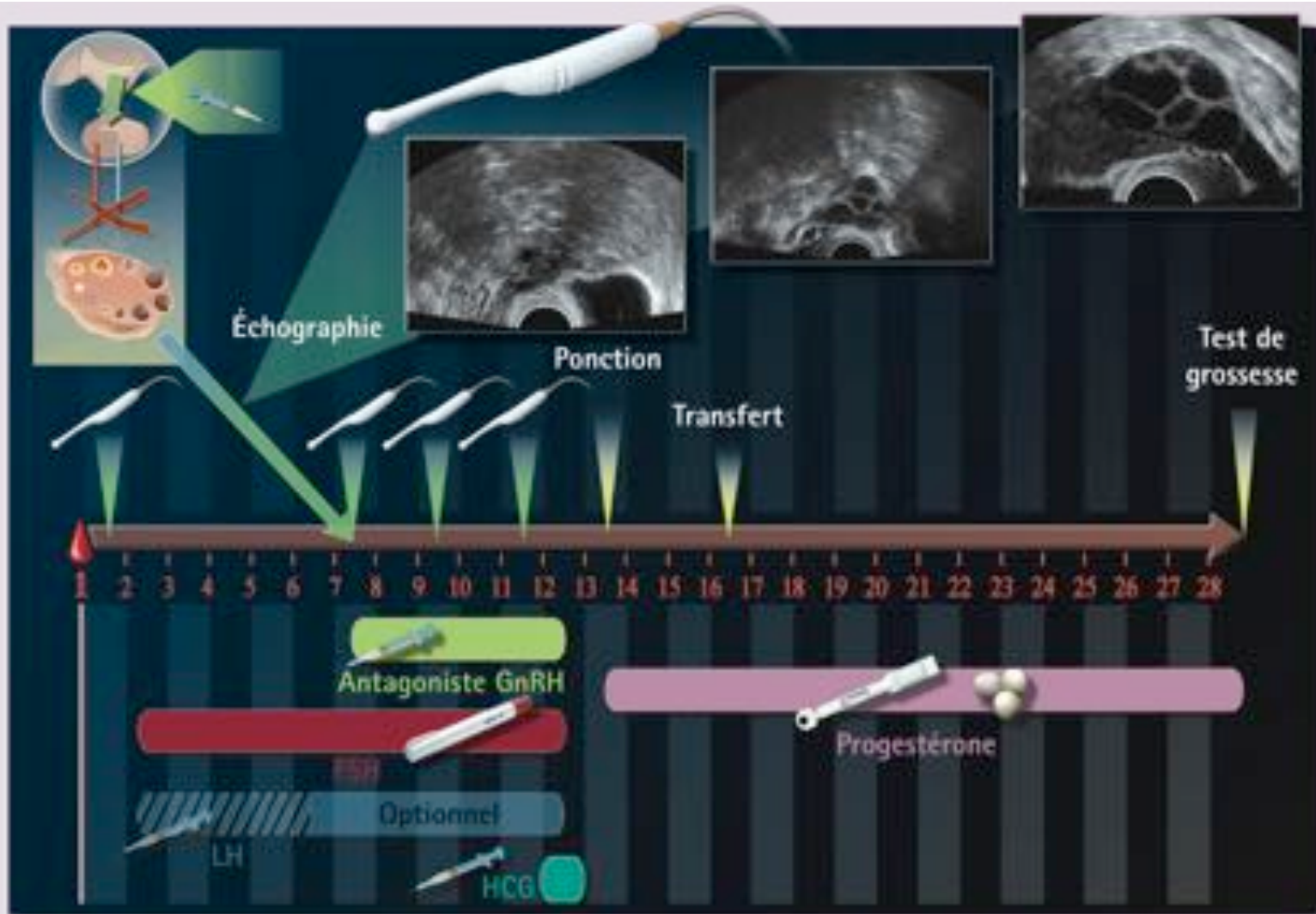


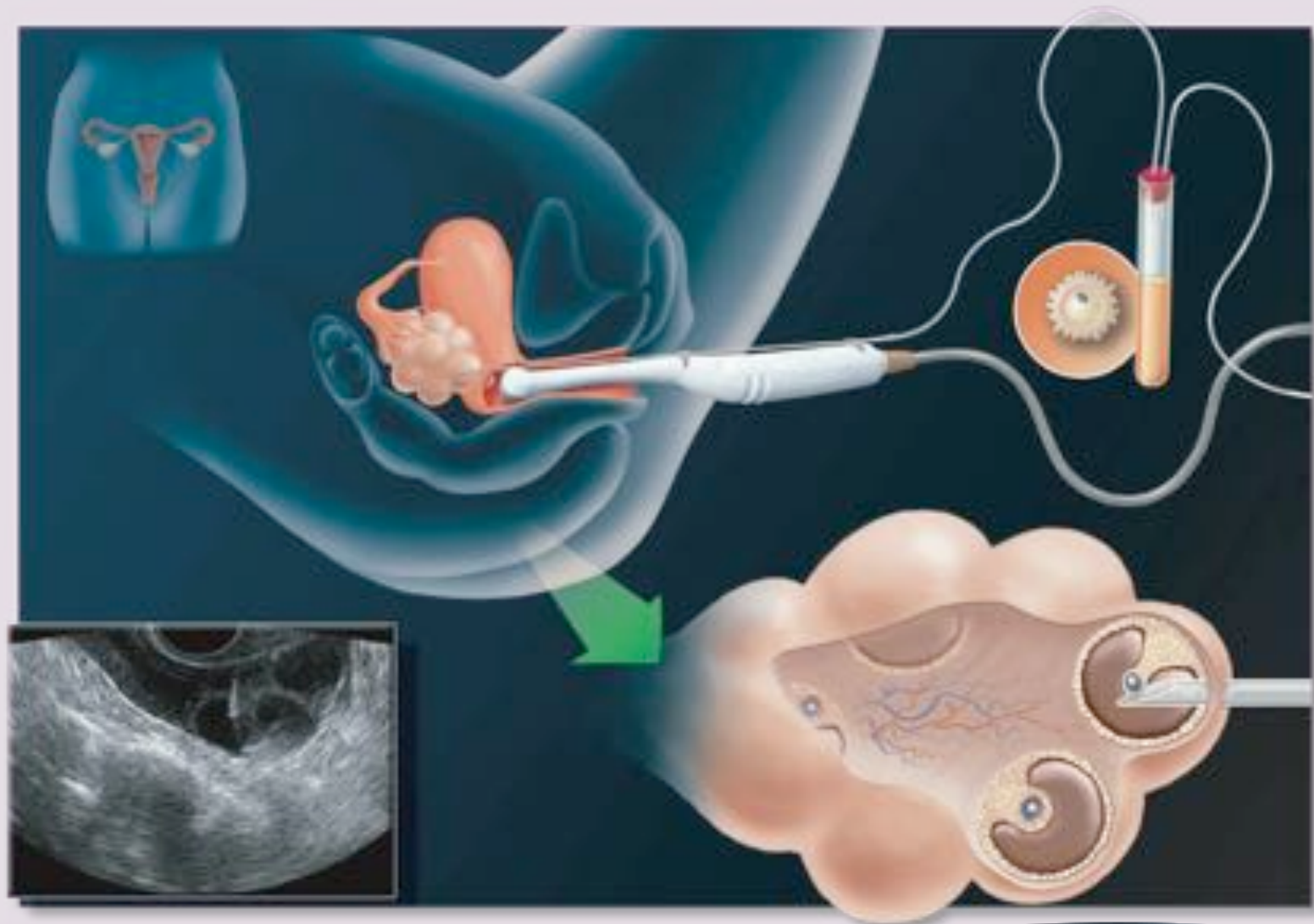
Avancées techniques au laboratoire de fécondation in vitro

Fabien Murisier

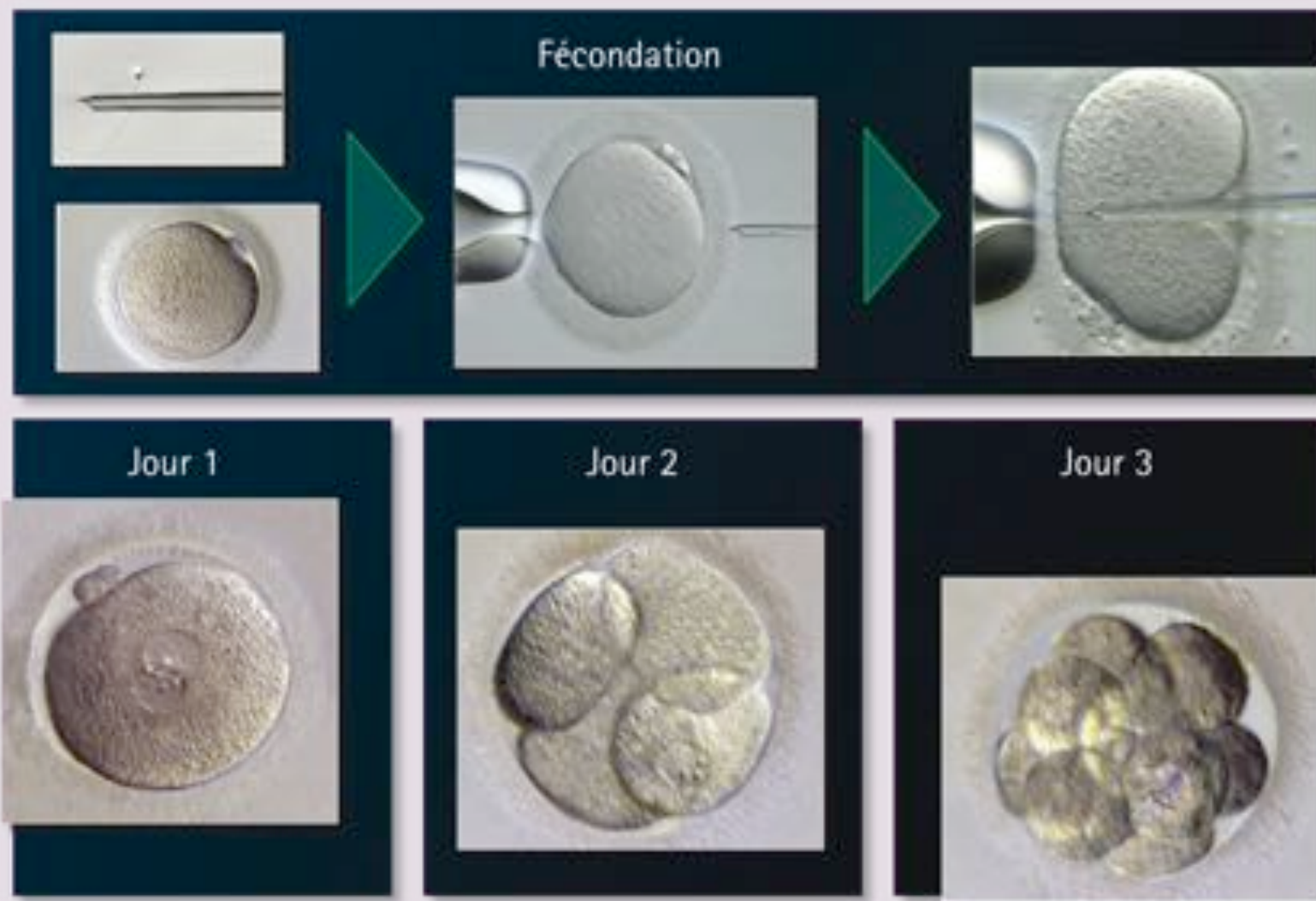
Traitement de fécondation in vitro - Stimulation hormonale



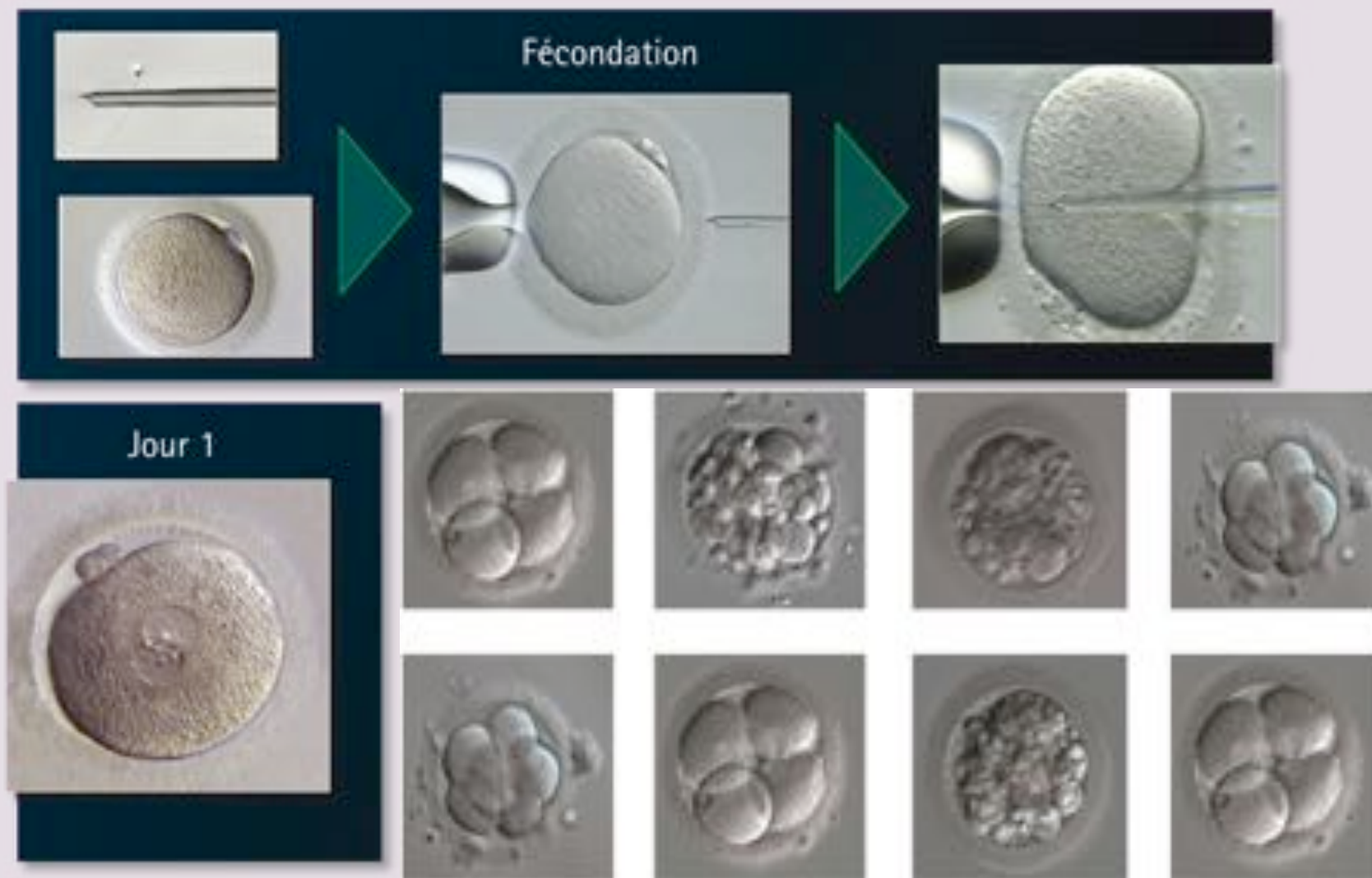
Traitement FIV– Prélèvement des ovocytes



Traitement FIV– Fécondation in vitro



Traitement FIV– Fécondation in vitro



Traitement FIV– Transfert in utéro



Efficacité de la FIV en Suisse

- En 2016 en Suisse, il y a eu 8500 cycles de transferts d'embryons.
- L'âge moyen des patientes traitées était de 36.3 ans.
- 30% des transferts ont abouti à une grossesse.
- Un quart ces grossesses se sont terminées en fausse-couche.
- Au final 22 % des transferts ont conduit à une naissance.
- 15% des naissances sont des jumeaux (en raison du transfert de 2 embryons)

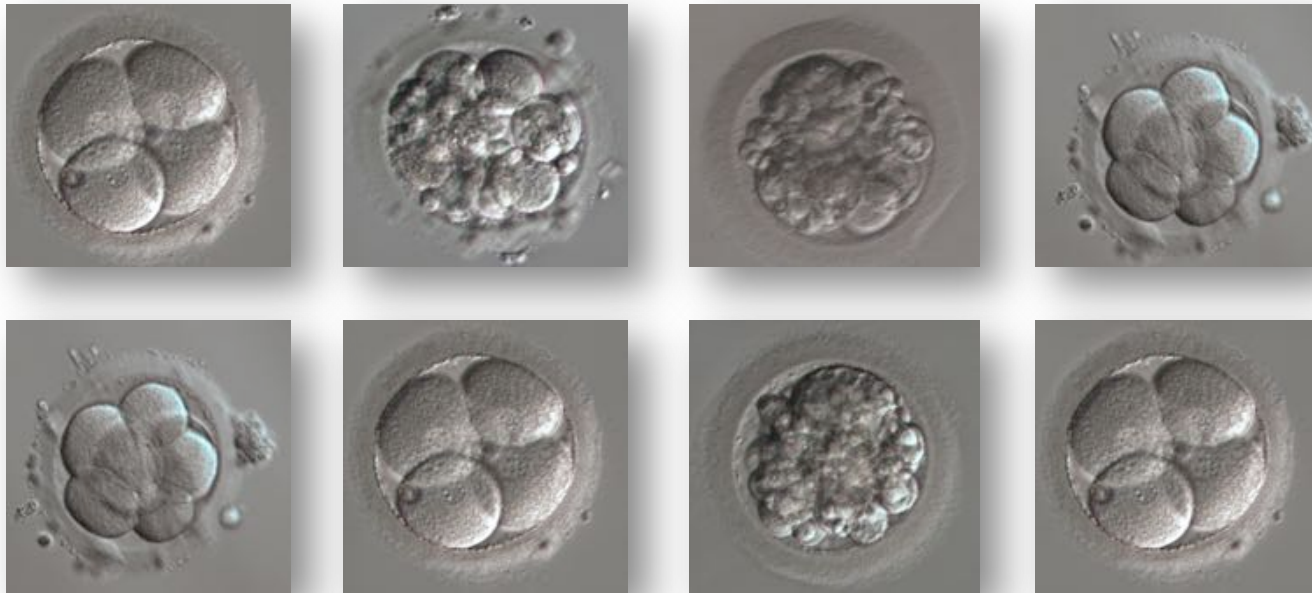


Nouvelle Loi sur la Procréation Médicalement Assistée

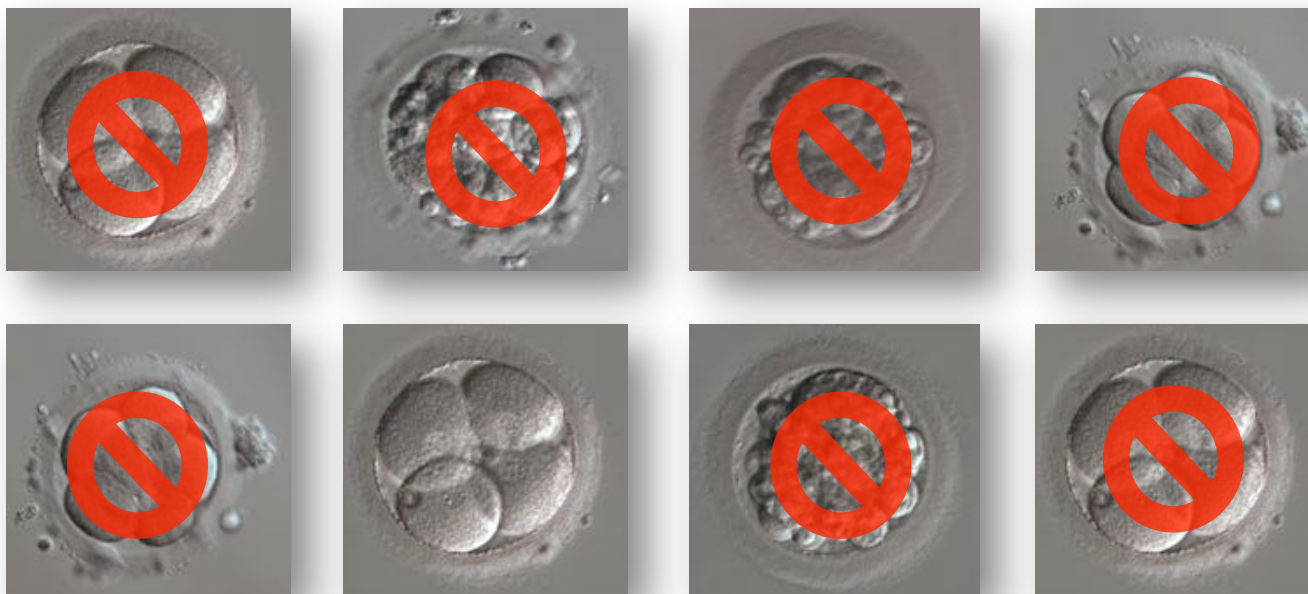
	Ancienne loi	Nouvelle loi
Nombre maximum d'embryons en culture	3	12
Congélation d'embryons	Interdite	Autorisée
DPI	Interdit	Autorisé
Durée de conservation	5 ans	10 ans



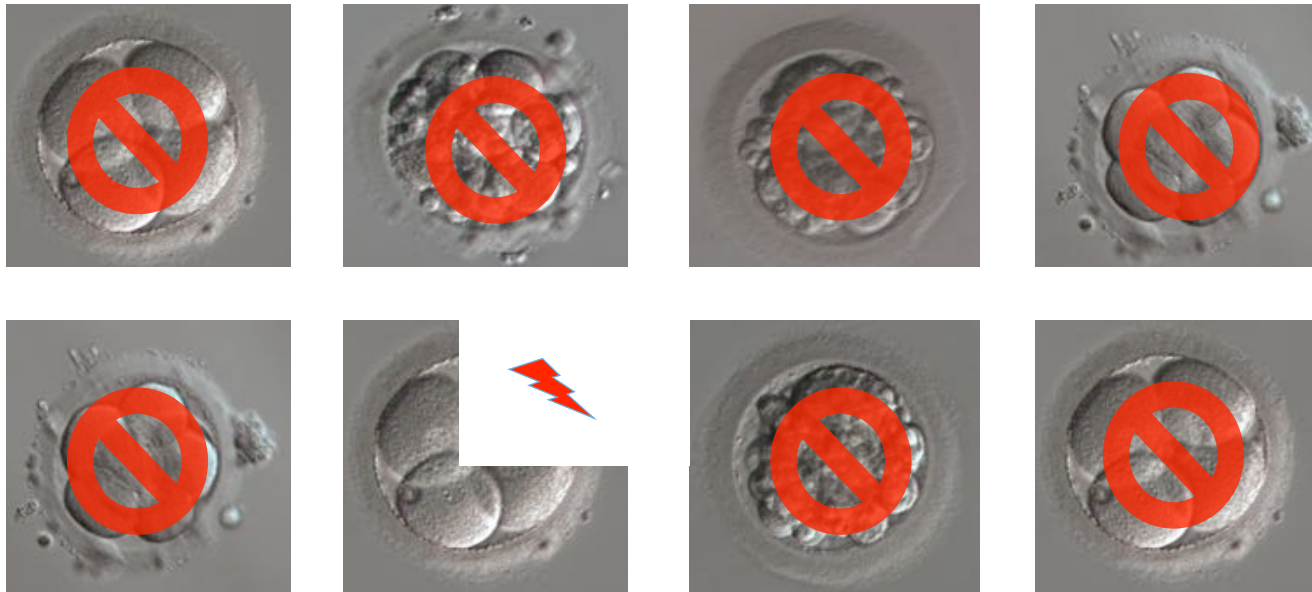
La majorité des embryons obtenus au cours d'une FIV ne conduisent pas à une grossesse



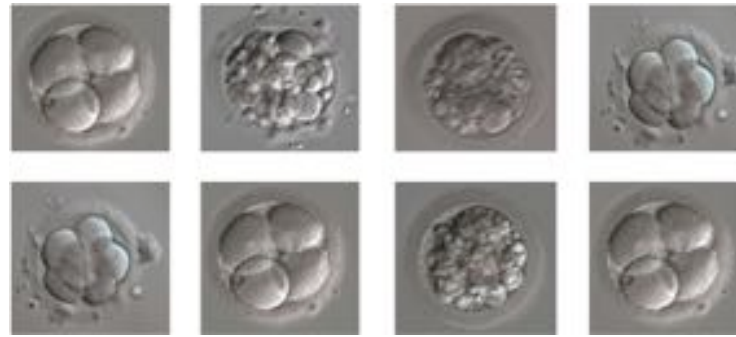
Seuls 15 % ont la capacité de s'implanter



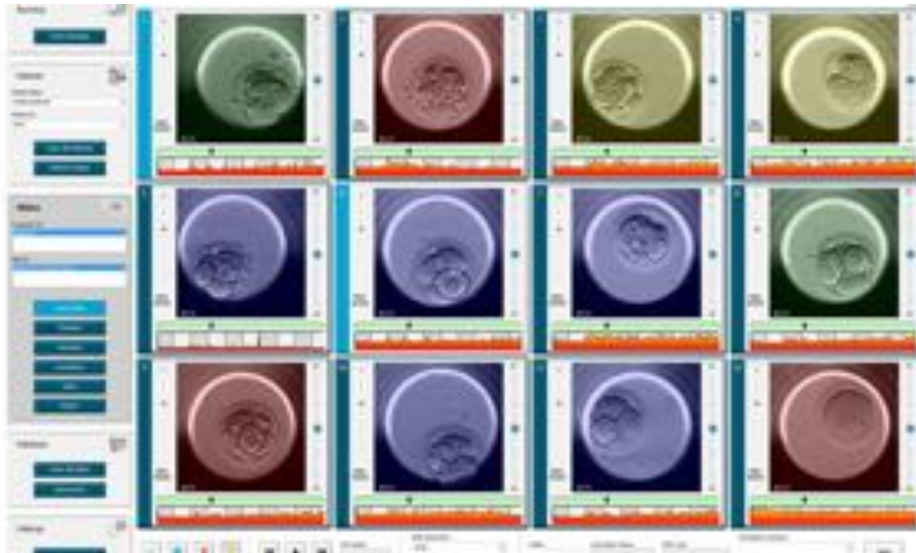
Un quart de ces grossesses finit en fausse-couche



Comment identifier l'embryon qui a le plus de potentiel?



- Analyses morphologiques et cinétiques



Embryoscope

- Analyses génétiques



Culture embryonnaire J5/J6

- Identification des embryons ayant le potentiel de s'implanter in utéro



Utilisation des mRNA maternels

Activation du génome de l'embryon

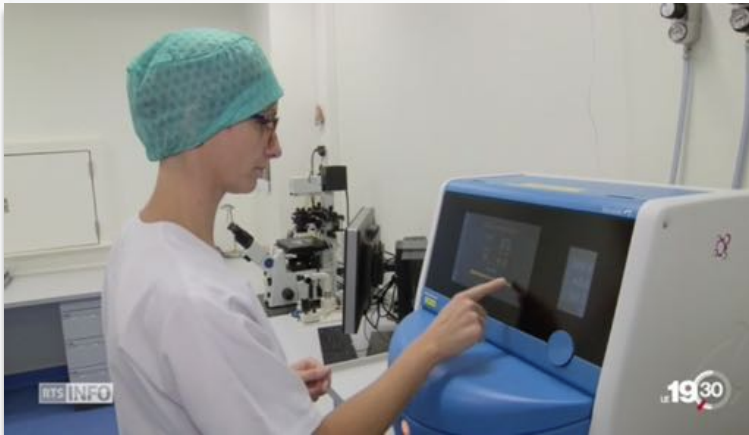


Environ 40% des embryons atteignent le stade de blastocyste



Incubateur de nouvelle génération

EMBRYOSCOPE+



24 heures

24 heures | Mercredi 30 août 2017

Suisse



L'embryoscope est un incubateur dans lequel les embryons peuvent être observés. Sur l'image montrée par Charlotte Coat, médecin biologiste, un embryon de quelques heures.

Ici, on suit les premiers jours de vie des embryons

Dès septembre, il sera possible de choisir l'embryon le plus prometteur. Une caméra high-tech aide à l'identifier

Caroline Zuercher

Heureuse dans la technologie de pointe elle prend la forme d'un film d'une petite minute, dont le miroir ne mesure pas plus de 0,2 millimètre: la taille des poussiers que l'on repère lorsque la lumière est rassemblée. Il s'agit d'un embryon, dont on suit en accéléré les cinq premiers jours de vie en laboratoire, avec les divisions permettant de passer d'une à cent cellules.

Ce court montage est rendu possible grâce à un incubateur d'un nouveau genre, muni d'une caméra et d'un microscope. Nommé embryoscope, cet appareil réalise onze photos toutes les dix minutes, et cela sous différents angles. Le but? Transférer dans le corps de la femme un zygote qui s'est développé correctement, et augmenter les chances de grossesse.

Jusqu'à présent, un tel examen visuel n'était pas possible en Suisse. La loi interdisait la conservation, et donc toute forme de sélection, d'embryons. Tous ceux qui étaient produits devaient être transférés. Or, la législation change le 1er septembre. Non seulement le diagnostic prénatalatoire (DPO) sera autorisé, mais on pourra aussi recruter en culture douze embryons, en choisissant et congelant les autres pour une utilisation future (lire ci-contre).

Une première romande Il y a trois ans de cela, le Centre de procréation médicale assistée (CPMA) à Lausanne s'est doté d'un embryoscope. En Suisse romande, c'est une première. Il faut dire que cette technologie n'existait pas

Jusqu'en 2010. Dans le laboratoire, l'enthousiasme est palpable. «Pour nous, c'est Noël», confie son directeur adjoint, Fabien Maurier. En plus, les premiers embryons développés dans ces conditions étaient tous magnifiques.

Les scientifiques n'ont pas uniquement accès à des images jugales inconnues. Grâce au caméra dotée d'une lumière spéciale pour ne pas déranger les cellulaires, cet incubateur offre les conditions idéales au développement: une température de 37 degrés et un bon équilibre entre le CO₂ et l'oxygène. «Avant, nous devions sortir les boîtes de culture trois à quatre fois pour les contrôler sous le microscope», explique Charlotte Coat, médecin biologiste. En évitant les manipulations, on augmente les chances que les embryons se forment correctement.

En général, seuls 40% d'entre eux se développent bien, dont la moitié aboutit à une grossesse. Après cinq jours, certains n'ont plus de cellules habituelles. Le but? Transférer dans le corps de la femme un zygote qui s'est développé correctement, et augmenter les chances de grossesse.

Jusqu'à présent, un tel examen visuel n'était pas possible en Suisse. La loi interdisait la conservation, et donc toute forme de sélection, d'embryons. Tous ceux qui étaient produits devaient être transférés. Or, la législation change le 1er septembre. Non seulement le diagnostic prénatalatoire (DPO) sera autorisé, mais on pourra aussi recruter en culture douze embryons, en choisissant et congelant les autres pour une utilisation future (lire ci-contre).

La nouvelle loi sur la procréation médicale assistée entre en vigueur le 1er septembre. Voici les principaux changements. Le diagnostic prénatalatoire (DPO) est destiné aux couples porteurs d'une maladie héréditaire grave et vise à sélectionner des embryons qui ne présentent pas cette prédisposition. On estime qu'il y aura 100 à 200 traitements par année. Cet examen est effectué au jour du développement: on retire pour cela quelques cellules extram-

blées, on est passé de deux à cinq cellules au lieu de quatre. La deuxièmes cellule fusionne. «C'est normal», explique Charlotte Coat. Même s'ils ont fait bien après cinq jours, ces embryons n'ont pas le potentiel de conduire à une grossesse.

«Les premiers embryons développés dans ces conditions étaient tous magnifiques!» Fabien Maurier, Directeur adjoint du Centre de procréation médicale assistée de Lausanne

On l'a compris, il ne se sont pas utilisés. Quand on évoque cette sélection, les scientifiques restent très prudents d'identifier les raisons. Il n'y a pas d'examen invasif: c'est un travail à distance de transférer des embryons qui vont arriver de manière naturelle. On évite de manipuler, poursuit Charlotte Coat. Le plus important est d'augmenter les chances de succès et d'obtenir une grossesse le plus vite possible. Fabien Maurier enchaîne: «Nous n'ajoutons

pas au hasard mais avec des algorithmes approuvés par la communauté scientifique. Ceux-ci déterminent les caractéristiques à utiliser dans l'identification. Ils se basent sur plusieurs années d'expérience et de nombreuses publications. Autrement, nous aurions une sacrée responsabilité».

Doubler les chances

Au CPMA Lausanne, cette méthode sera proposée à tous les couples. Grâce à des collaborations, des patients des hôpitaux de Genève, de Neuchâtel et de Fribourg pourront en bénéficier si elles se déplacent pour une partie du traitement à Lausanne. L'embryoscope, qui coûte 170 000 francs, permet le suivi simultané de quinze traitements. Le centre s'attend à en avoir une dizaine.

Les couples qui le souhaitent pourront même obtenir «deux-fois». On espère surtout que l'adoption des changements législatifs et techniques doublera les chances de succès. Les biologistes vont aussi noter des informations qui, pour l'instant, sont pas utilisées. Ils comptent aussi en apprendre davantage. Et pourront affiner dans le futur les critères permettant de trouver le meilleur embryon.

Plusieurs changements annoncés

● La nouvelle loi sur la procréation médicale assistée entre en vigueur le 1er septembre. Voici les principaux changements.

Le diagnostic prénatalatoire (DPO) est destiné aux couples porteurs d'une maladie héréditaire grave et vise à sélectionner des embryons qui ne présentent pas cette prédisposition. On estime qu'il y aura 100 à 200 traitements par année. Cet examen est effectué au jour du développement: on retire pour cela quelques cellules extram-

blées (dans le matériel qui servira par exemple à former le placenta).

Il n'y a pas de diagnostic prénatalatoire pour les couples à risque de problèmes génétiques spécifiques mais permet de voir des anomalies dans les chromosomes des trisomies (notamment, qui empêchent souvent une grossesse). Il sera employé chez des patients qui présentent par exemple un risque de fausse couche. Plusieurs centaines de couples pourraient être

concernés chaque année. Il sera possible de développer jusqu'à douze embryons par cycle de traitement, contre trois auparavant. Tous ne devront pas être transférés. Il sera possible de choisir celui qui semble offrir les meilleures chances de grossesse et de congeler les autres. Dans ces conditions, on ne transférera en général qu'un embryon, jusqu'à présent, c'était plutôt deux. Ce qui augmentait les chances de succès mais aussi les grossesses multiples. C.Z.



Conditions de culture

- Conditions **idéales**

- 37°C

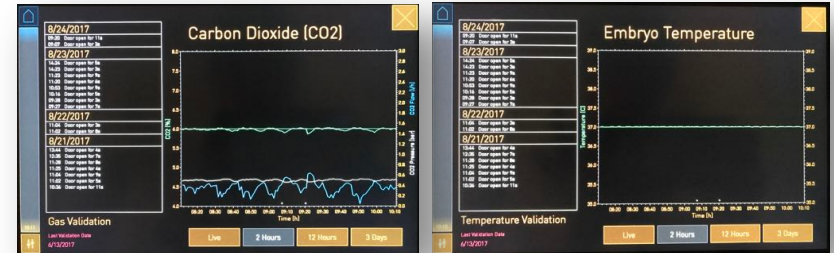
- Gaz : O₂, CO₂

- Photos sans sortir les embryons

- **Stabilité +++**

- 15 patients

- 16 embryons par couple (en Suisse 12 max)

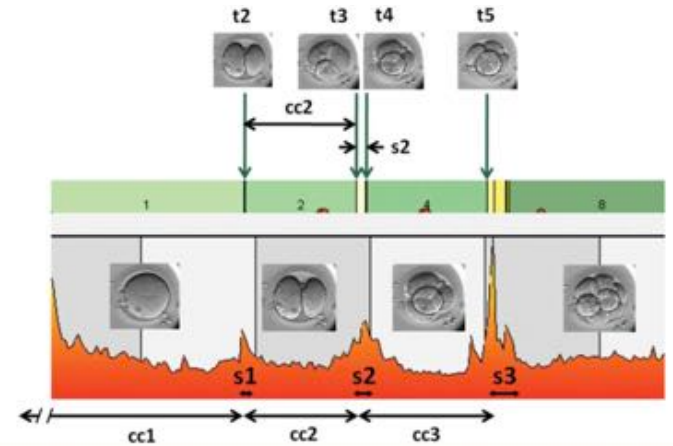


Vidéo Time-Lapse



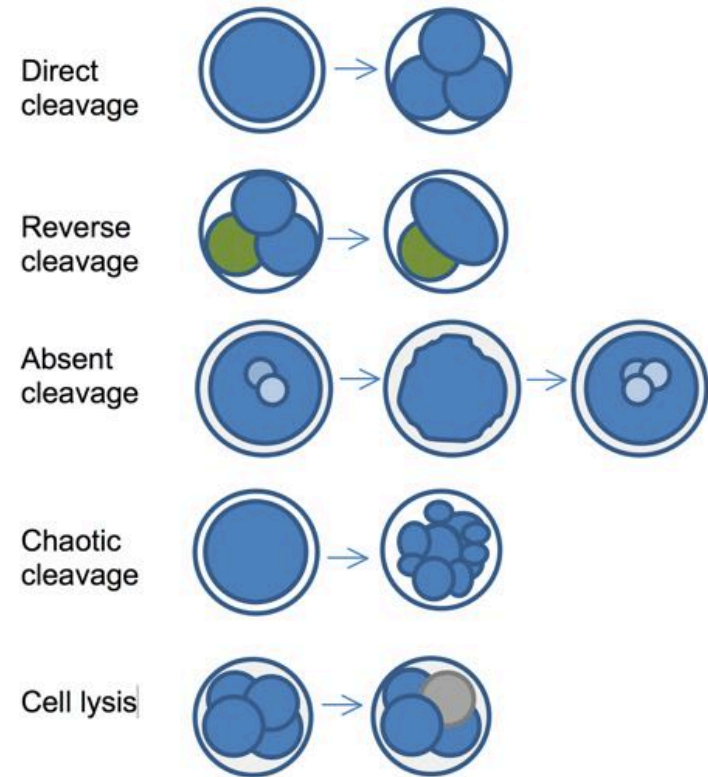
Analyse cinétique du développement embryonnaire

Durée des divisions cellulaires
Algorithmes prédictifs

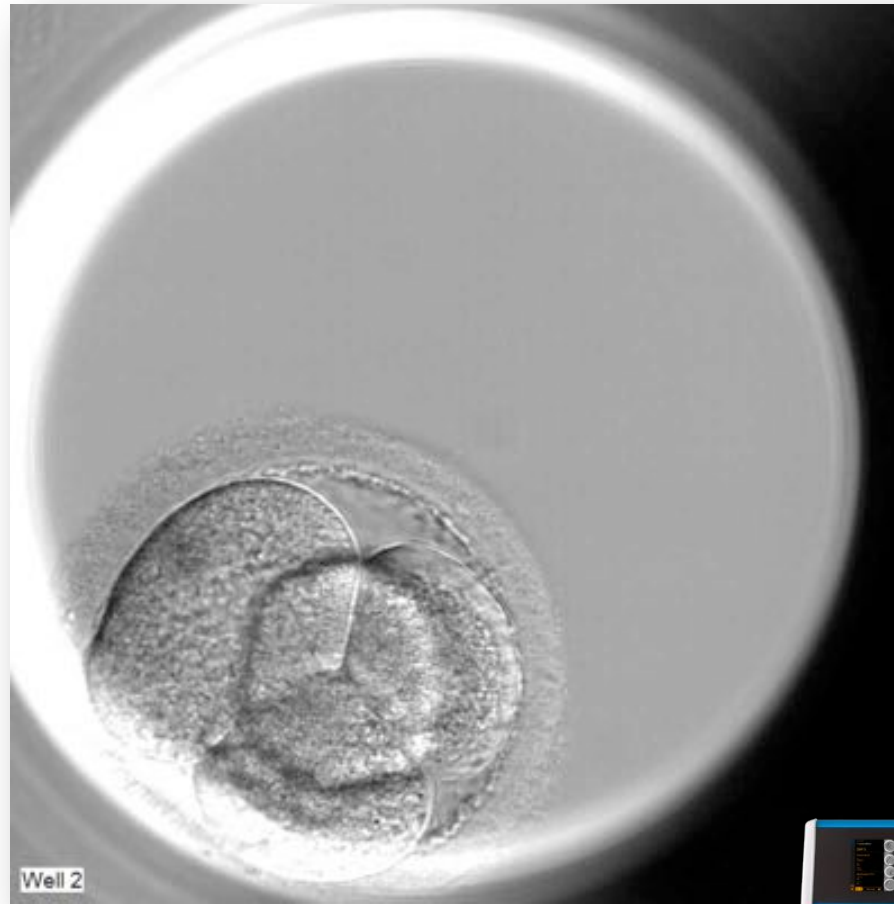


Analyse cinétique du développement embryonnaire

- Identification d'évènements particuliers



Exemple Reverse Cleavage



Impact de certain type de divisions anormales

Table 1 – Descriptive data for embryos showing an abnormal division pattern and normal embryos.

	No. of embryos n (%)	No. of cycles n (%)	Affected embryos/ cycle	No. of embryos transferred	No. of embryos frozen	No. of embryos discarded	No. of GQE (%)	No. of AQE (%)	No. of PQE (%)	No. of abnormal embryos transferred with known implantation			IR % [n/ta]	P-value*
										Total	D3	D5		
TDC	48 (0.3)	45 (1.0)	1.07	3	11	34	10 (20.8)	8 (16.7)	30 (62.5)	1	0	1	0	NS
FDC	69 (0.4)	64 (1.4)	1.08	9	29	31	11 (15.9)	21 (30.4)	37 (53.6)	6	0	6	33.3 (2)	NS
UDC	580 (3.7)	463 (10.1)	1.25	33	30	477	69 (11.9)	101 (17.4)	470 (80.7)	14	5	11 (1xDET)	12.5 (2)	0.0378
Total DC	697 (4.4)	572 (12.5)	1.23	45	110	542	90 (12.9)	130 (18.7)	477 (68.4)	23	5	18 (1xDET)	17.4 (4)	NS
RC	65 (0.4)	61 (1.3)	1.07	14	22	29	15 (23.1)	10 (15.4)	40 (61.5)	9	3 (1xDET)	6	9 <u>3</u>	0.0103
AC	133 (0.8)	123 (2.7)	1.08	7	10	116	4 (4.5)	5 (3.8)	122 (91.7)	4	1	3 (1xDET)	25 (1)	NS
CC*	635 (5.3)	459 (10.1)	1.82	85	69	481	28 (18.2)	42 (27.3)	84 (54.5)	48	25 (5xDET)	23 (4xDET)	2.1 (1)	<0.0001
CL	81 (0.5)	71 (1.6)	1.14	5	31	45	11 (13.6)	22 (27.2)	48 (59.3)	2	0	2	0	NS
Overall total	1811 (11.4)	1286 (28.2)	1.41	156	242	1413	-	-	-	86	34 (6xDET)	52 (9xDET)	7.0 (4)	<0.0001
Normal embryos	14008 (88.6)	3273 (71.8)	-	3456	4576	5978	5128 (36.6)	2468 (17.6)	4412 (65.8)	-	-	-	38.7 (1336)	-

Total DC constitutes TDC, FDC and UDC collectively.

AQE = average quality embryos, GQE = good quality embryos, PQE = poor quality embryos.

* For implantation rate (IR) of affected embryos compared with normal embryo cohort (Fisher's exact, significant at $P < 0.05$).

* Only transferred and frozen embryos assessed for quality for this category owing to significant missing data.

Barries et al., RBMO, 2017





Résultats cliniques

- Pribenszky, RBMO, 2017
Meta-analyse, études prospectives randomisées

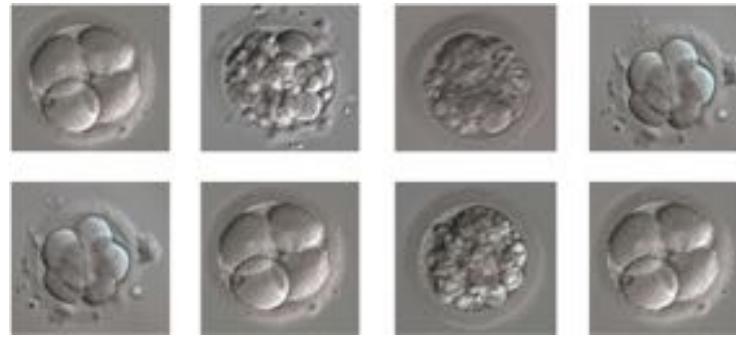
Table 4 – Chi-squared analysis of the time-lapse monitoring effect on clinical outcome.

	Time-lapse monitoring, n (%)	Conventional culture and evaluation, n (%)	P-value
Ongoing pregnancy	400/784 (51.0)	340/853 (39.9)	<0.0001
Early pregnancy loss	72/472 (15.3)	92/432 (21.3)	0.0186
Live birth	84/190 (44.2)	91/291 (31.3)	0.0040
Stillbirth	9/190 (4.7)	7/291 (2.4)	NS

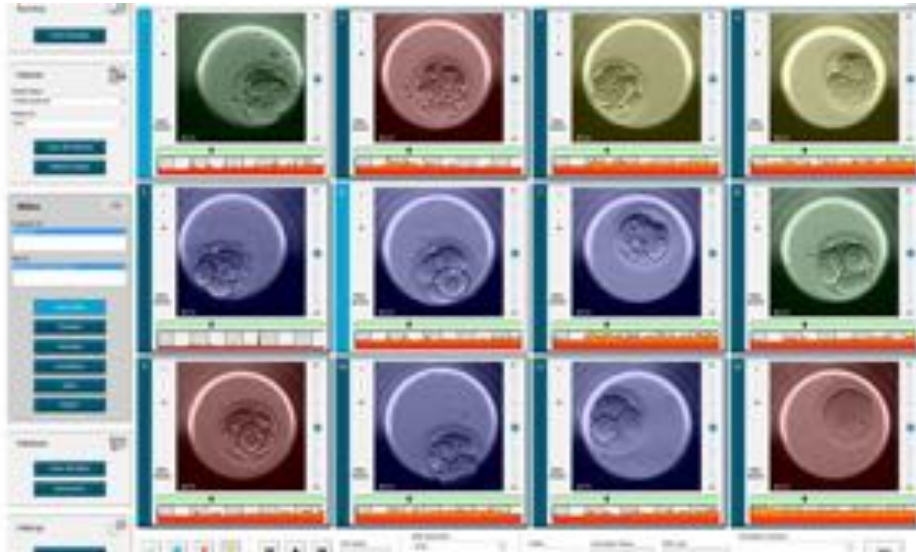
NS, not statistically significant.



Peut-on encore améliorer ces taux de succès?



- Analyses morphologiques et cinétiques

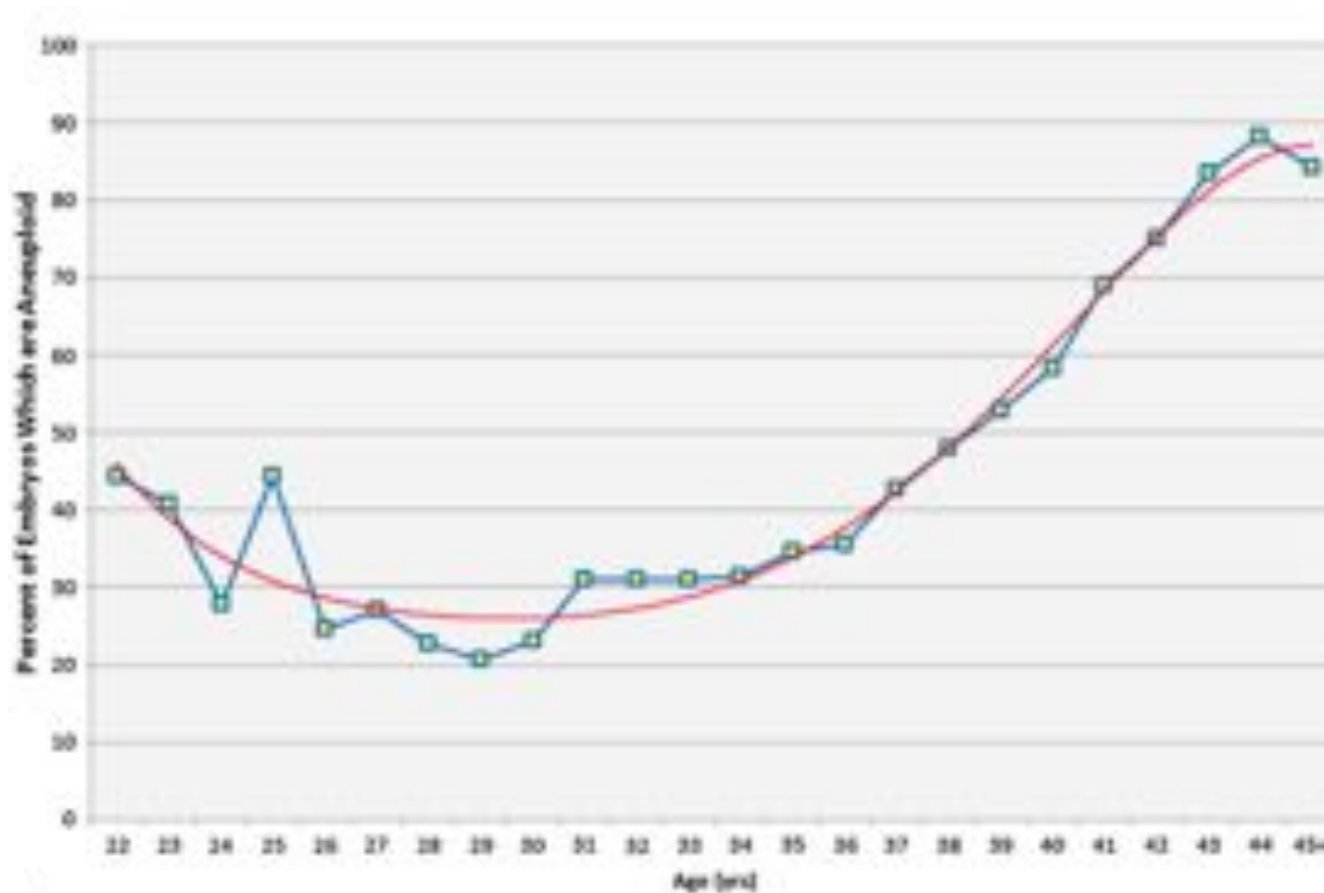


Embryoscope

- Analyses génétiques



Aneuploïdie de l'embryon et âge maternel

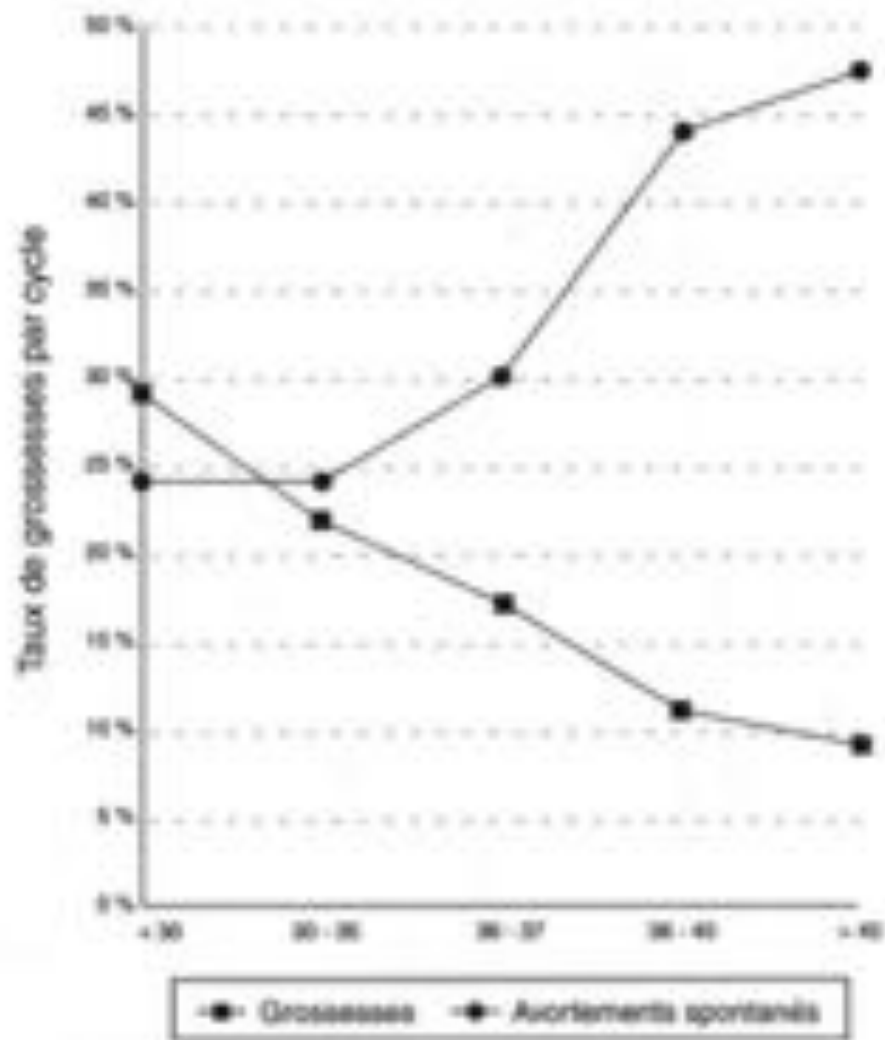


Age moyen des femmes traitées par FIV en Suisse: 36 ans

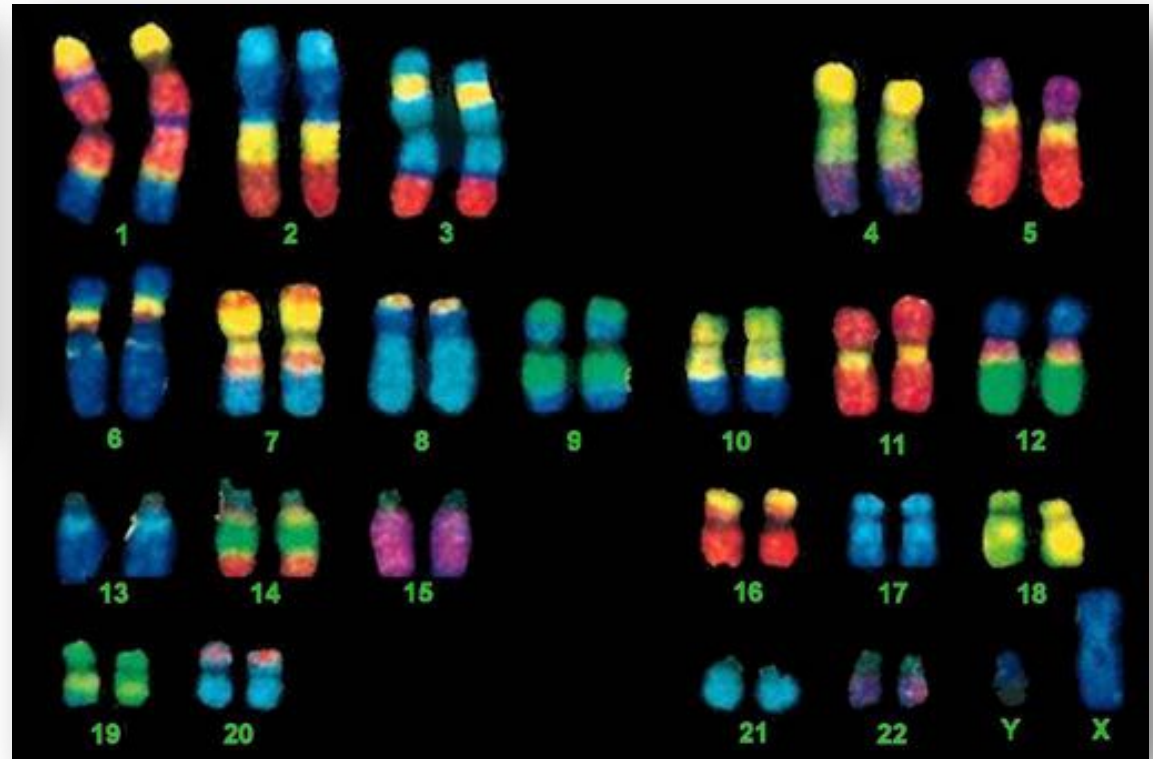
Franasiak et al – Fertil Steril 2014



Ce n'est pas un problème spécifique à la FIV



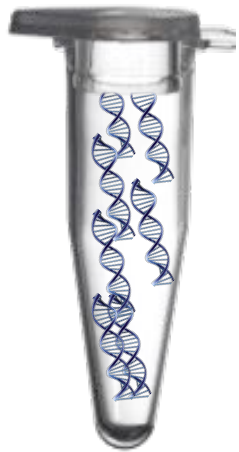
Comment faire le caryotype d'un embryon?



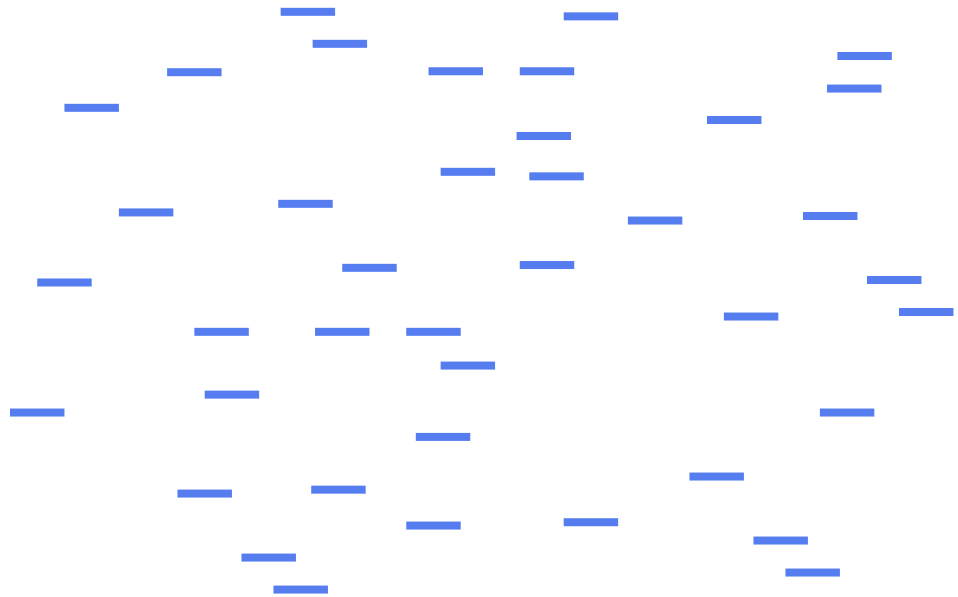
Procédure technique



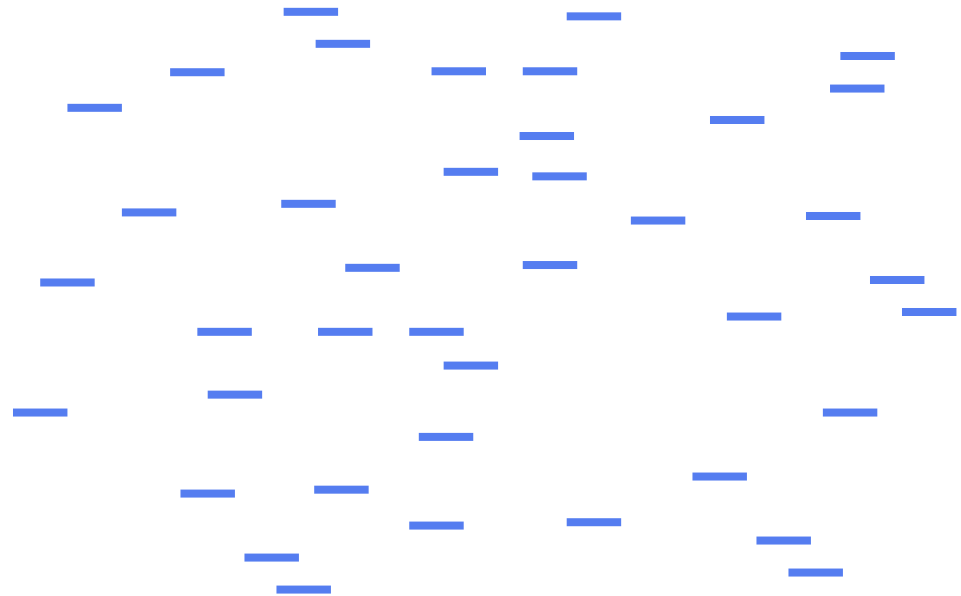
NGS



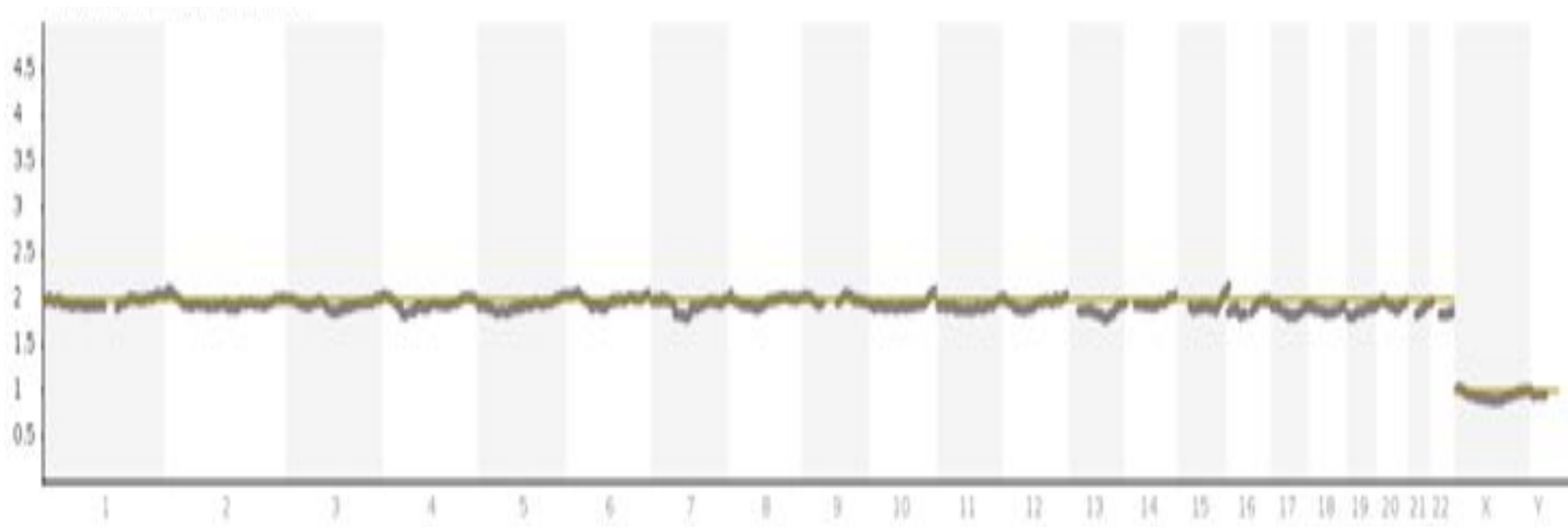
→
NGS



Bioinformatique

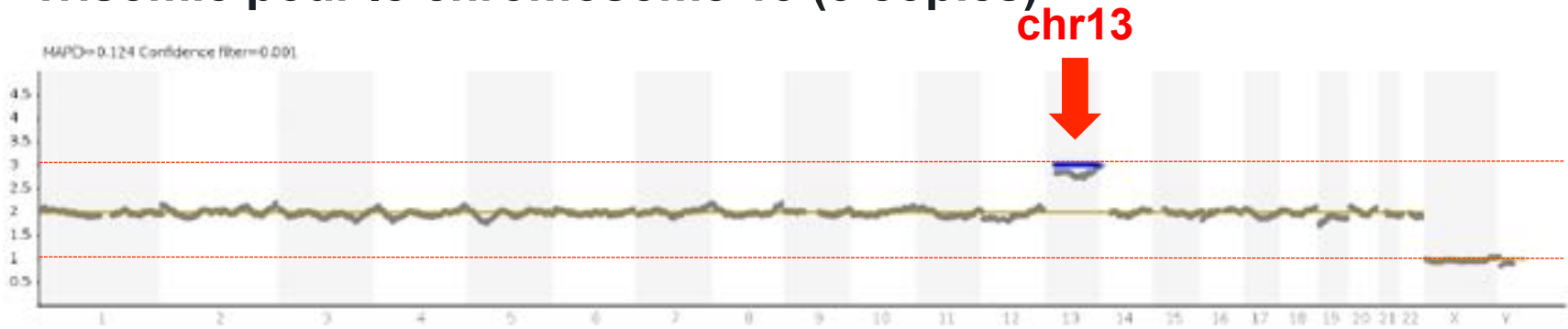


Exemple de résultat

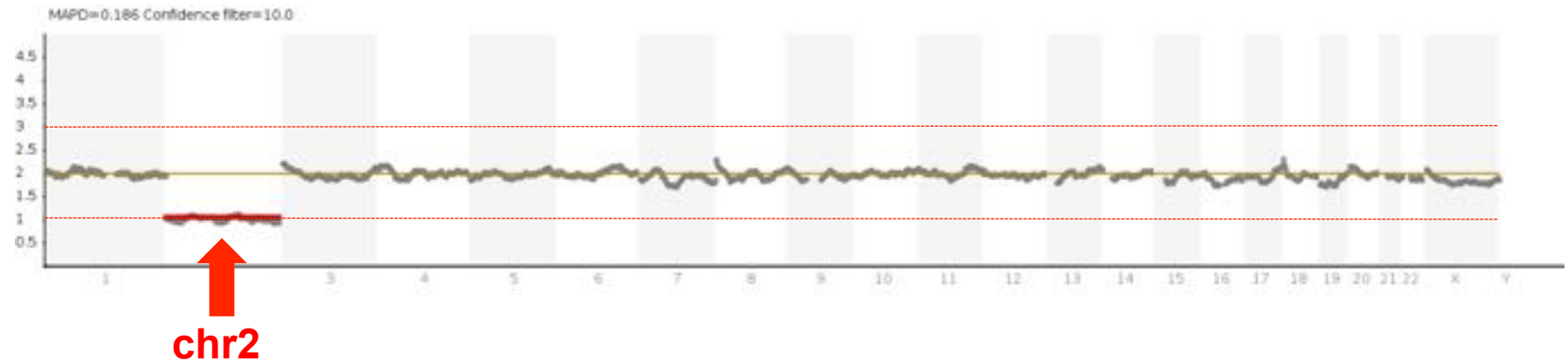


Exemples

Trisomie pour le chromosome 13 (3 copies)

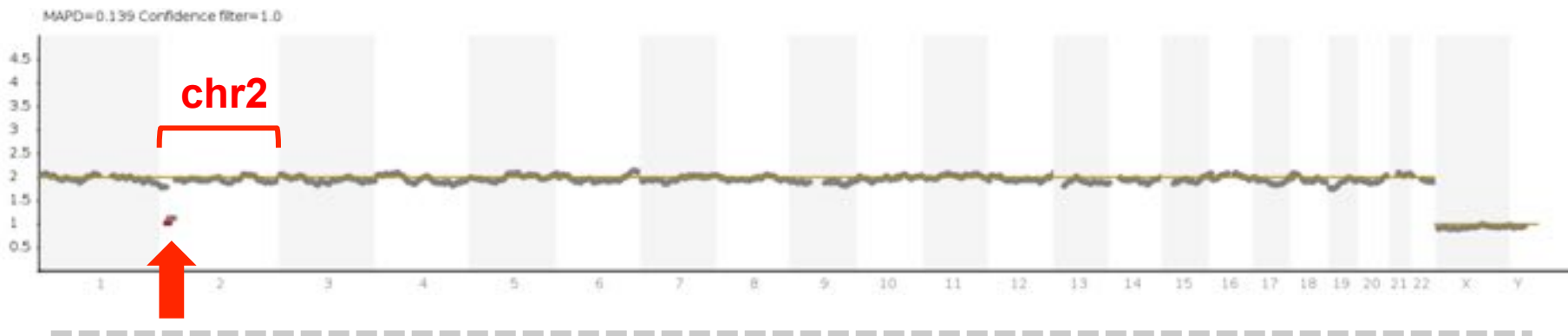


Monosomie pour le chromosome 2 (1 copie)

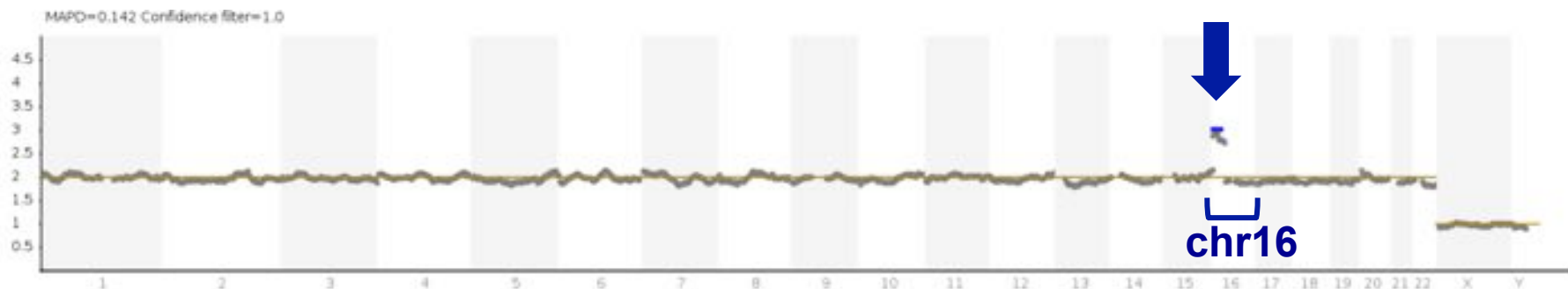


Aneusomies

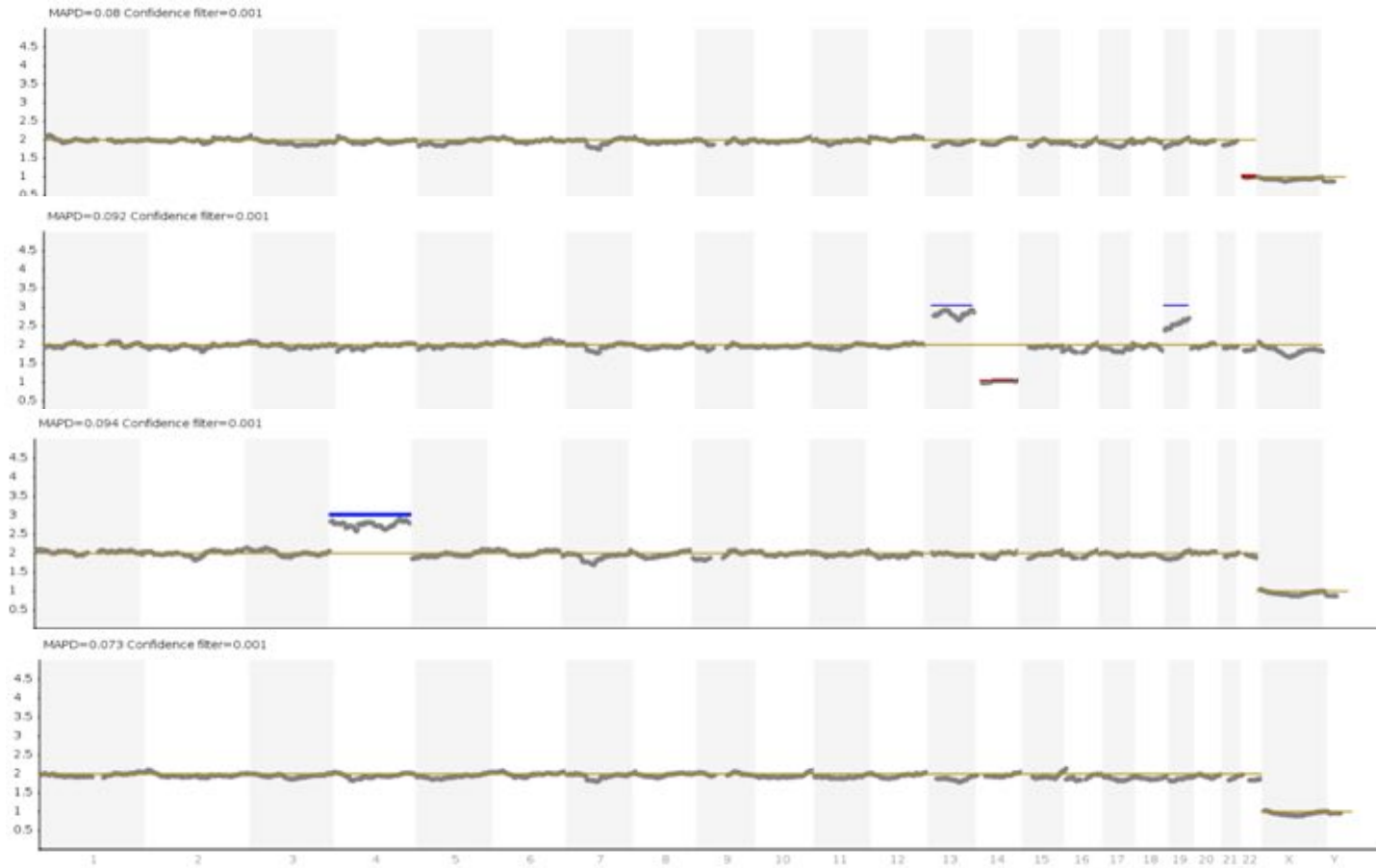
DELETION: del(2)(p25.1p23) Taille: 17 Mbp



DUPLICATION: dup(16)(p13.3p12.2) Taille: 21 Mbp



Exemples de résultats pour une patiente



Résultats cliniques

human
reproduction

ORIGINAL ARTICLE *Reproductive genetics*

Application of next-generation sequencing technology for comprehensive aneuploidy screening of blastocysts in clinical preimplantation genetic screening cycles

Francesco Fiorentino^{1,*}, Sara Bono¹, Anil Biricik¹, Andrea Nuccitelli¹, Ettore Cotroneo¹, Giuliano Cottone¹, Felix Kokocinski², Claude-Edouard Michel², Maria Giulia Minasi³, and Ermanno Greco³

- 192 embryons analysés, 38% euploïdes
- 63% de grossesses cliniques
- 1 seule fausse-couche



DEPISTAGE préimplantatoire

- **Visé à dépister les aneuploïdies (et aneusomies)** de l'embryon en analysant les 23 paires de chromosomes.
- **Les aneuploïdies:** variation du nombre de chromosomes
- **Les aneusomies:** grande perte/gain de matériel génétique (délétions ou duplications).

DIAGNOSTIC préimplantatoire

- **Eviter la transmission d'une maladie génétique**, dont les parents sont porteurs.
 - CFTR, X-fragile, anémie falciforme...
 - Translocation familiale



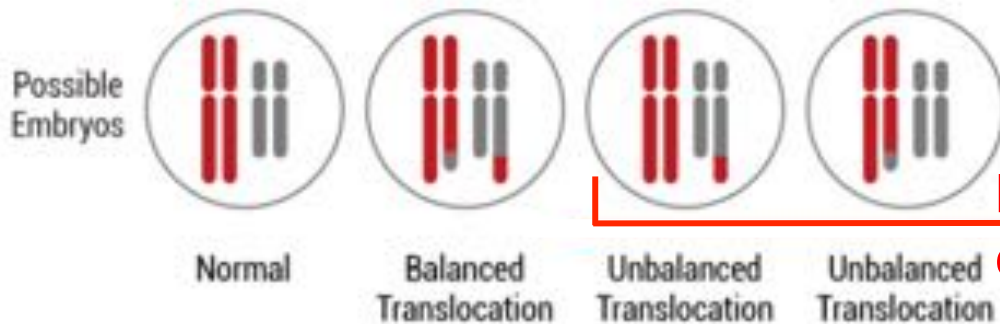
Diagnostic préimplantatoire: translocation familiale



Echange réciproque de 2 fragments entre 2 chromosomes: sans conséquence phénotypique (mais problème de fertilité).



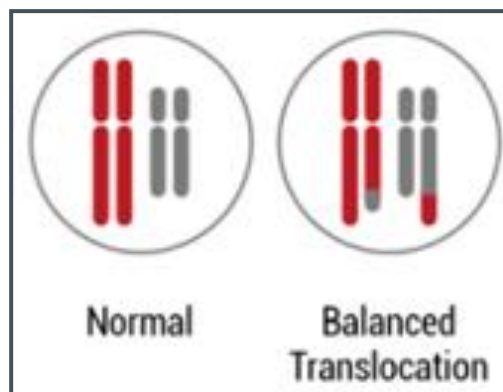
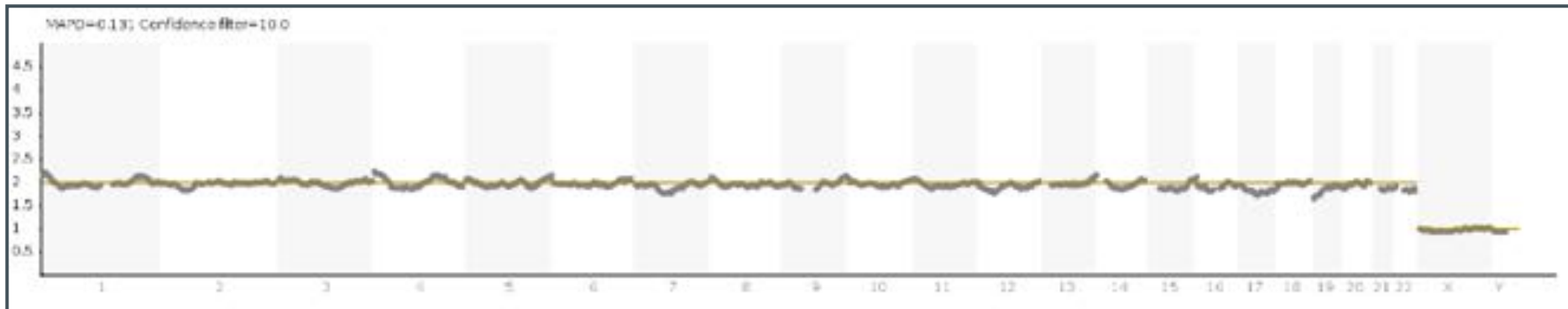
Gamète déséquilibrée



Embryon au génotype déséquilibré



Génotype balancé, équilibré



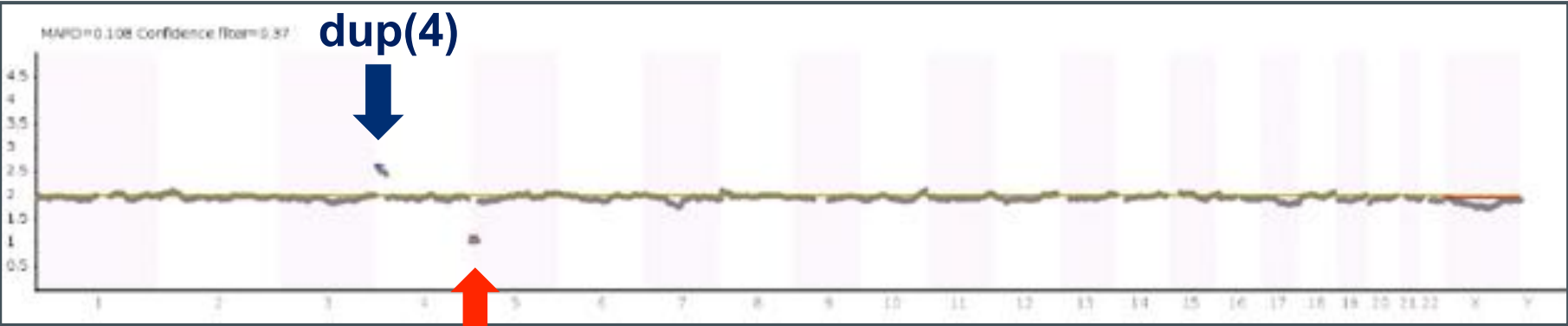
➔ **TRANSFERABLE**

Possible trouble de la fertilité
Risques pour la descendance

**Nous n'avons pas d'information sur la structure
(il ne s'agit pas d'un caryotype conventionnel)**



Génotype non balancé, déséquilibré



del(5)
(Cri-du-chat)



NON
TRANSFERABLE



Points importants

- Le dépistage préimplantatoire est une analyse optionnelle qui se fait dans le cadre d'un traitement FIV
 - Il est proposé uniquement aux patients qui doivent faire un cycle FIV (patients infertiles)
 - Il augmente les chances de grossesse par transfert et réduit les risques de fausse-couches
 - C'est un test de dépistage pas un diagnostic. Il ne remplace pas les test prénataux.
- Le diagnostic préimplantatoire s'adresse aux parents porteurs d'une maladie génétique
 - La mutation causant la maladie doit être connue
 - Seules les maladies graves peuvent être examinée



MERCI

Marco Belfiore

Frédéric Guerry

Charlotte Coat

Fanny Joly

Bernard Conrad

Graziano Pesca

Marta Cotado

Nadine Vincent

Laurent Farinelli

Daniel Wirthner

