
33. Witkin SS, Jeremias J, Neuer A, David S, Kligman I, Toth M, et al. Immune recognition of the 60kD heat shock protein: implications for subsequent fertility. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 1996;4(3):152-8.
34. Idahl A, Boman J, Kumlin U, Olofsson JI. Demonstration of Chlamydia trachomatis IgG antibodies in the male partner of the infertile couple is correlated with a reduced likelihood of achieving pregnancy. *Hum Reprod Oxf Engl.* mai 2004;19(5):1121-6.

ANNEXE

Annexe 1 : Accord du comité d'éthique de l'AP-HM

Délégué à la Protection des Données de l'AP-HM



Danièle BLANC

Délégué à la Protection des Données de l'AP-HM

04 91 38 19 28

dpo@ap-hm.fr

Le lundi 11 juillet 2022

Philippe TOURRON

Délégué à la Protection des Données adjoint

04 91 38 16 20

rsi@ap-hm.fr

Mme Clara GADENNE ,

La fiche de déclaration du Traitement :

«Evaluation de l'impact de la sérologie Chlamydiae Trachomatis positive sur les chances de grossesse en Fécondation In Vitro : étude rétrospective cas-témoin »

dont vous avez la responsabilité de mise en œuvre, est inscrite au registre RGPD/Ap-Hm sous le numéro :

2022-39

Vous pouvez considérer l'utilisation de ce traitement comme en règle de déclaration vis-à-vis du Règlement Général sur la Protection des Données.

Toute modification du traitement dans ses modalités, aspects techniques ou finalité rendrait cette déclaration obsolète et doit être signalée. Elle devra alors faire l'objet d'une nouvelle déclaration avant toute mise en œuvre. Le manquement à cette obligation mettrait en cause votre responsabilité à titre personnel.

Nous sommes à votre disposition pour tout renseignement complémentaire et vous adressons nos sincères salutations.

Danièle BLANC

Délégué à la Protection des Données de l'AP-HM

Philippe TOURRON

Délégué à la Protection des Données adjoint

ARTICLE

Running title: Chlamydia trachomatis serology and IVF

Title:

Impact of a positive Chlamydia trachomatis serology on cumulative IVF live birth rate

Authors:

Gadenne Clara, M.D¹, Miquel Laura, M.D¹, Faust Cindy², Berbis Julie, M.D, PhD², Perrin Jeanne M.D, PhD^{1,3}, Courbiere Blandine, M.D, PhD^{1,3}

¹ Department of Gynecology- Obstetric and Reproductive Medicine, AP-HM, La Conception University Hospital, Aix Marseille Univ, Marseille, France

² Public Health Department, AP-HM, Aix Marseille Univ, Marseille, France

³ IMBE, CNRS, IRD, Avignon Univ, Marseille, France

Corresponding author: Blandine COURBIERE, M.D, PhD, Department of reproductive medicine – Fertility preservation, 147 bd Baille, 13005 Marseille, France.

Mail: blandine.courbiere@univ-amu.fr, Phone: 00 33 4 91 38 29 00

Article type: Cohort study

Funding Statement: None

Disclosure Statement: None

Attestation Statement:

- Data regarding any of the subjects in the study has not been previously published.
- Data will be made available to the editors of the journal for review or query upon request.

Data Sharing Statement: Data won't be shared

Word Count: 170 words for abstract and 3124 words for text

Capsule: A positive Chlamydia trachomatis serology has no impact on IVF cumulative live-birth rate.

Structured abstract:

Objective: To study the impact of a positive Chlamydia trachomatis serology on cumulative in vitro fertilization (IVF) live-birth rate.

Design: Cohort study

Exposure: A retrospective, observational and monocentric study compared women with positive Chlamydia trachomatis serology (group A) to control women with negative Chlamydia trachomatis serology (group B).

Main outcome Measures: Cumulative live birth rate per cycle and per embryo transfer, cumulative rates of clinical pregnancy, ectopic pregnancy and fetal loss.

Results: 151 women in group A were matched 1:2 to 302 women in group B, representing 220 and 440 cycles, respectively. Women from group A had a significantly higher rate of tubal obstruction, excluded or operated hydrosalpinx and/or a history of chronic endometritis. IVF cumulative live birth rate per cycle was similar in the two groups (36.7 % in group A versus 34.9 % in group B, $p = 0.692$). The implantation rate, cumulative clinical pregnancy rate, pregnancy loss rate and ectopic pregnancy rate were comparable between the two groups.

Conclusion: A positive Chlamydia trachomatis serology has no impact on IVF pregnancy outcomes.

Keywords: Chlamydia trachomatis, IVF, pregnancy outcome

Introduction

Chlamydia Trachomatis (CT) is an intracellular bacterium, representing the most widespread bacterial sexually transmitted infection (STI). CT infections especially affect young women, with an estimated 129 million new Chlamydia infections worldwide in 2020 (1). At least 70% of CT infections of the female genital tract are asymptomatic (2), and are therefore often undiagnosed or untreated, leading to transmission of the infection to sexual partners and increasing the risk of chronic infection. CT can ascend into the upper genital tract and lead to a pelvic inflammatory disease (PID) (3,4). After antibiotic treatment, upper genital infection may have no clinical consequence. Otherwise, long term sequelae from pelvic inflammatory disease include irreversible tubal damage, which can lead to tubal factor infertility (TFI) (5) with an increased risk of ectopic pregnancy (6). Previous studies reported that positive Chlamydia trachomatis serology was associated with a significant lower rate of spontaneous pregnancy (7,8) and an increased risk of miscarriage (9).

The impact of CT infection can be explained by the pathogenesis of the disease. Under certain conditions, CT can enter into a persistent state, representing the chronic phase of the infection in which production of stress proteins called Chlamydia Heat Shock Protein 60kDa (CHSP60) becomes up-regulated (10,11). When released from infected cells, CHSP60 can induce a local pro-inflammatory immune response in the Fallopian tube epithelium that lead to tissue damage, including fibrosis and luminal occlusion (12).

In case of tubal obstruction after CT infection, the strategy of infertility management is based on in vitro fertilization (IVF). Conflicting studies have investigated the impact of CT infection on the IVF outcome. Some studies reported no association between positive CT serology and IVF pregnancy rate (13–15). Other studies have observed that the presence of anti-CT antibodies, through the chronic inflammatory process, could lead to endometrial damage resulting in impaired implantation rate (16) and lower IVF pregnancy rates (17,18). Licciardi et al. reported an increased miscarriage rate after IVF in women with positive CT serology (19).

Keay et al. reported a significantly higher prevalence of CT antibodies in the serum of poor ovarian responder women (20). Pacchiaroti et al. observed a significantly reduced number of mature oocytes in women for whom were detected antichlamydial antibodies in their serum and follicular fluid (21).

With regard to the current literature, the impact of a positive CT serology on IVF pregnancy rates is still unclear. The objective of our study was to evaluate the IVF cumulative live birth rate in women with positive CT serology, compared to a population of control women with negative CT serology.

Materials and methods

Study population

We conducted a single-center retrospective observational study between January 2016 and December 2021 in our Department of Gynecology, Obstetric and Reproductive Medicine from a University Teaching Hospital. The number of women to be included was constrained by the defined duration of the study: January 2016 was the beginning of routine screening for Chlamydia trachomatis serology for all the infertile women in our assisted reproductive technology (ART) unit.

Two groups of women were set up: group A included women with positive CT serology, and group B included women with negative CT serology. Inclusion criteria were as follows: women aged 18 to 43 years, who have performed at least one IVF or intracytoplasmic sperm injection (ICSI) cycle during the study period, in order to subsequently transfer a fresh or frozen-thawed embryo, and for whom CT serology was documented. For limiting bias and factors that could impact the live birth rate (LBR), non-inclusion criteria were as follows: diagnosis of endometriosis stage III or IV according to the revised American Fertility Society (rAFS) classification (22), women involved in a oocyte donation program, embryo adoption and missing data for matching criteria.

Each CT-positive woman was matched 1:2 to two women with negative CT serology, with the following matching criteria: age, anti-Müllerian hormone (AMH) level, body mass index (BMI), tobacco consumption, the rank of the IVF cycle and the ART technique (IVF or ICSI). Regarding age matching, women were classified into four categories: < 30 years old, between 30 and 35 years old, between 36 and 40 years old and > 40 years old. For the AMH level, women were matched according to the following categories: ≤ 2 ng/mL (diminished ovarian reserve - DOR), 2-5 ng/mL, and > 5 ng/mL (high ovarian reserve). Two categories of BMI were defined: BMI < 30 kg/m² or women with obesity according to the World Health Organization (WHO) categorization with a BMI ≥ 30 kg/m². For women consuming tobacco, we distinguished smoking women and non-smoking women. Women in group B had to have performed the same number of ovarian stimulation cycles as the woman in group A to whom they were matched.

CT-detection

In our study, the CT-detection corresponded to a Chlamydia immunoglobulin G (IgG) antibody testing in serum. Among the different techniques available (the micro-immunofluorescence (MIF) and the enzyme-linked immunosorbent assay ELISA), the most commonly used technique in the laboratories was the ELISA immunoassay technique and more specifically the chemiluminescence immunoassay (CLIA). For CT-positive women, a vaginal swab for direct detection of the bacteria by Polymerase Chain Reaction (PCR) was systematically performed and appropriate antibiotic treatment was administered to infected women.

IVF protocol

Women underwent a controlled ovarian hyperstimulation with exogenous recombinant follicle-stimulating hormone (FSH) or human menopausal gonadotropin (hMG). Daily doses were individualized in accordance with the woman's age, BMI, AMH and ovarian response to previous stimulation. Usual protocols were performed, using analogues of Gonadotrophin-

Releasing Hormone (GnRH): the fixed antagonist protocol with daily GnRH antagonist injection from the fifth day of stimulation, the long protocol with GnRH agonist administration in the luteal phase of the previous cycle, and the short protocol with daily GnRH agonist injection since the first day of the IVF cycle.

Women routinely underwent serial transvaginal ultrasound, starting on Day 8 of controlled ovarian stimulation and serum estradiol (E2), luteinizing hormone (LH) and progesterone serum measurements. When at least 3 follicles reached a mean diameter of 17 mm, ovulation was triggered by injection of a pre-filled ampoule with 250 micrograms of recombinant gonadotrophic chorionic hormone (hCG) (choriogonadotropine alpha, Merck Serono, Switzerland) or with an immediate GnRH agonist (triptoréline, Ipsen Pharma, France), or both for dual trigger. The oocyte pick-up was scheduled 36 hours after triggering ovulation under local or general anesthesia, using transvaginal ultrasound-guided retrieval. The retrieved oocytes were fertilized with the selected sperm in the laboratory. ICSI was performed if necessary, according to the sperm characteristics. After IVF or ICSI, one or two embryos were transferred under ultrasound control 48 hours after the oocyte collection (D2 embryo), 72 hours after (D3 embryo) or at blastocyst stage (D5 embryo). Supernumerary embryos were cryopreserved for subsequent embryo transfer. For the luteal phase support after fresh embryo transfer, we prescribed oral dydrogesterone (30 mg per day) started the day of oocyte pick-up. Concerning the frozen-thawed embryo transfer (FET) regimens, FET was performed after modified natural cycle or after ovulation induction in case of dys/anovulation. Luteal phase support after FET was performed with intra-vaginal natural progesterone (200 mg twice a day).

Study endpoints

The primary endpoint was the cumulative live birth rate (CLBR) per IVF/ICSI cycle and per embryo transfer (ET). Live birth was defined by a live birth after 22 weeks of gestational age according to The International Glossary on Infertility and Fertility Care (23). Secondary outcomes included cumulative rates of clinical pregnancy, ectopic pregnancy and fetal loss per

cycle and per embryo transfer, implantation rate (corresponding to the number of gestational sacs observed divided by the number of embryos transferred), number of mature oocytes retrieved per cycle, fertilization rate (corresponding to the number of diploid embryos obtained divided by the number of mature oocytes retrieved) and chronic endometritis (CE) rate. Endometrial biopsy was performed before hydrosalpinx surgery or after repeated implantation failure (RIF), defined by implantation failure after the transfer of at least three top embryos in women younger than 35 years. As described by Bouet et al., chronic endometritis was diagnosed if five or more plasma cells were observed on ten nonoverlapping high-power fields (x400) in the endometrial tissue, with histological confirmation using immunohistochemistry stains for syndecan-1 (CD138) (24). In case of chronic endometritis diagnosis, an empirical bi-antibiotic therapy was systematically administered before IVF with doxycycline (100 mg twice daily) and metronidazole (500 mg twice daily) for 14 days. In our unit, we systematically performed a second biopsy the next cycle after treatment to confirm chronic endometritis resolution.

A clinical pregnancy was defined by the visualization of an embryo with a positive fetal heartbeat on pelvic ultrasound performed from six weeks of gestation. Fetal losses included biochemical pregnancies (corresponding to a pregnancy diagnosed only by the detection of beta hCG in serum), early spontaneous miscarriages before 14 weeks, vanishing twin syndromes, late miscarriages between 14 and 22 weeks and ectopic pregnancies.

Statistical analysis

All analyses were performed using IBM SPSS Statistics 20 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Categorical variables were presented as numbers and percentages. Quantitative variables were presented as means \pm standard deviation for continuous variables. To compare categorical variables, Pearson's Chi-square test or Fisher's exact test were used as appropriate and quantitative variables were compared using Student's t-test or Mann-Whitney

test. All tests were bilateral, and for all analyses a p-value < 0.05 was considered statistically significant.

Ethics statement

This study was approved by the local Ethical Committee of our University (PADS 2022-39).

Results

During the study period, 1512 women underwent at least one IVF or ICSI cycle in our Reproductive Medicine center and 1141 women were eligible for the study following the inclusion and non-inclusion criteria. Among them, 151 women with positive CT serology were included in group A and matched 1:2 to 302 women with negative CT serology in group B, representing 220 and 440 stimulation cycles, respectively (figure 1).

Clinical and biological characteristics of women and their partners are presented in table 1. No significant difference was assessed between the two groups in terms of age, smoking status, BMI, AMH levels, basal FSH and estradiol levels. The baseline characteristics of men did not differ between the two groups. The rate of secondary infertility of group A women was higher than women in group B: 53.6% vs. 40.7% respectively ($p = 0.009$) and the duration of infertility was longer in group A. Women with a positive CT serology had significantly higher rates of tubal obstruction and excluded or operated hydrosalpinx. Chronic endometritis rate was significantly higher in group A with 18 positive biopsies out of 28 performed (64.3%) while only 11 biopsies were positive out of 47 in group B (23.4%), $p < 0.001$.

The IVF/ICSI cycles characteristics are presented in table 2, with no significant differences concerning the semen parameters, the total dose of gonadotropins, the average duration of stimulation, the estradiol level on the day of triggering, the type of stimulation protocol and the triggering mode. There were no statistically significant differences between the two groups in the average number of mature oocytes retrieved, the fertilization rate and the rate of ovarian hyperstimulation syndrome. The average number of diploid embryos and

transferred embryos per cycle was not statistically different. Significantly more D5 embryos were transferred in group A. We performed a subgroup analysis for implantation rate of the D2-D3 embryos and of the D5 embryos for each embryo transfer: no significant difference was found between the two groups.

IVF outcomes are presented in table 3. No significant difference was found between the two groups with regard to the cumulative live birth rate per cycle: 36.7% in group A versus 34.9% in group B ($p = 0.692$) and per embryo transfer. The outcomes of the two groups were similar in terms of cumulative clinical pregnancy rates per cycle and per transfer. A subgroup analysis was performed in women with a positive HCG level 14 days after embryo transfer in order to calculate ectopic pregnancy rates and pregnancy loss rates. Groups were comparable in terms of twin pregnancy rates: 3.3% in group A and 6.2% in group B, $p = 0.160$.

Discussion

Our results suggest that the *Chlamydia trachomatis* serology status has no impact on IVF pregnancy outcome. We can extrapolate that a history of CT infection has no deleterious consequences on IVF outcome, if hydrosalpinx are excluded and chronic endometritis are treated. Our results are consistent with the study of Claman et al., in which 118 women with positive CT serology were compared with 77 women with negative CT serology. No significant difference was found in pregnancy rates per cycle: 23% in the serology-positive group versus 13% in the serology-negative group ($p = 0.125$) (13).

Regarding the number of mature oocytes retrieved and the fertilization rate, our results are consistent with those from Jakus et al. who conducted a double-blinded case-control analysis of follicular fluid from 253 IVF women for IgG antibodies to CHSP60. CHSP60 antibody detection, representing the serological scarring of a persistent CT infection, was not related to the number of oocytes collected nor on the fertilization rate (16).

In our study, we noticed a higher rate of chronic endometritis in women having a history of CT infection. CT infection can lead to local inflammation throughout the genital tract, resulting in a pro-inflammatory immune response and thus an alteration in the distribution of lymphocytes involved in embryo implantation (25). Previous studies have found an association between chronic endometritis and RIF after IVF (26). In our study, despite a higher rate of chronic endometritis in the positive CT serology group, live birth rate was not decreased. This may be related to the systematic treatment of chronic endometritis in our center with appropriate antibiotic therapy and histological confirmation of cure.

The women who were followed in our reproductive medicine center performed the CT serology in the laboratory of their choice. However, CT detection technique can be different depending on the laboratory. ELISA technique is the most commonly used, most of the time with IgG antibodies directed against the major outer membrane protein (MOMP), present on the CT cell surface, and which contains species and serovar specific epitopes. The CLIA test is a variation of traditional ELISA immunoassays: it is an assay that combine chemiluminescence technique with immunochemical reactions. Therefore, there is inter-laboratory variability, in addition to the fact that the choice of the threshold of positivity is different from one laboratory to another. Interpretation of CT serology is difficult: since most infections are asymptomatic, the discovery of positive CT serology may occur several months or years after infection. Several factors affect the magnitude of IgG response and the ability of serological assays to detect a previous CT infection, including the technique used, the target antibody, the time since infection, the number of previous CT infections and patient characteristics such as age, sex, and ethnicity (27). The level of IgG antibodies to *Chlamydia trachomatis* does not define the age of the infection. CT serology can remain positive for life. In our study, if the CT PCR on the vaginal swab came back negative, it was not possible to consider the duration of CT infection and its possible impact on local inflammation and endometrial receptivity.

Clinical and experimental data showed the role of antibodies against the Chlamydia 60 kDa Heat Shock Protein (CHSP60, secreted during the persistent state), in the chronic inflammatory process, which is involved in the immunopathogenesis of TFI. Tiitinen et al. have demonstrated that the presence of antibodies against CHSP60 might be a predictive factor for tubal infertility (28). Land and Evers found that Chlamydia HSP60 antibody testing would have a sensitivity of 70% and a specificity of 83% in predicting tubal obstruction after CT infection (29).

In addition to the link between CHSP60 and tubal infertility, an increased risk of spontaneous abortion has been described in women with CHSP60 antibodies (11). Heat shock proteins (HSPs) are composed of amino acids sequences that are highly conserved among the organisms that express them. There are specific regions that are homologous between human HSP60 and Chlamydial HSP60 (CHSP60). Long-term exposure to CHSP60 may lead to an immune sensitization to epitopes of HSP60 that are present in both the microbial and human organism. Human HSP60 is expressed during early embryo development and on the surface of epithelial cells in the maternal decidua during pregnancy. Expression of HSP60 by the embryo and/or maternal cells could reactivate HSP60-sensitized lymphocytes and trigger immune response to human HSP60 expressed in the early embryo. This potentially links CT infections to spontaneous pregnancy loss (30). Our study did not find an association between positive CT serology and risk of pregnancy loss but in our ART center, women were serologically tested for IgG antibodies and not for CHSP60 antibodies.

One of the weaknesses of our study is related to the lack of data on the treatment received by women having a history of CT infection. Furthermore, in our reproductive medicine center, CT serology is not routinely performed in the first-line men's workup. Idahl et al. demonstrated that the presence of CT IgG antibodies in the male partner of the infertile couple was significantly and inversely correlated to the overall pregnancy rate, with an Odds Ratio of 2.6 of not achieving pregnancy (95% CI : 1.3 - 4.9, $p = 0.005$) (31). Another limit of our study is

the retrospective and monocentric design, but randomized controlled trial is not possible in this case.

Our study is the first to have included a large number of women over a long study period in a reproductive medicine center with a systematic CT screening protocol for all women. The strength of our study is to have chosen restrictive inclusion criteria as we did not include women with stage III or IV endometriosis, which may influence LBR. In order to analyze oocyte quality and fertilization rate, we did not include women after oocyte donation or embryo adoption. Compared with previous studies, we greatly controlled the possible confounders between the two studied groups. The matching criteria were multiple: woman's age, BMI, smoking status, AMH level and ART technique used, as these factors have an impact on the study endpoints. It was required to match the rank of the IVF cycles performed in order to compare the two groups. However, even though we obtained a homogeneous study sample, the number of these matching criteria had the inconvenience of significantly reducing the number of women included in the study.

Conclusion

Our study suggest that a positive CT serology has no impact on IVF pregnancy outcomes. We can suppose that there would be no impact of a history of upper genital CT infection on IVF pregnancy outcome, since hydrosalpinx and chronic endometritis were treated before IVF. This data could help to reassure women with a CT infection history, but this needs to be confirmed by larger studies with a homogeneous microbiological assessment of CT antibodies.

Reference List

1. Sexually transmitted infections (STIs) [Internet]. [cited 2022 Aug 6]; Available from: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-\(stis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-(stis))
2. Facts about chlamydia [Internet]. Eur. Cent. Dis. Prev. Control. [cited 2022 Aug 6]; Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/chlamydia/facts>
3. Haggerty CL, Gottlieb SL, Taylor BD, Low N, Xu F, Ness RB. Risk of sequelae after Chlamydia trachomatis genital infection in women. *J Infect Dis* 2010;201 Suppl 2:S134-155.
4. Paavonen J, Eggert-Kruse W. Chlamydia trachomatis: impact on human reproduction. *Hum Reprod Update* 1999;5(5):433–47.
5. Land JA, Van Bergen JE a. M, Morr  SA, Postma MJ. Epidemiology of Chlamydia trachomatis infection in women and the cost-effectiveness of screening. *Hum Reprod Update* 2010;16(2):189–204.
6. Egger M, Low N, Smith GD, Lindblom B, Herrmann B. Screening for chlamydial infections and the risk of ectopic pregnancy in a county in Sweden: ecological analysis. *BMJ* 1998;316(7147):1776–80.
7. Coppus SFPJ, Land JA, Opmeer BC, Steures P, Eijkemans MJC, Hompes PGA, et al. Chlamydia trachomatis IgG seropositivity is associated with lower natural conception rates in ovulatory subfertile women without visible tubal pathology. *Hum Reprod Oxf Engl* 2011;26(11):3061–7.
8. Ness RB, Soper DE, Richter HE, Randall H, Peipert JF, Nelson DB, et al. Chlamydia antibodies, chlamydia heat shock protein, and adverse sequelae after pelvic inflammatory disease: the PID Evaluation and Clinical Health (PEACH) Study. *Sex Transm Dis* 2008;35(2):129–35.
9. Baud D, Goy G, Jatou K, Osterheld M-C, Blumer S, Borel N, et al. Role of Chlamydia trachomatis in miscarriage. *Emerg Infect Dis* 2011;17(9):1630–5.
10. Witkin SS, Minis E, Athanasiou A, Leizer J, Linhares IM. Chlamydia trachomatis: the Persistent Pathogen. *Clin Vaccine Immunol CVI* 2017;24(10):e00203-17.
11. Stephens AJ, Aubuchon M, Schust DJ. Antichlamydial Antibodies, Human Fertility, and Pregnancy Wastage. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2011;2011:525182.
12. Hafner LM. Pathogenesis of fallopian tube damage caused by Chlamydia trachomatis infections. *Contraception* 2015;92(2):108–15.
13. Claman P, Amimi MN, Peeling RW, Toye B, Jessamine P. Does serologic evidence of remote Chlamydia trachomatis infection and its heat shock protein (CHSP 60) affect in vitro fertilization-embryo transfer outcome? *Fertil Steril* 1996;65(1):146–9.
14. Osser S, Persson K, Wramsby H, Liedholm P. Dose previous Chlamydia trachomatis infection influence the pregnancy rate of in vitro fertilization and embryo replacement? *Am J Obstet Gynecol* 1990;162(1):40–4.

15. Spandorfer SD, Neuer A, LaVerda D, Byrne G, Liu HC, Rosenwaks Z, et al. Previously undetected Chlamydia trachomatis infection, immunity to heat shock proteins and tubal occlusion in women undergoing in-vitro fertilization. *Hum Reprod Oxf Engl* 1999;14(1):60–4.
16. Jakus S, Neuer A, Dieterle S, Bongiovanni AM, Witkin SS. Antibody to the Chlamydia trachomatis 60 kDa heat shock protein in follicular fluid and in vitro fertilization outcome. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989 2008;59(2):85–9.
17. Lunenfeld E, Shapiro BS, Sarov B, Sarov I, Insler V, Decherney AH. The association between chlamydial-specific IgG and IgA antibodies and pregnancy outcome in an in vitro fertilization program. *J Vitro Fertil Embryo Transf IVF* 1989;6(4):222–7.
18. Witkin SS, Sultan KM, Neal GS, Jeremias J, Grifo JA, Rosenwaks Z. Unsuspected Chlamydia trachomatis infection and in vitro fertilization outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1994;171(5):1208–14.
19. Licciardi F, Grifo JA, Rosenwaks Z, Witkin SS. Relation between antibodies to Chlamydia trachomatis and spontaneous abortion following in vitro fertilization. *J Assist Reprod Genet* 1992;9(3):207–10.
20. Keay SD, Barlow R, Eley A, Masson GM, Anthony FW, Jenkins JM. The relation between immunoglobulin G antibodies to Chlamydia trachomatis and poor ovarian response to gonadotropin stimulation before in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1998;70(2):214–8.
21. Pacchiarotti A, Sbracia M, Mohamed MA, Frega A, Pacchiarotti A, Espinola SMB, et al. Autoimmune response to Chlamydia trachomatis infection and in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 2009;91(3):946–8.
22. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertil Steril* 1997;67(5):817–21.
23. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, Racowsky C, de Mouzon J, Sokol R, et al. The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017. *Hum Reprod Oxf Engl* 2017;32(9):1786–801.
24. Bouet P-E, El Hachem H, Monceau E, Gariépy G, Kadoch I-J, Sylvestre C. Chronic endometritis in women with recurrent pregnancy loss and recurrent implantation failure: prevalence and role of office hysteroscopy and immunohistochemistry in diagnosis. *Fertil Steril* 2016;105(1):106–10.
25. Park HJ, Kim YS, Yoon TK, Lee WS. Chronic endometritis and infertility. *Clin Exp Reprod Med* 2016;43(4):185–92.
26. Johnston-MacAnanny EB, Hartnett J, Engmann LL, Nulsen JC, Sanders MM, Benadiva CA. Chronic endometritis is a frequent finding in women with recurrent implantation failure after in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2010;93(2):437–41.
27. Woodhall SC, Gorwitz RJ, Migchelsen SJ, Gottlieb SL, Horner PJ, Geisler WM, et al. Advancing the public health applications of Chlamydia trachomatis serology. *Lancet Infect Dis* 2018;18(12):e399–407.

28. Tiitinen A, Surcel H-M, Halttunen M, Birkelund S, Bloigu A, Christiansen G, et al. Chlamydia trachomatis and chlamydial heat shock protein 60-specific antibody and cell-mediated responses predict tubal factor infertility. *Hum Reprod Oxf Engl* 2006;21(6):1533–8.
29. Land JA, Evers JLH. Chlamydia infection and subfertility. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2002;16(6):901–12.
30. Witkin SS, Jeremias J, Neuer A, David S, Kligman I, Toth M, et al. Immune recognition of the 60kD heat shock protein: implications for subsequent fertility. *Infect Dis Obstet Gynecol* 1996;4(3):152–8.
31. Idahl A, Boman J, Kumlin U, Olofsson JI. Demonstration of Chlamydia trachomatis IgG antibodies in the male partner of the infertile couple is correlated with a reduced likelihood of achieving pregnancy. *Hum Reprod Oxf Engl* 2004;19(5):1121–6.

Figure 1: Chlamydia trachomatis (CT) serology and IVF outcome. Flow chart of the cohort study.

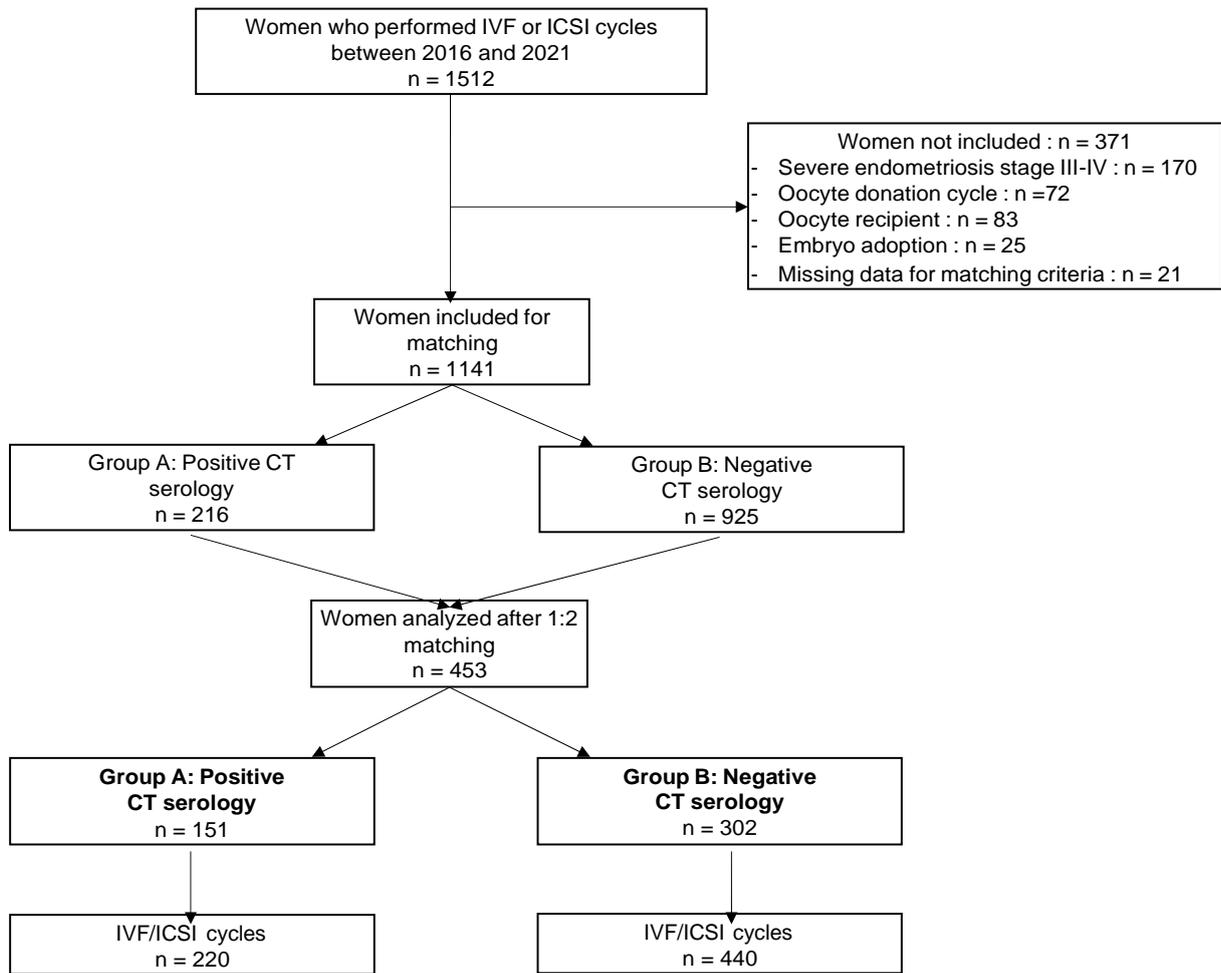


Table 1: Chlamydia trachomatis (CT) serology and IVF outcome. Clinical and biological characteristics of the population

	Group A positive CT serology n = 151	Group B negative CT serology n = 302	p- value
Characteristics of women			
Age (years)	33.7 ± 4.6	33.8 ± 4.4	0.716
Tobacco smoker	28 (18.5)	56 (18.5)	1.000
BMI (kg/m ²)	24.0 ± 4.2	23.8 ± 4.5	0.463
FSH (IU/L)	7.3 ± 2.5	7.1 ± 2.2	0.260
E2 (pg/mL)	49.9 ± 56.6	51 ± 37.2	0.763
AMH (ng/mL)	2.9 ± 3.8	2.8 ± 2.8	0.891
Characteristics of men			
Age (years)	36.3 ± 5.8	37.2 ± 6.8	0.072
Tobacco smoker	56 (37.1)	108 (35.8)	0.782
BMI (kg/m ²)	26.0 ± 3.9	25.2 ± 6.0	0.117
Infertility			
Couples with secondary infertility	43 (28.5)	86 (28.5)	1.000
Women with secondary infertility	81 (53.6)	123 (40.7)	0.009
Duration of infertility (years)	4.5 ± 2.8	3.9 ± 2.4	0.024
Etiology of infertility			
DOR	46 (30.5)	89 (29.5)	0.828
Ovulatory	29 (19.2)	46 (15.2)	0.283
Tubal	73 (48.3)	66 (21.9)	<0.001
Male factor	83 (55.0)	164 (54.3)	0.894
Idiopathic	8 (5.3)	47 (15.6)	0.002

Data are expressed as the mean ± standard deviation or number and percentage, if not specified. BMI: body mass index, FSH: follicle stimulating hormone, E2: estradiol levels, AMH: anti-Mullerian hormone, DOR: diminished ovarian reserve

Table 2: Chlamydia trachomatis (CT) serology and IVF outcome. Characteristics of controlled ovarian stimulation cycles

	Group A Positive CT serology n = 220 cycles	Group B Negative CT serology n = 440 cycles	p- value
ART technique			
IVF	128 (58.2)	257 (58.4)	
ICSI	92 (41.8)	183 (41.6)	0.955
Semen parameters			
Total progressively motile sperm count in ejaculate (million)	43.5 \pm 48.9	43.8 \pm 51.9	0.944
Characteristics of the cycle			
Total gonadotropin dose (IU)	2893.3 \pm 1290.6	2802.6 \pm 1339.5	0.407
Duration of stimulation (days)	10.8 \pm 1.9	10.7 \pm 1.9	0.465
E2 levels on HCG day (pg/mL)	2208.8 \pm 1435.7	2298.9 \pm 1552	0.471
Freeze-all cycle	67 (30.5)	128 (29.1)	0.717
Characteristics of the oocyte retrieval			
Number of mature oocytes	7.3 \pm 4.8	7.0 \pm 4.8	0.449
Retrieval with no oocyte	7 (3.2)	13 (3.0)	0.872
Characteristics of the embryos per cycle			
Number of diploid embryos	2.46 \pm 2.1	2.27 \pm 1.7	0.228
Number of transferred embryos	1.76 \pm 1.3	1.75 \pm 1.2	0.858
Number of frozen embryos	1.37 \pm 2.2	1.09 \pm 1.9	0.107

Data are expressed as the mean \pm standard deviation or number and percentage, if not specified. IVF: in vitro fertilization, ICSI: intracytoplasmic sperm injection, E2: estradiol, HCG: gonadotropic chorionic hormone

Table 3: Chlamydia trachomatis (CT) serology and IVF outcome per cycle

	Group A Positive CT serology n = 180 cycles with embryo transfer	Group B Negative CT serology n = 372 cycles with embryo transfer	p- value
Cumulative live birth rate	66 (36.7)	130 (34.9)	0.692
Cumulative clinical pregnancy rate	76 (42.2)	166 (44.6)	0.594
Cumulative ectopic pregnancy rate	2/83 (2.4)	2/180 (1.1)	0.593
Cumulative pregnancy loss rate	20/83 (24.1)	59/180 (32.8)	0.153

Data are expressed as number and percentage.

Évaluation de l'impact d'une sérologie *Chlamydia trachomatis* positive sur les taux cumulés de naissance vivante en fécondation in vitro

Résumé

Introduction : *Chlamydia trachomatis* (CT) est la principale cause d'infection sexuellement transmissible bactérienne. L'infection chronique peut entraîner une infection génitale haute et des séquelles tubaires. En cas d'infertilité d'origine tubaire, la stratégie de prise en charge repose sur la fécondation in vitro (FIV). L'objectif de notre étude a été d'évaluer l'impact d'une sérologie CT positive sur les issues de grossesse en FIV.

Méthodes : Étude observationnelle, rétrospective et monocentrique incluant les femmes ayant réalisé au moins une ponction dans le cadre d'une FIV ou d'une injection intra-cytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI) entre janvier 2016 et décembre 2021. Deux groupes ont été constitués : les femmes ayant une sérologie CT positive (groupe A) et celles ayant une sérologie CT négative (groupe B).

Résultats : 151 femmes du groupe A ont été appariées à 302 femmes du groupe B, représentant respectivement 220 et 440 cycles de stimulation. Les femmes du groupe A présentaient des taux significativement plus élevés d'obstruction tubaire, d'hydrosalpinx exclu ou opéré et/ou d'antécédent d'endométrite chronique. Les taux cumulés de naissance vivante par cycle étaient similaires entre les deux groupes (36,7 % dans le groupe A contre 34,9 % dans le groupe B, $p = 0,692$). Les taux d'implantation ainsi que les taux cumulés de grossesse clinique, de perte de grossesse et de grossesse extra-utérine étaient comparables entre les deux groupes.

Conclusion : Notre étude est rassurante concernant les issues de grossesse en FIV des femmes ayant une sérologie CT positive.

Discipline : Gynécologie Médicale

Mots clés : *Chlamydia trachomatis*, fécondation in vitro, grossesse

Impact of a positive *Chlamydia trachomatis* serology on cumulative in vitro fertilization live birth rates

Abstract:

Introduction: *Chlamydia trachomatis* is one of most widespread sexually transmitted infection. Chronic *Chlamydia* infection can lead to pelvic inflammatory disease and tubal sequelae. In case of tubal obstruction, the strategy of infertility management is based on in vitro fertilization (IVF). The objective of our study was to assess the impact of a positive *Chlamydia trachomatis* serology on cumulative IVF live birth rates.

Methods: Observational, retrospective and monocentric study including women who have achieved at least one in vitro fertilization (IVF) or intracytoplasmic sperm injection (ICSI) cycle between January 2016 and December 2021. Two groups were set up: women with positive *Chlamydia trachomatis* serology (group A) and women with negative *Chlamydia trachomatis* serology (group B).

Results: 151 women in group A were matched 1:2 to 302 women in group B, representing 220 and 440 cycles, respectively. Women from group A had a significantly higher rate of tubal obstruction, excluded or operated hydrosalpinx and/or a history of chronic endometritis. IVF cumulative live birth rate per cycle was similar in the two groups (36.7 % in group A versus 34.9 % in group B, $p = 0.692$). The implantation rate, cumulative clinical pregnancy rate, pregnancy loss rate and ectopic pregnancy rate were comparable between the two groups.

Conclusion: A positive *Chlamydia trachomatis* serology has no impact on IVF pregnancy outcomes.

Discipline : Medical Gynecology

Keywords : *Chlamydia trachomatis*, in vitro fertilization, pregnancy outcome
