

UNIVERSITE DE NANTES

FACULTE DE MEDECINE

Année : 2021

N° 2021-248

THESE

pour le

**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE
DES DE BIOLOGIE MEDICALE**

par

Martin ROSSELOT
né le 29/09/1989 à Chambray-les-Tours

Présentée et soutenue publiquement le 25 octobre 2021

**Chances de naissance vivante selon la structure de l'embryon
humain au stade 4 cellules : Comparaison de l'analyse
morphocinétique humaine avec une technique automatisée de
Machine Learning**

Président : Monsieur le Professeur Thomas FREOUR

Directeur de thèse : Madame le Docteur Sophie LOUBERSAC

TABLE DES MATIERES

I. INTRODUCTION	- 6 -
II. OBJECTIFS DE L'ETUDE	- 15 -
A. Objectif principale	- 15 -
B. Objectifs secondaires	- 15 -
III. MATERIEL ET METHODE	- 16 -
A. Protocole de l'étude	- 16 -
B. Bilan pré-FIV	- 17 -
C. Stimulation ovocytaire	- 17 -
D. Ponction et recueil folliculaire	- 17 -
E. Préparation du sperme	- 18 -
F. Mise en fécondation	- 18 -
G. Culture embryonnaire	- 19 -
H. Transfert embryonnaire	- 21 -
I. Suivi de grossesse.....	- 21 -
J. Recueil et analyse des données.....	- 21 -
K. Annotation de la configuration des blastomères au stade 4 cellules	- 22 -
L. Développement de l'intelligence artificielle.....	- 24 -
M. Analyse statistique.....	- 24 -
IV. RESULTATS	- 25 -
A. Inclusion.....	- 25 -
B. Caractéristiques épidémiologiques de la population d'étude	- 27 -
C. Transferts et issues de grossesse.....	- 29 -
D. Analyse morphologique de la qualité embryonnaire	- 31 -
E. Etude des caractéristiques morphocinétiques embryonnaires.....	- 33 -
F. Résultats préliminaires obtenus grâce au modèle d'IA	- 36 -
V. DISCUSSION	- 40 -
VI. CONCLUSION	- 50 -
VII. BIBLIOGRAPHIE	- 51 -
VIII. ANNEXES	- 56 -

LISTE DES SCHEMAS ET DES FIGURES

Schéma 1 : Schéma des différents plans du second clivage embryonnaire permettant d'aboutir à un embryon de 4 cellules avec une configuration tétraédrique ou non tétraédrique.

Schéma 2 : Schéma des différents types d'organisation spatiale des blastomères d'un embryon à 4 cellules avec les points de contact intercellulaires décrit par Liu et al. (1).

Schéma 3 : Schéma de l'élaboration d'un modèle de Machine learning visant à la reconnaissance d'images.

Schéma 4 : Schéma des différentes configurations spatiales des blastomères d'embryons au stade 4 cellules.

Figure 1 : Diagramme de flux : Embryons cultivés en incubateur time-lapse type EmbryoScope™ disponibles pour cette étude avant et après inclusion entre janvier 2018 et décembre 2019 au CHU de Nantes

Figure 2 : Caractéristiques épidémiologiques de la population étudiée entre janvier 2018 et décembre 2019 au CHU de Nantes.

Figure 3 : Caractéristiques des transferts embryonnaires et des issues de grossesses des embryons étudiés.

Figure 4 : Caractéristiques morphologiques et qualité embryonnaire au 5eme jour de culture des embryons étudiés.

Figure 5 : Cinétique du développement et score embryonnaire des embryons étudiés.

Figure 6 : Association entre le KidScore™ D5 v3 et le pourcentage d'embryons tétraédriques au stade 4 cellules.

Figure 7 : Tableau de contingence de la classification des embryons tétraédriques et non tétraédriques au stade 4 cellules du modèle d'intelligence artificielle et comparée à l'annotation humaine.

Figure 8 : Issues de grossesses des embryons étudiés et classés par le modèle d'intelligence artificielle.

Figure 9 : Détail des issues de grossesse des 12 embryons dont le modèle d'intelligence artificielle n'a pas été en mesure de déterminer la configuration spatiale au stade 4 cellules.

LISTE DES ABREVIATIONS

AMH : hormone anti-Müllérienne

AMP : assistance médicale à la procréation

AUC : aire sous la courbe

CCO : complexe cumulo-ovocytaire

CFA : compte de follicules antraux

FIV : fécondation in vitro

FSH : hormone folliculostimulante

IA : intelligence artificielle

ICSI : injection intra-cytoplasmique de spermatozoïde

ML : Machine learning

SHSO : syndrome d'hyperstimulation ovarienne

TEF : transfert embryonnaire frais

TEC : transfert d'embryon congelé

Tetra : embryon tétraédrique

nTetra : embryon non tétraédrique

I. INTRODUCTION

Depuis la première insémination artificielle intraconjugale en Ecosse au XVIIIe siècle, l'Assistance Médicale à la Procréation (AMP) a évolué au fil des révolutions culturelles et technologiques, jusqu'au développement de la fécondation in vitro (FIV) à partir des années 80. Les progrès de l'AMP depuis l'époque des pionniers ont concerné les traitements de stimulation ovarienne, mais également les techniques de laboratoire. On citera par exemple l'arrivée des premières injections intra-cytoplasmiques de spermatozoïde (ICSI) à Bruxelles en 1992, le développement de la culture embryonnaire prolongée ou encore le perfectionnement de la congélation embryonnaire grâce à la mise en place de la vitrification embryonnaire à la fin des années 2000.

Malgré ces avancées significatives, les taux de naissance en AMP restent perfectibles. Actuellement en France, 3% des enfants qui naissent sont issus des techniques d'AMP chaque année. Le taux de réussite des techniques d'AMP en France est en moyenne de 25% et on peut estimer que les couples auront, au cours de leur parcours d'AMP, 65% de chance d'aboutir leur projet parental (2).

Les pistes envisagées pour maximiser le taux de succès sont nombreuses. On peut notamment citer l'optimisation de la stimulation ovarienne, des conditions de culture embryonnaire et l'amélioration des méthodes d'évaluation de la qualité embryonnaire pour la sélection de l'embryon en vue du transfert intra-utérin.

Ces 20 dernières années, de très nombreux marqueurs de la qualité embryonnaire ont été explorés. Leur but est de prédire, au sein de la cohorte d'embryons d'un couple, l'embryon qui aurait le meilleur potentiel implantatoire, et à terme, les meilleures chances de naissance vivante. Une méta-analyse publiée en 2020 montre que le taux de naissance cumulé est identique lorsque la stratégie de transfert consiste à réaliser plusieurs transferts monoembryonnaires (frais ou congelés) ou si l'on préfère transférer plusieurs embryons à la fois (3). Néanmoins le transfert d'un embryon a l'intérêt de limiter le risque de grossesse gémellaire tout en maximisant les chances de naissance vivante. C'est la raison pour laquelle le transfert d'un unique embryon sélectionné sur des critères prédictifs de son potentiel d'implantation est la stratégie établie depuis plusieurs années dans de nombreux centres d'AMP à travers le monde

(3). Parmi ces marqueurs de la qualité embryonnaire, le pourcentage de fragments dans l'embryon (4,5), la multinucléation (6), les schémas de division cellulaire (7), la compaction, la formation du blastocyste et l'évaluation de sa qualité (8,9) ont été identifiés comme prédictifs du potentiel implantatoire. Les différents aspects de ce processus d'évaluation embryonnaire ont fait l'objet d'un consensus européen en 2011 (10). De nombreux paramètres y ont été décrits tels que le nombre de cellules et leur taille, le taux de fragmentation, la présence d'une multinucléation ou encore l'analyse morphologique du blastocyste (expansion, qualité du trophoctoderme et de la masse cellulaire interne) qui sont des critères clés de la sélection embryonnaire tant ils ont montré un impact sur le taux de naissance vivante (10).

Jusqu'à récemment, l'étude morphologique quotidienne des embryons en microscopie optique était le seul moyen d'évaluer le potentiel embryonnaire. Cette méthode impose de réduire au maximum la fréquence et la durée de l'observation des embryons pour éviter de rompre l'homéostasie des conditions de culture (11). Cette limite de l'observation microscopique est un enjeu majeur dans un contexte où la morphologie de l'embryon peut varier en seulement quelques heures (12). L'introduction d'outils sophistiqués tels que les incubateurs time-lapse dans les laboratoires d'AMP a donc été un élément essentiel de l'étude de l'embryon et a permis l'exploration de nouveaux critères de qualité embryonnaire par un suivi en continu de leur développement. De nombreux marqueurs cinétiques se sont avérés être de bon pronostic comme par exemple l'analyse des temps de clivage et le temps avant blastulation (tB) (13). En 2001, Lundin et al. publient une étude montrant qu'un premier clivage embryonnaire avant la 25^{ème} heure est un indicateur biologique fort du potentiel implantatoire et peut être utilisé comme un élément de sélection des embryons (14). A l'inverse, d'autres événements sont intéressants pour identifier les embryons de moins bon pronostic. Au cours du développement embryonnaire précoce, les divisions anormales, comme les clivages triples (15), les divisions trop rapides (16) ou les refusions cellulaires (17), sont évocateurs d'aneuploïdies et ont été reconnus comme facteurs de mauvais pronostic implantatoire.

Associer l'étude de ces éléments dynamiques avec l'étude morphologique statique de l'embryon est le principe de l'évaluation embryonnaire morphocinétique. En 2014, un

comité d'experts propose des recommandations sur l'évaluation de la qualité des embryons à l'aide de ces indicateurs morphocinétiques (18).

Cependant, l'augmentation constante du nombre des critères morphocinétiques à analyser dans l'évaluation de l'embryon a complexifié le travail des embryologistes. Un outil capable de réunir l'ensemble de ces paramètres dans un algorithme devenait donc essentiel afin d'augmenter les performances des laboratoires d'AMP, de réduire le temps nécessaire à l'analyse du développement embryonnaire et de diminuer l'influence de la variabilité inter et intra-opérateur de cette évaluation (19). Le KIDScore™ D5 (Vitrolife®) est un modèle prédictif d'implantation embryonnaire pour des blastocystes évalués au 5^{ème} jour de développement cultivés dans un incubateur équipé de la technologie time-lapse. Il se base sur une large population de données, provenant de plusieurs cliniques à travers le monde. La variabilité des populations, des techniques, des milieux et des pratiques cliniques dans les données utilisées permet au KIDScore™ D5 de proposer des prédictions applicables dans des contextes cliniques très différents. Il attribue un score à chaque embryon d'une même cohorte qui augmente avec les chances d'implantation. On sélectionne celui qui présente le score le plus élevé, et donc le potentiel implantatoire le plus élevé, pour le transfert embryonnaire (20). Si la formule mathématique de cet algorithme reste non divulguée par les fournisseurs, le KIDScore™ D5 en version 3 se base principalement sur la régularité des temps de clivage, la vitesse globale du développement embryonnaire (t2, t3, t4, t5, tB) et la qualité du blastocyste (21). Dans une étude publiée en 2019, Reignier et al. démontrent une forte corrélation positive entre les KIDScore™ D5 en versions 1 et 2 et les chances d'implantation (20). Une récente étude, publiée en 2021, a confirmé les performances du KIDScore™ D5 en version 3 pour prédire la naissance vivante en fonction de l'âge maternel (22). Ainsi, la dernière version du KIDScore™ D5 v3 montre une bonne corrélation positive avec le taux de naissance vivante pour toutes les classes d'âge mais avec de meilleures performances pour les patientes de plus de 35 ans.

L'avènement du suivi morphocinétique du développement embryonnaire a permis de mettre en évidence de nombreux critères pronostics. Cela a été déterminant dans l'amélioration des techniques de sélection embryonnaire. Certains de ces paramètres nécessitent encore une analyse complémentaire. Parmi eux, l'analyse de

l'arrangement spatial des blastomères jusqu'au stade 4 cellules a été décrit dans plusieurs études comme étant un marqueur pronostic pertinent pour la sélection embryonnaire.

Les premières recherches menées sur des modèles de souris décrivent, dès l'ovocyte, des marqueurs de polarisation, définissant un pôle « animal » et un pôle « végétal » (23,24). Si ces pôles ne sont pas identifiables morphologiquement, ils ont été décrits par une expression moléculaire différente. Par exemple la leptin et Stat3 (signal transducer and activator of transcription 3) sont observés au pôle « animal ». Ces marqueurs de polarité ont ensuite été retrouvés chez l'embryon humain (23–25) dans lequel le couple moléculaire leptin/Stat3 est présent en concentration élevée au pôle « animal » dans 1 blastomère au stade 4 cellules, dans 2 blastomères au stade 8 cellules et enfin dans le trophoctoderme uniquement (24). Cela souligne l'importance de l'orientation des plans de clivage lors des premières divisions embryonnaires. Ces dernières vont répartir différemment le cytoplasme de la cellule mère entre les cellules filles, y compris les molécules et les organites qu'il contient (24,26) et influencer l'arrangement spatial des blastomères. On définit alors comme « méridional » un plan de division le long des pôles et « équatorial » lorsque la division est perpendiculaire aux pôles (27–30).

Dans une étude, publiée en 2002 sur des embryons de souris, Gardner et al. injectent un colorant dans l'un des blastomères d'un embryon à 4 cellules (31). Ils observent que lorsque les blastomères ont une organisation spatiale en forme de tétraèdre (et donc que chaque blastomère a un contact cellulaire avec toutes ses cellules sœurs), le colorant reste cloisonné au blastomère injecté. A l'inverse, si l'embryon n'est pas de forme tétraédrique, le colorant se diffuse au sein des 3 cellules sœurs. Ces résultats suggèrent que les anomalies de clivage qui aboutissent à la formation d'un embryon non tétraédrique sont associées à des divisions cellulaires incomplètes. Ce type d'arrangement cellulaire particulier est caractérisé au second clivage par la succession de deux divisions méridionales ou équatoriales consécutives (32) (schéma 1).

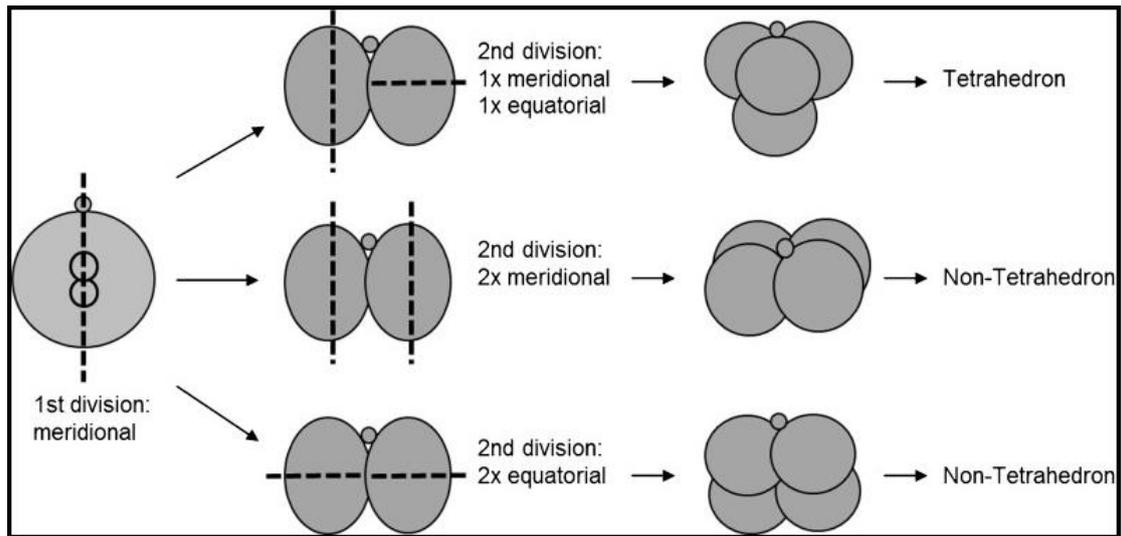


Schéma 1 : Schéma des différents plans du second clivage embryonnaire permettant d'aboutir à un embryon de 4 cellules avec une configuration tétraédrique ou non tétraédrique.

D'après Cauffman, G et al. "Developmental capacity and pregnancy rate of tetrahedral- versus non-tetrahedral-shaped 4-cell stage human embryos." *Journal of assisted reproduction and genetics* vol. 31,4 (2014): 427-34.

En 2015, Liu et al. révèlent l'importance des points de contact intercellulaires au stade 4 cellules sur l'embryon humain en utilisant l'imagerie time-lapse (1). Ils mettent en évidence que moins de six contacts cellulaires à la fin du stade 4 cellules (correspondant à la conformation non tétraédrique des blastomères) est associé à une altération du développement embryonnaire et du potentiel implantatoire de l'embryon (schéma 2).

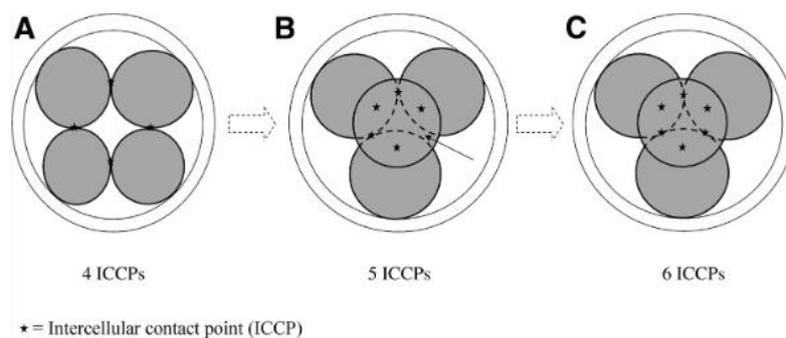


Schéma 2 : Schéma des différents types d'organisation spatiale des blastomères d'un embryon à 4 cellules avec les points de contact intercellulaires décrit par Liu et al. (1).

Images A et B : embryon non tétraédrique. Image C : embryon tétraédrique.

D'après Liu Y, Chapple V, Feenan K, Roberts P, Matson P. Clinical significance of intercellular contact at the four-cell stage of human embryos, and the use of abnormal cleavage patterns to identify embryos with low implantation potential: a time-lapse study. *Fertility and Sterility*. juin 2015;103(6):1485-1491.e1.

Cependant dès 2012, des études tendent à démontrer qu'une morphologie non tétraédrique est spécifiquement associée, à la fois à un pronostic implantatoire et des chances de grossesse diminués (31, 33–35). En 2017, Ebner et al, en utilisant la technologie time-lapse, comparent les caractéristiques morphocinétiques des embryons de forme tétraédrique et non tétraédrique. Il met en évidence significativement plus d'anomalies de clivage chez les embryons non tétraédriques ainsi que des temps de division plus longs. Il suggère que les embryons non tétraédriques sont de moins bon pronostic et devraient être sélectionnés en seconde ligne pour le transfert embryonnaire.

Des résultats concordants ont été publiés en 2019 sur plus de 700 embryons (36), retrouvant des différences significatives dans les cinétiques de division et la qualité au stade blastocyste entre les embryons tétraédriques et non tétraédriques. Néanmoins aucune différence n'a pu être mise en évidence concernant le taux d'implantation et le taux de naissances vivantes entre ces deux groupes.

Si la technologie time-lapse et l'évaluation morphocinétique ont été déterminantes dans l'étude de l'arrangement spatial des blastomères, cette évaluation reste soumise à la variabilité inter et intra-opérateur (19) et il est encore difficile d'apporter un niveau de preuve suffisant pour considérer la forme tétraédrique ou non de l'embryon à 4 cellules comme étant un critère de sélection embryonnaire.

Une solution pourrait être apportée par de nouveaux outils faisant leur apparition dans des domaines aussi variés que l'AMP : les systèmes d'intelligence artificielle (IA). Une intelligence artificielle consiste en un ensemble d'outils visant à rendre un système informatique capable d'imiter le raisonnement intellectuel humain. La machine (le système informatique) est alors capable « d'apprendre » par elle-même, contrairement à la programmation informatique classique où elle se contente d'exécuter des algorithmes prédéterminés. Par exemple, le KIDscore™, un des algorithmes utilisés en routine en AMP pour aider à la sélection embryonnaire, incorpore les informations annotées par les évaluateurs humains (les temps de division des blastomères, l'expansion du blastocyste, la qualité du trophoctoderme etc.) pour déduire un score prédictif de l'implantation au sein d'une cohorte d'embryons. Néanmoins, lors de sa conception, cet algorithme n'a pas été modélisé et entraîné à reconnaître par lui-même des schémas de répétition entre les embryons qui pourraient être utiles au pronostic

implantatoire, à la différence d'une IA. Plus concrètement, l'IA analyse de grandes bases de données pour découvrir des tendances, des associations (« patterns ») et effectuer des prédictions basées sur des modèles algorithmiques. C'est ce que l'on appelle le *Machine Learning* (ML).

Quel que soit le domaine dans lequel on l'utilise, l'élaboration d'un modèle d'IA passe toujours par 3 étapes clés : phase d'entraînement, phase de validation et enfin phase de test. Dans la première étape, le système va faire appel à de grandes quantités de données pour déterminer les éléments dont il a besoin pour arriver à prédire un évènement. A cette phase le système connaît déjà la réponse à sa prédiction, il cherche seulement à déterminer les éléments qu'ils ont en commun (les « patterns »). A chaque fois que le système arrive à la fin d'un cycle d'entraînement (déterminé par la quantité de données attribuées à cette phase), il passe à la seconde étape, la phase de validation. Ici, sur une petite quantité de données, il cherche à vérifier les prédictions du modèle précédemment établi. Si les résultats ne sont pas concluants, il recommence entièrement l'étape 1 sur la base de ce qu'il a déjà appris. Les cycles d'entraînement/validation se succèdent jusqu'à ce que les résultats soient satisfaisants. L'intérêt de cette phase de validation est aussi de prévenir le surentraînement : à force de répéter les cycles d'entraînement, le modèle peut mettre en évidence des caractéristiques qui ne sont présentes que sur les données de la phase d'entraînement. En proposant une faible quantité de données différentes à chaque cycle, on prévient cette dérive. Par exemple, si le but d'un modèle d'IA est de reconnaître un chat sur une image, on lui propose de s'entraîner sur des milliers d'images de chats. Le système en déduit alors la forme des pattes d'un chat, la queue, les moustaches, etc. Mais si, par hasard, une majorité de chats de la base d'entraînement sont roux, le système pourrait en déduire que la caractéristique « roux » est présente chez tous les chats. Les images proposées en phase de validation étant différentes à chaque cycle, le système prévient une telle dérive en indiquant au modèle que cette caractéristique n'est pas une constante intéressante (Schéma 2). De plus, à chaque nouveau cycle d'entraînement, les données subissent des modifications (dans le cas d'images, cela peut-être des rotations, zoom, recadrage, modification de la colorimétrie ou de la saturation, etc) permettant de mieux préparer le modèle aux conditions réelles d'utilisation. Une fois que des résultats concordants ont été observés, le modèle passe enfin à la dernière étape, la phase de

test. Ici, on propose à l'IA des données dont la prédiction n'est pas connue. On compare ensuite les résultats obtenus par rapport à un « gold standard » pour savoir si le système est efficace. C'est l'ultime étape qui permet de connaître les performances d'un système d'IA.

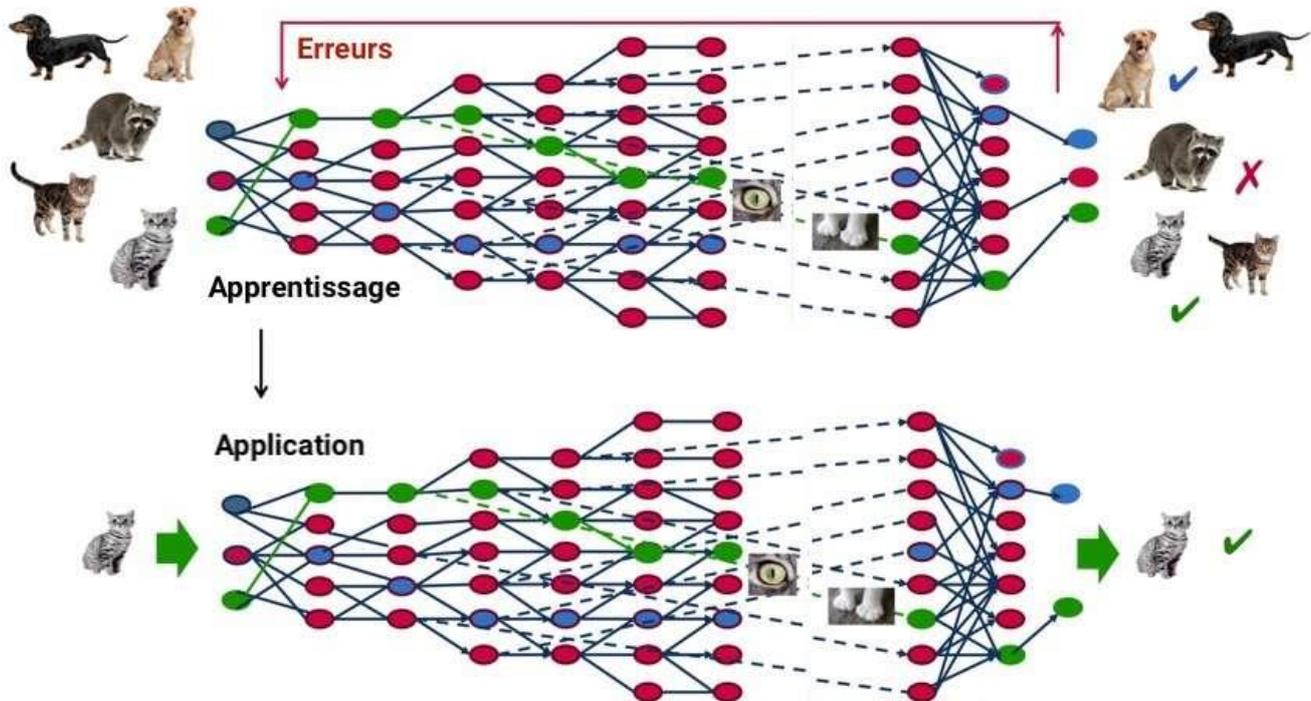


Schéma 3 : Schéma de l'élaboration d'un modèle de machine learning visant à la reconnaissance d'images.

La qualité des données utilisées dans la conception des IA est donc un élément essentiel. Elles doivent être suffisamment nombreuses, représentatives par rapport aux conditions réelles d'utilisation, les plus complètes possibles et elles ne doivent, à priori, pas présenter de biais important.

L'essor de l'IA est donc directement lié aux problématiques de gestion des grandes bases de données (« big data »). C'est donc tout naturellement que ces technologies se sont développées initialement dans les domaines du multimédia : moteurs de recherche internet, gestion des flux d'informations sur les réseaux sociaux, assistants numériques etc.

Mais les premières recherches dans le domaine de l'IA en AMP ne sont pas récentes : Kaufmann et al. (37) proposent dès 1997 un système d'IA adapté à l'AMP. Ce modèle simple ne prenait en compte que 4 variables pour prédire le taux de succès d'une prise

en charge en AMP : l'âge, le nombre d'ovocytes recueillis, le nombre d'embryons transférés et le nombre d'embryons congelés. Si les premiers résultats étaient limités (59% de précision dans cette étude), ces recherches ont permis d'ouvrir la voie à son utilisation dans ce domaine.

En AMP, ces technologies s'intègrent dans toutes les étapes de la prise en charge, comme par exemple dans l'évaluation automatisée du spermogramme (38,39), la personnalisation des protocoles de stimulation ovarienne (40) ou encore la détection des aneuploïdies embryonnaires (41).

Une des approches très plébiscitée actuellement consiste à les utiliser pour la sélection de l'embryon à transférer (42). Certaines de ces technologies vont utiliser l'imagerie time-lapse (43–45), d'autres se contentent d'une image fixe issue de l'observation microscopique (46). Cependant le principe de fonctionnement de ces outils de ML nécessite toujours de constituer de grandes bases de données pour entraîner les modèles. Plus la base est importante, plus le modèle est entraîné et plus il est performant dans sa prédiction.

Mais les performances des IA vont aussi dépendre des problématiques qui lui sont imposées. Ainsi, les événements survenant lors de l'analyse du développement précoce d'un embryon dans ses premières phases de division cellulaire (reconnaissance des cellules, organisation des cellules entre elles, différenciation cellule/fragments), sont très différents des événements survenant au stade de blastocyste (reconnaissance de la masse cellulaire interne et du trophoctoderme, stade d'expansion embryonnaire, etc).

Une récente étude multicentrique menée par Rish Hariharan (Imperial College London et Apricity) a pour objectif de développer un système d'intelligence artificielle capable d'analyser et de classer l'embryon au stade 4 cellules dans une répartition tétraédrique ou non tétraédrique de manière à pouvoir en comparer les résultats prédictifs par rapport à une évaluation humaine.

Dans cette étude nous essayons de déterminer l'intérêt pronostic de la répartition tétraédrique ou non tétraédrique des embryons au stade 4 cellules pour prédire le taux de naissance vivante après un transfert monoembryonnaire.

II. OBJECTIFS DE L'ETUDE

A. Objectif principale

- Déterminer si l'arrangement tétraédrique des blastomères d'un embryon au stade 4 cellules évalué à partir d'images issues d'un système time-lapse est un facteur de pronostic de la survenue d'une naissance vivante ?

B. Objectifs secondaires

- Comparer l'arrangement spatial de l'embryon au stade 4 cellules à l'évaluation morphocinétique au 5^{ème} jour de développement embryonnaire et au KIDScore™ D5 v3 comme outil pronostic de la naissance vivante.
- Peut-on utiliser un outil d'intelligence artificielle pour déterminer la configuration spatiale de l'embryon au stade 4 cellules en utilisant des images fixes et/ou des vidéos du time-lapse ?

III. MATERIEL ET METHODE

A. Protocole de l'étude

Dans cette étude rétrospective monocentrique observationnelle, nous avons inclus les patients ayant eu un cycle de ponction ovocytaire au CHU de Nantes entre le 1^{er} janvier 2018 et le 31 décembre 2019, avec au moins un transfert monoembryonnaire dont l'issue de la grossesse était connue. Toutes les cultures embryonnaires étaient réalisées dans un système time-lapse EmbryoScope™ (Embryoscope6™ et Embryoscope+™). Seuls les transferts monoembryonnaires de blastocystes au 5^{ème} ou 6^{ème} jour de développement ont été inclus dans cette étude. Ils étaient réalisés soit à l'état frais (TEF) soit après dévitrification (TEC).

Les transferts et congélations pratiqués au 4^{ème} jour de développement et les transferts de 2 embryons ou plus ont été exclus de cette étude.

Ont aussi été exclus tous les cycles de diagnostic préimplantatoire, les ovocytes obtenus après réchauffement ovocytaire, les embryons dont la culture n'a pas entièrement été réalisée dans notre centre (importation d'embryons), les cycles avec des gamètes de donneurs, les gamètes obtenus après prélèvement chirurgical. Les embryons dont le statut au stade 4 cellules était inconnu ont aussi été exclus (clivage multiple de blastomères, passant directement de 3 à 5 cellules).

Cette étude monocentrique a été réalisée en parallèle d'une étude plus large, multicentrique internationale et observationnelle, évaluant la conformation géométrique des embryons au stade 4 cellules grâce à l'utilisation d'un système d'intelligence artificielle sur des images statiques et des vidéos time-lapse. Les centres participants étaient les suivants : Kepler Universitätsklinikum (Australie), Fertilitat (Brésil), Reproferty (Brésil), Hewitt Fertility (Royaume-Uni), UZ Gent (Belgique), UZ Brussels (Belgique), Cornell (USA), CHU Nantes (France). La collecte, l'analyse et le développement de l'intelligence artificielle ont été réalisés par l'Imperial College de Londres et la société Apricity (France).

B. Bilan pré-FIV

Avant toute prise en charge les couples avaient bénéficié d'un bilan de fertilité explorant : la réserve ovarienne (dosage hormonaux avec AMH et CFA), la cavité utérine (échographie +/- hystérocopie), les paramètres spermatiques (spermogramme, spermocytogramme, spermoculture et test de migration-survie). Une analyse génétique était aussi réalisée si nécessaire.

C. Stimulation ovocytaire

La stimulation ovarienne consistait en l'administration, après désensibilisation hypophysaire, d'un traitement par gonadotrophines exogènes selon un protocole antagoniste ou agoniste en fonction des cas. La dose de départ était adaptée selon plusieurs critères tels que : l'âge de la patiente, l'IMC, le statut tabagique ou la réponse à une éventuelle stimulation antérieure. Celle-ci était ensuite adaptée à partir du 6^{ème} jour en fonction de la réponse ovarienne. Un monitoring hormonal et échographique étaient réalisés au cours du traitement. Lorsque les conditions étaient favorables, un déclenchement de l'ovulation était réalisé par Ovitrelle® (1 injection de 250 µg) et/ou par Décapeptyl® (2 injections de 0,1mg) selon les situations cliniques.

D. Ponction et recueil folliculaire

Une ponction ovocytaire par voie transvaginale, écho-guidée, était réalisée 36h après le déclenchement sous anesthésie locale ou générale. La recherche des complexes cumulo-ovocytaires (CCO) dans le liquide folliculaire était réalisée sous une loupe binoculaire sur platine chauffante. Les CCO étaient rincés et stockés en milieu tamponné préalablement chauffé G-MOPS™ (VitroLife®) et sous huile OVOIL™ (VitroLife®). Enfin, ils étaient de nouveau rincés puis stockés dans une boîte de culture contenant du G-IVF™ (VitroLife®) préalablement chauffé et gazé en incubateur à 37°C et sous 5% de CO₂.

E. Préparation du sperme

- Sperme frais

Le recueil du sperme a été réalisé au laboratoire par masturbation. Après liquéfaction à 37°C pendant 30min la sélection et la capacitation des spermatozoïdes mobiles progressifs se faisaient sur gradient bicouche (90% et 45%) SpermGrad™ (VitroLife®) puis par lavage en milieu SpermRinse™ (VitroLife®). Enfin, les gamètes étaient conservés en milieu G-IVF™ (VitroLife®) à 37°C en attente de la mise en fécondation.

- Sperme congelé

La dévitrification des paillettes de spermatozoïdes se faisait en incubateur à 37°C pendant 5min. Le prélèvement était ensuite dilué volume à volume dans du milieu SpermRinse™ (VitroLife®). La sélection et la capacitation des spermatozoïdes mobiles progressifs se faisaient sur gradient monocouche (45%) SpermGrad™ (VitroLife®) puis par lavage en milieu SpermRinse™ (VitroLife®). Enfin, les gamètes étaient conservés en milieu G-IVF™ (VitroLife®) à 37°C en attente de la mise en fécondation.

F. Mise en fécondation

Le choix de la technique de mise en fécondation se faisait sur la base du bilan clinique et biologique réalisé avant la tentative, sur les antécédents du couple dans notre centre et dans les centres extérieurs et selon les paramètres spermatiques le jour de la ponction.

- Fécondation in vitro classique (FIV)

Chaque complexe cumulo-ovocytaire (CCO) était inséminé avec 50 000 à 100 000 spermatozoïdes mobiles progressifs capacités. Ils étaient ensuite mis en incubateur à 37°C sous 5% de CO₂. A J1 (le lendemain de la mise en fécondation), les ovocytes étaient décoronés mécaniquement par pipetage puis ils étaient placés dans une boîte

de culture dédiée à la culture embryonnaire dans un Embryoscope™ en présence de milieu G-TL™ (VitroLife®).

- Injection intra-cytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI)

Les CCO étaient décoronés quelques heures après le recueil par action mécanique et enzymatique (hyaluronidase) (47). Dès J0, les ovocytes matures (en métaphase II) étaient micro-injectés (Leica AM6000™) dans une boîte de culture en milieu G-IVF™ (VitroLife®) sous huile OVOIL™ (VitroLife®) puis ils étaient placés dans une boîte de culture dédiée à la culture embryonnaire dans un Embryoscope™ en présence de milieu G-TL™ (VitroLife®).

G. Culture embryonnaire

Les embryons inclus dans cette étude étaient cultivés dans un incubateur trigaz équipé de la technologie time-lapse. Au CHU de Nantes, 3 incubateurs time-lapse de la marque VitroLife® sont utilisés : deux Embryoscope6™ et un Embryoscope+™.

Les systèmes time-lapse permettent le suivi en continu du développement embryonnaire par une prise d'images toutes les 10 minutes pour l'EmbryoScope+™ et toutes les 15 minutes pour les EmbryoScope6™, sur 7 plans focaux différents. Les images sont enregistrées et compilées en un film du développement embryonnaire de J0/J1 à J5/J6.

Suite à la fécondation, à partir du film du développement embryonnaire, des évaluateurs habilités, entraînés, et contrôlés vont évaluer, en binôme, les embryons sur le logiciel EmbryoViewer™ de l'EmbryoScope™ en annotant les différentes étapes du développement embryonnaire telles que : le nombre de pronucléi, le délai d'apparition de la première (t2), seconde (t3), troisième (t4), et quatrième (t5) division cellulaire (stade 5 cellules), le temps avant expansion complète du blastocyste, annoté sur la dernière image avant que le trophoctoderme ne comprime la zone pellucide (tB). Enfin la qualité du trophoctoderme et de la masse cellulaire interne était annotée en se basant sur les recommandations européennes de 2011 (8,10) et ainsi que les recommandations ESHRE de 2020 concernant les paramètres morphocinétiques (48).

Dans le cadre de notre étude, les embryons ont aussi été classés en 3 groupes, selon leur potentiel implantatoire, en fonction de leur qualité embryonnaire au 5^{ème} jour de développement (8). Pour les embryons dont la décision de transfert/congélation a été prise au 6^{ème} jour de développement, la morphologie au 5^{ème} jour de culture embryonnaire a été utilisée pour cette classification. Le trophoctoderme et la masse cellulaire interne sont évalués que lorsque le blastocyste a atteint un stade supérieur ou égal au stade B3 selon la classification de Garner (8) (Annexe 1). Si l'embryon avait atteint un stade de développement supérieur ou égal au stade B3, avec une masse cellulaire interne gradée A ou B et un trophoctoderme gradé A, l'embryon était classé dans le groupe « High quality ». Si l'embryon était de stade B1 ou B2, ou si un embryon de stade supérieur ou égal à B3 avait une masse cellulaire interne gradée A ou B avec un trophoctoderme gradé B, l'embryon était classé dans le groupe « Good quality ». Enfin, si la masse cellulaire interne était gradée C, l'embryon était classé en « Poor quality » quel que soit le stade de l'embryon ou la qualité du trophoctoderme. Dans ce dernier groupe, aucun embryon ne présentait un trophoctoderme gradé C (Annexe 1). Des contrôles de qualité interne mensuels permettent de mesurer la variabilité inter-opérateur dans l'évaluation et l'annotation du développement embryonnaire.

A l'issue du 5^{ème} jour de développement, tous les embryons inclus dans notre étude qui avaient atteint un stade de développement supérieur au stade B3, avaient bénéficié d'une évaluation par le calcul du KIDScore™. La version utilisée dans notre centre était le KIDScore™ D5 v3. Pour les embryons qui n'avaient pas bénéficié de cette version lors de l'évaluation initiale, le KIDScore™ a été réactualisé.

Dans cette étude, nous avons inclus des embryons qui ont bénéficié d'une culture embryonnaire prolongée de 5 ou 6 jours et à l'issue de laquelle les embryons ont été soit transférés à l'état frais (TEF), soit vitrifiés puis transférés après dévitrification (TEC).

Une congélation embryonnaire par vitrification (Technique VitroLife®, RapidVitBlast) était pratiquée pour les embryons surnuméraires (non transférés à l'état frais), ou pour la totalité des embryons (*freeze all*) quand la situation l'imposait. Un cycle de transfert d'embryons congelés (TEC) était alors programmé à distance.

H. Transfert embryonnaire

Un gynécologue expérimenté réalisait le transfert des embryons en écho-guidage, à l'aide d'un cathéter. Seuls les transferts monoembryonnaires ont été inclus dans cette étude. Une supplémentation de la phase lutéale grâce à de la progestérone était effectuée jusqu'à la réalisation du test de grossesse par Beta-hCG 11 jours après le transfert.

I. Suivi de grossesse

Un taux de Beta-hCG 11 jours après le transfert supérieur à 100 mUI/mL signalait une grossesse biologique évolutive. Une échographie précoce entre 6 et 7 semaines d'aménorrhée montrant la présence d'un embryon intra utérin avec une activité cardiaque témoignait d'une grossesse clinique. Le suivi s'arrêtait en cas de naissance vivante ou lors d'un arrêt de grossesse.

J. Recueil et analyse des données

Nous avons combiné deux bases de données avec d'un côté, sur la base du logiciel métier Medifirst®, les éléments démographiques et du suivi de grossesse, et de l'autre, sur la base des incubateurs Embryoscope™, l'ensemble des annotations du développement embryonnaire.

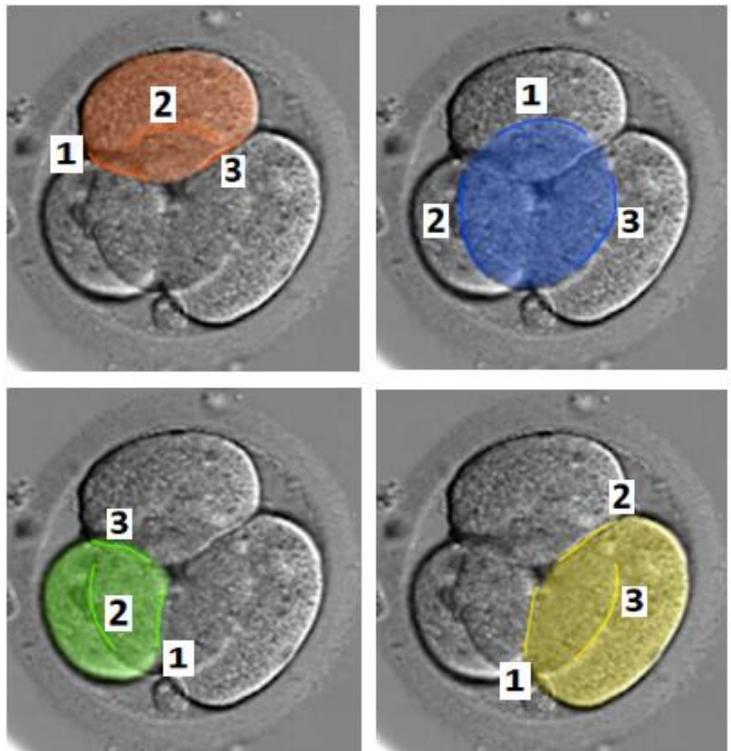
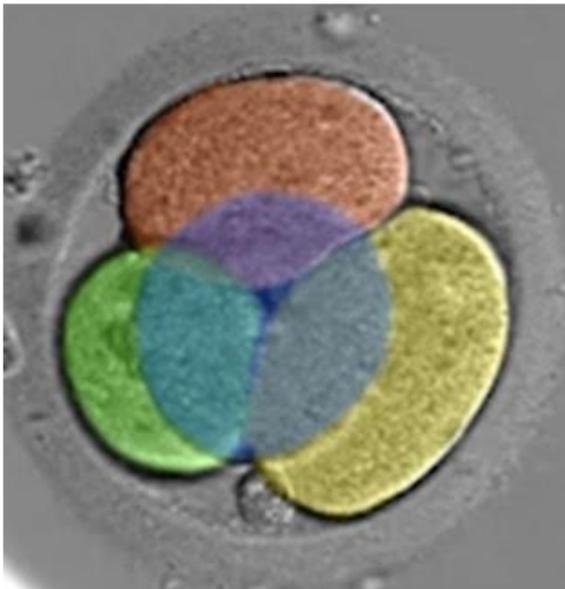
K. Annotation de la configuration des blastomères au stade 4 cellules

Les embryons étaient annotés de manière rétrospective au stade 4 cellules selon leur conformation spatiale sur les images de l'Embryoscope™ : si chacune des cellules avaient 3 contacts intercellulaires, l'embryon était annoté « tétraédrique ». Toute autre situation était considérée comme « non tétraédrique » (Schéma 3).

Cette analyse se faisait au point médian entre le stade 4 et 5 cellules, une fois la troisième division des blastomères terminée.

L'étude de la configuration des blastomères était réalisée par un opérateur, si celui-ci n'arrivait pas à déterminer la configuration tétraédrique ou non tétraédrique, un second opérateur intervenait. Lorsque la troisième et quatrième division était simultanée (passage d'un stade 3 à 5 cellules) ou lorsque le statut tétraédrique ou non tétraédrique était impossible à déterminer avec certitude malgré l'expertise du second opérateur du fait d'interférences analytiques (présence de fragments cellulaires par exemple), l'embryon était exclu de l'étude.

a. : Embryon tétraédrique



b. : Embryon non tétraédrique

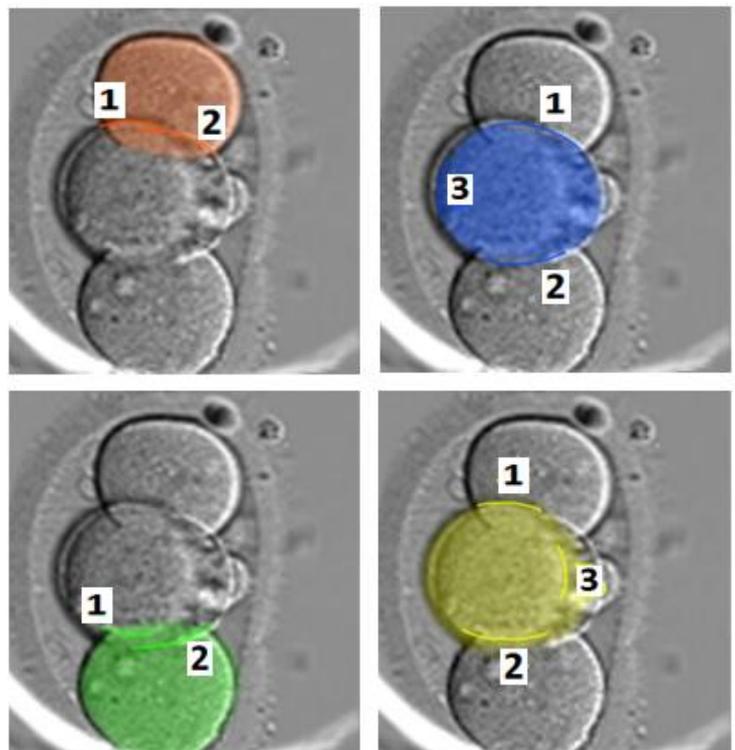
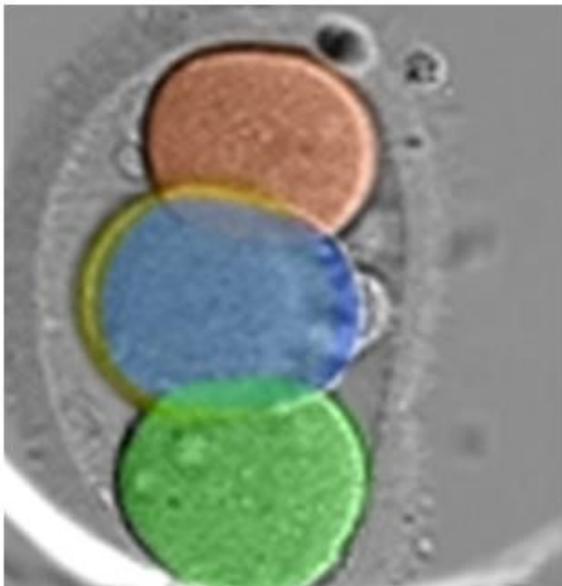


Schéma 4 : Schéma des différentes configurations spatiales des blastomères d'embryons au stade 4 cellules.

a. : Embryon tétraédrique, chaque cellule possède 1 jonction intercellulaire avec chacune de ses 3 cellules adjacentes. b. : Embryon non tétraédrique, seules les cellules jaune et bleue ont 3 jonctions intercellulaires, les cellules orange et verte en ont seulement 2.

L. Développement de l'intelligence artificielle

Une équipe, menée par Rish Hariharan (Imperial College London et Apricity) a travaillé au développement d'un système d'intelligence artificielle capable de déterminer, d'une manière autonome, la conformation spatiale de l'embryon au stade 4 cellules à partir des images issues des 9 centres d'AMP ayants participés. Les mêmes critères analytiques que ceux définis dans notre étude ont été utilisés pour qualifier les embryons au stade 4 cellules : si chacune des cellules avaient 3 contacts intercellulaires, l'embryon était annoté « tétraédrique ». Toute autre situation était considérée comme « non tétraédrique ». Dans le cas où le modèle d'IA n'arrivait pas à déterminer la configuration spatiale de l'embryon, celui-ci était annoté en « indéterminé ». L'algorithme d'IA utilisé dans cette étude était ResNet-50 neural network. Les images, annotées par les opérateurs des centres respectifs étaient le « gold standard ». Le détail des images utilisées pour le développement de cet algorithme n'a pas été publié à ce jour.

M. Analyse statistique

L'analyse des données statistiques a été réalisée grâce à l'outil informatique BiostatGV® (49). Le Chi² a été utilisé pour comparer les distributions des variables qualitatives entre les groupes. Un test de Student a été utilisé pour comparer les variables quantitatives. Une valeur de $p < 0.05$ était considérée comme statistiquement significative avec un intervalle de confiance à 95%. L'analyse de la corrélation entre le KIDScore™ D5 v3 et la répartition tétraédrique des blastomères au stade 4 cellules a été modélisée par régression univariée et le calcul du coefficient de corrélation. Un coefficient de corrélation compris entre 0.7 et 1 signalait une forte corrélation positive.

IV. RESULTATS

A. Inclusion

Entre le 1^{er} janvier 2018 et le 31 décembre 2019, 36 426 ovocytes ont été recueillis après un cycle de ponction ovocytaire. Parmi les ovocytes fécondés qui ont évolué vers le stade blastocyste et qui ont été transférés ou congelés au 5^{ème} ou 6^{ème} jour de développement, 237 ont été inclus dans notre étude. 161 couples, ayant bénéficié de 168 cycles de ponctions ovocytaires, permirent de recueillir les gamètes féminines et masculines. Au total, 114 transferts frais et 123 transferts d'embryons congelés ont été réalisés.

Parmi ces 237 embryons, l'évaluation de l'arrangement spatiale des blastomères au stade 4 cellules a permis de classer 154 embryons dans le groupe « tétraédrique » et 83 dans le groupe « non tétraédrique » (figure 1).

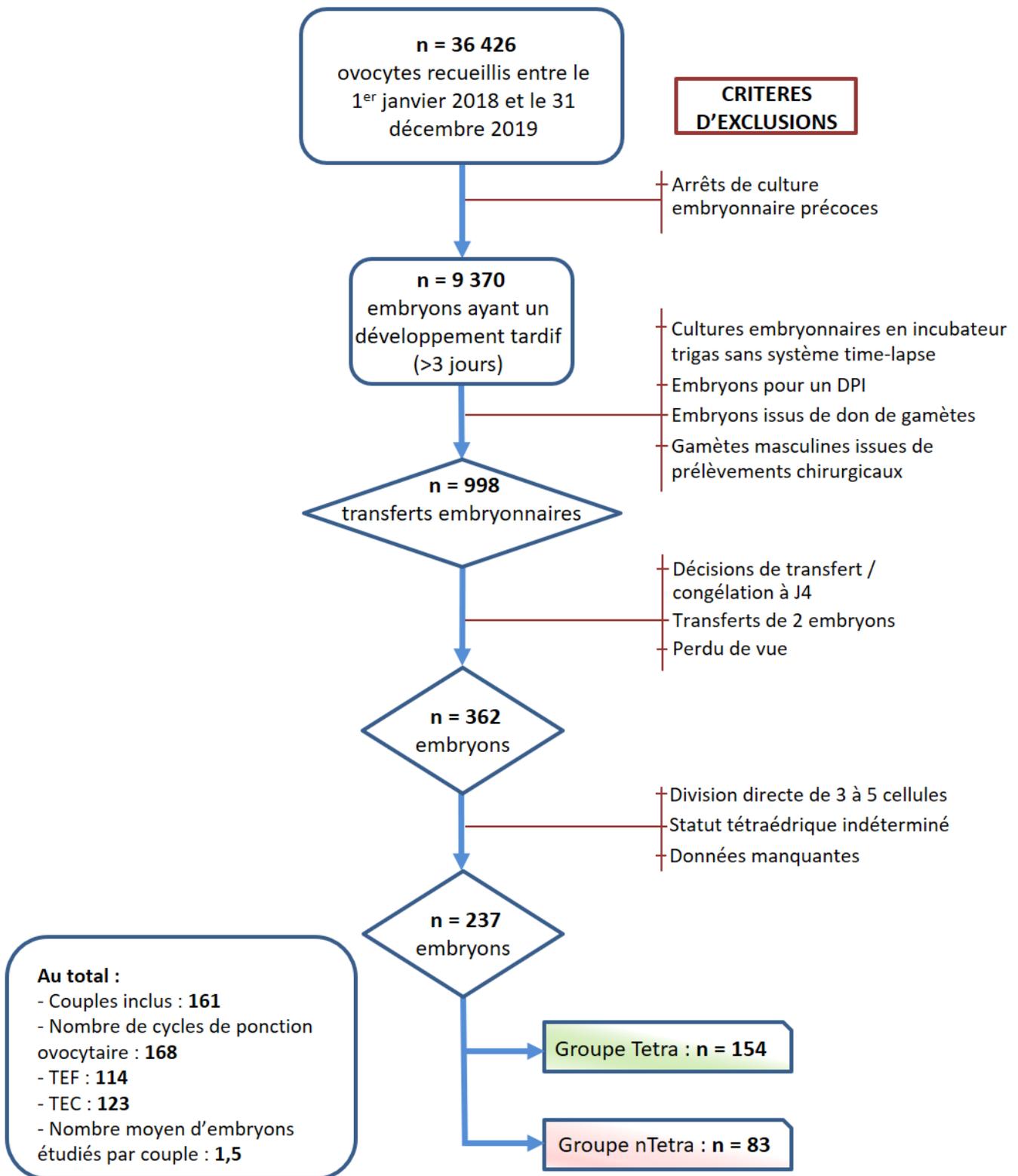


Figure 1 : Diagramme de flux : Embryons cultivés en incubateur time-lapse type EmbryoScope™ disponibles pour cette étude avant et après inclusion entre janvier 2018 et décembre 2019 au CHU de Nantes.

Tetra : embryons de forme tétraédrique au stade 4 cellules. nTetra : embryons non tétraédriques au stade 4 cellules. TEF : Transfert d'embryons frais. TEC : Transfert d'embryons congelés. DPI : Diagnostic pré-implantatoire. J4 : 4^{ème} jour de développement.

B. Caractéristiques épidémiologiques de la population d'étude

Les données épidémiologiques ont été comparées, pour chacun des couples inclus, en fonction du statut tétraédrique ou non tétraédrique du premier embryon transféré. Au total, 65% (105 couples) des couples étaient classés dans le groupe « tétraédrique » et 35% (56 couples) en « non tétraédrique ».

Aucune différence significative n'a été retrouvée entre les groupes concernant l'âge masculin et féminin des membres du couple, le pourcentage de fumeurs et de fumeuses ou le l'indice de masse corporel féminin. Les groupes étaient également comparables pour le type d'infertilité primaire ou secondaire ; l'origine féminine ou masculine de l'infertilité, le protocole de stimulation et la technique de mise en fécondation. Seul le nombre moyen d'ovocytes ponctionnés était significativement supérieur dans le groupe des embryons tétraédriques avec 10.3 ovocytes en moyenne contre 8.4 dans le groupe non tétraédrique (figure 2).



PERIODE D'ETUDE	2018-2019	Population totale	Tetra	nTetra	p
Embryons étudiés et transférés en premier par couple		161	105 (65%)	56 (35%)	
Age féminin (années)		33 ±5	33 ±5	34 ±4	NS
IMC maternel (kg/m ²)		25 ±5	25 ±6	25 ±5	NS
Fumeuse (nb)		21% (33)	19% (20)	23% (13)	NS
Age masculin (année)		37 ±7	36 ±7	37 ±6	NS
Fumeur (nb)		35% (56)	34% (36)	36% (20)	NS
Infertilité primaire (nb)		53% (86)	54% (57)	52% (29)	NS
Statut ovulatoire :					
Normal (nb)		32% (52)	30% (32)	36% (20)	NS
Dysovulatoire (nb)		68% (109)	70% (73)	64% (36)	
WHO II		91% (99)	90% (66)	92% (33)	
WHO III		9% (10)	10% (7)	8% (3)	
Origine des gamètes masculines					
Frais (nb)		92% (149)	91% (96)	96% (53)	NS
Congelé (nb)		8% (12)	9% (9)	4% (3)	
Statut spermatique :					
Normal (nb)		37% (59)	41% (43)	29% (16)	NS
OATS (nb)		63% (102)	59% (62)	71% (40)	
Protocole de stimulation :					
Antagoniste (%)		99% (159)	99% (104)	99% (55)	
Dose cumulée de FSH (UI)		2307 ±864	2246 ±790	2422 ±985	NS
Ovocyte ponctionné en moyenne (nb)		9,7 ±4,3	10,3 ±4,3	8,4 ±3,9	0,004*
Nombre de freeze all (nb)					
Risque SHSO (nb)		78% (21)	77% (17)	80% (4)	NS
Progesterone élevée (nb)		15% (4)	14% (3)	20% (1)	
autres (nb)		7% (2)	9% (2)	0	
Technique de mise en fécondation :					
ICSI (nb)		86% (138)	86% (90)	86% (48)	NS
FIV (nb)		14% (23)	14% (15)	14% (8)	

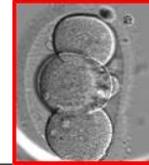
Figure 2 : Caractéristiques épidémiologiques de la population étudiée entre janvier 2018 et décembre 2019 au CHU de Nantes.

Chaque couple est classé dans le groupe « Tetra » ou « nTetra » en fonction de la configuration tétraédrique ou non tétraédrique du premier embryon transféré. La population totale représente l'ensemble des couples inclus dans cette étude. Les valeurs sont indiquées en moyenne avec l'écart type et, si indication différente, en nombre de cas et pourcentage. Troubles ovulatoires définis selon la classification de WHO (Annexe 2). SHSO : syndrome d'hyperstimulation ovarienne.

C. Transferts et issues de grossesse

Sur les 237 embryons transférés inclus dans notre étude, nous avons pu observer 66 naissances vivantes, soit un taux de naissance vivante par transfert de 28% (figure 3). Le nombre de naissances vivantes ainsi que le taux de naissance vivante par transfert (30% dans le groupe « tétraédrique » et 22% dans le groupe « non tétraédrique ») étaient comparables entre les deux groupes. De même, on ne constatait pas de différence significative dans le nombre de transferts frais et congelés réalisés entre les deux groupes

Dans environ 90% des cas, les embryons étaient transférés ou congelés au 5^{ème} jour du développement embryonnaire. Néanmoins cette décision était significativement plus souvent prise au 5^{ème} jour qu'au 6^{ème} jour de culture embryonnaire dans le groupe « tétraédrique » que dans le groupe « non tétraédrique » ($p < 0.05$).



PERIODE D'ETUDE 2018-2019 SUIVI EMBRYONNAIRE	Tetra	nTetra	p
Nombre d'embryons étudiés et transférés, n=237 (%)	154 (65%)	83 (35%)	
Issues de cycle			
Naissance vivante : n=66 (%)	47 (71%)	19 (29%)	NS
Grossesse Clinique : n=68 (%)	49 (72%)	19 (28%)	NS
Taux de naissance vivante par transfert	31%	23%	
<i>Transfert embryonnaire frais (nb)</i>	<i>26 (55%)</i>	<i>12 (63%)</i>	NS
<i>Transfert embryonnaire congelé (nb)</i>	<i>21 (45%)</i>	<i>7 (37%)</i>	NS
Type de transfert pour les embryons étudiés			
<i>Transferts embryonnaire frais (%)</i>	75 (49%)	39 (47%)	NS
<i>Transferts embryonnaire congelé (%)</i>	79 (51%)	44 (53%)	
Transfert/congelation à J5 (%)	144 (94%)	70 (84%)	0,023*
Transfert/congelation à J6 (%)	10 (6%)	13 (16%)	

Figure 3 : Caractéristiques des transferts embryonnaires et des issues de grossesses des embryons étudiés. Dans cette étude, tous les transferts réalisés étaient monoembryonnaires. « Tetra » correspond aux embryons dont la conformation spatiale au stade 4 cellules était de type tétraédrique. « nTetra » correspond aux embryons non tétraédriques au stade 4 cellules. Les valeurs sont indiquées en nombre de cas et pourcentage. J5 : 5^{ème} jour de développement, J6 : 6^{ème} jour de développement.

« p » * significatif si < 0,05.

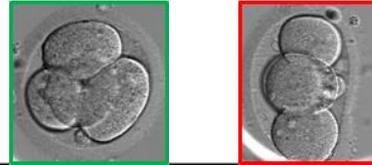
NS : non significatif.

D. Analyse morphologique de la qualité embryonnaire

L'analyse morphologique des embryons selon la classification de Gardner (7) a permis de classer les embryons tétraédriques et non tétraédriques en « High » (\geq B3; ICM A/B; TE A), « Good » (B1-B2 ou $>$ B3 ICM A/B, TE B) et « Poor » (ICM C, TE A/B) quality (Annexe 1).

Au total, on observait 128 embryons classés « High quality », 100 dans le groupe « Good quality » et 9 dans le groupe « Poor quality » (figure 4).

L'analyse comparative de la qualité embryonnaire selon s'ils appartenaient au groupe « tétraédrique » ou « non tétraédrique » a mis en évidence des différences significatives. Les embryons « High quality » étaient plus nombreux dans le groupe « tétraédriques », avec 91 embryons contre 37 dans le groupe « non tétraédriques » ($p < 0.05$). A l'inverse, on observait significativement plus d'embryons « Good quality » dans le groupe des « non tétraédriques » ($p < 0.05$).



PERIODE D'ETUDE 2018-2019 QUALITE EMBRYONNAIRE A J5	Tetra	nTetra	<i>p</i>
Nombre d'embryons étudiés et transférés, n=237 (%)	154 (65%)	83 (35%)	
High quality (\geq B3; ICM A/B; TE A)	91 (59%)	37 (44,5%)	0,032*
Good quality (B1-B2 ou $>$ B3 ICM A/B, TE B)	57 (37%)	43 (52%)	0,028*
Poor quality (ICM C, TE A/B)	6 (4%)	3 (3,5%)	NS

Figure 4 : Caractéristiques morphologiques et qualité embryonnaire au 5^{ème} jour du développement.

Pour les 23 embryons dont la décision de transfert/congélation a été prise au 6^{ème} jour de développement, leur morphologie au 5^{ème} jour a été utilisée pour cette classification.

Evaluation faite par deux embryologistes simultanément via le système time-lapse dans des incubateurs de culture EmbryoScope™. « Tetra » représente les embryons dont la conformation spatiale au stade 4 cellules était de type tétraédrique. « nTetra » représente les embryons non tétraédriques au stade 4 cellules. Les valeurs sont indiquées en nombre de cas et en pourcentage.

Selon la classification de Gardner : B1, B2 et $>$ B3 : Expansion du blastocyste, complète si supérieure à B3. A, B et C : Qualité du trophectoderme (TE) et de la masse cellulaire interne (ICM) (Annexe 1).

« p » * significatif si $<$ 0,05.

NS : non significatif

E. Etude des caractéristiques morphocinétiques embryonnaires

L'analyse des paramètres morphocinétiques du développement embryonnaire est représentée dans la figure 5. Aucune différence significative n'a pu être mise en évidence dans les délais entre la fécondation et l'apparition du second, troisième, quatrième et cinquième blastomère (t2, t3, t4, t5).

Le temps avant expansion complète du blastocyste, annoté sur la dernière image avant que le trophoctoderme ne comprime la zone pellucide (tB) a pu être analysé sur 208 embryons ayant atteint un stade supérieur à B3 (136 dans le groupe « tétraédriques » et 72 dans le groupe « non tétraédriques ») (Annexe 1).

La comparaison des moyennes des « tB » obtenus entre les 2 groupes a mis en évidence un délai significativement plus court dans le groupe des embryons « tétraédriques » (105.9 heures vs 108.9 heures).

Parmi ces 208 embryons, 183 avaient atteint leur expansion complète au 5^{ème} jour de développement et 25 embryons au 6^{ème} jour de développement.

L'analyse du KIDScore™ D5 v3 a donc été réalisée sur ces 183 embryons ayant atteint un stade supérieur à B3 à J5. Malgré le fait qu'aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les KIDScore™ D5 v3 des deux groupes, une forte corrélation positive ($r=0.97$) a été observée entre le KIDScore™ D5 v3 et l'arrangement tétraédrique des blastomères au stade 4 cellules ($p<0.05$) (figure 6).



PERIODE D'ETUDE 2018-2019 Modèle de clivage (minutes)	Tetra	nTetra	p
Nombre d'embryons étudiés, n=237 (%)	154 (65%)	83 (35%)	
t2	25,9 ±2,6	26,5 ±2,7	NS
t3	36,9 ±3,4	37,2 ±4	NS
t4	38,1 ±3,8	38,7 ±3,6	NS
t5	50 ±5,4	50,2 ±5,9	NS
tB (n=208)	105,9 ±8,6 (n=136)	108,9 ±9,5 (n=72)	0,024*
KIDScore™ D5 v3 (n=183)	7,5 ±1,3 (n=125)	7,2 ±1,5 (n=58)	NS

Figure 5 : Cinétique du développement et score embryonnaire des embryons étudiés.

Evaluation faite par deux embryologistes simultanément via le système timelapse des incubateurs de culture type EmbryoScope™. « Tetra » représente les embryons dont la conformation au stade 4 cellules était de type tétraédrique. « nTetra » représente les embryons non tétraédriques au stade 4 cellules. Les valeurs sont indiquées en moyenne avec l'écart type.

t2 : Temps avant la première division.

t3 : Temps avant la seconde division.

t4 : Temps avant la troisième division.

t5 : Temps avant la quatrième division.

tB : Temps avant expansion complète du blastocyste, annoté sur la dernière image avant que l'embryon ne commence à comprimer la zone pellucide.

KIDScore™ D5 v3 : Score calculé à au 5^{ème} jour de développement sur la base de 3 facteurs = la régularité des temps de clivage, la vitesse globale du développement embryonnaire et la qualité du blastocyste (Kato, K. et al. Comparing prediction of ongoing pregnancy and live birth outcomes in patients with advanced and younger maternal age patients using KIDScore™ day 5: a large-cohort retrospective study with single vitrified-warmed blastocyst transfer. *Reprod Biol Endocrinol* 19, 98, 2021)

« p » * significatif si < 0,05.

NS : non significatif.

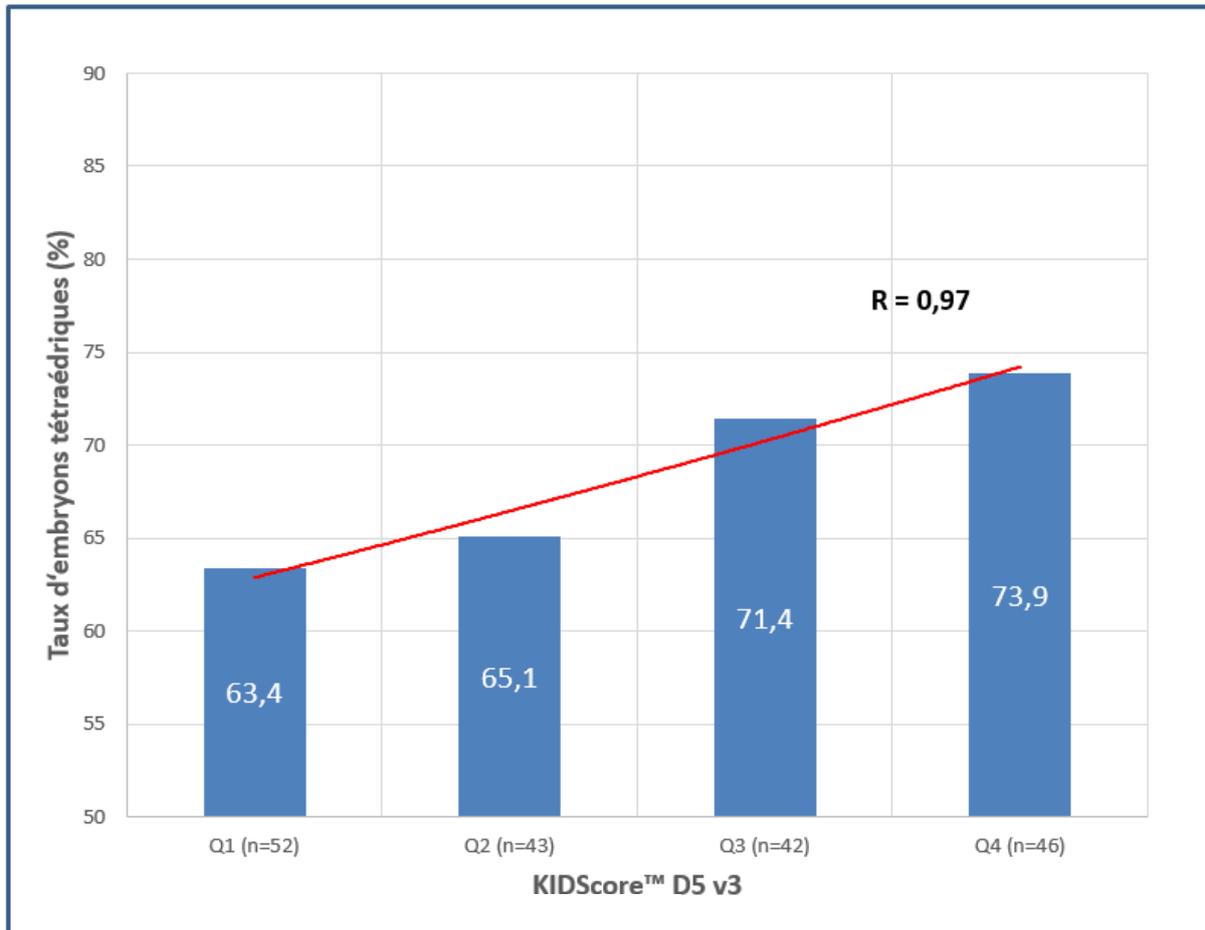


Figure 6 : Association entre le KIDScore™ D5 v3 et le pourcentage d'embryons tétraédriques au stade 4 cellules. (Courbe de régression linéaire, n=183).

KIDScore™ D5 v3 : Score calculé à J5 sur la base de 3 facteurs = la régularité des temps de clivage, la vitesse globale du développement embryonnaire et la qualité du blastocyste (Kato, K. et al. Comparing prediction of ongoing pregnancy and live birth outcomes in patients with advanced and younger maternal age patients using KIDScore™ day 5: a large-cohort retrospective study with single vitrified-warmed blastocyst transfer. *Reprod Biol Endocrinol* 19, 98, 2021)

Q1, Q2, Q3, Q4 : Répartition des quartiles des KIDScore™ D5 v3 pour les embryons étudiés (Q1 : <6.5, Q2 : 6.5-7.6, Q3 : 7.6-8.55, Q4 : > 8.55).

R = coefficient de corrélation. Entre 0,7 et 1 : forte corrélation positive, p=0,02.

F. Résultats préliminaires obtenus grâce au modèle d'IA

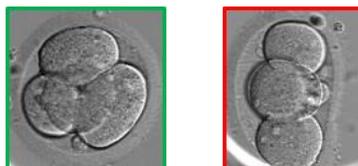
Au total, le modèle d'IA a classé avec succès 225 embryons (soit 95% des embryons inclus dans cette étude) en « tétraédriques » et « non tétraédriques ». L'IA n'a pas été en mesure de déterminer la répartition spatiale de 12 embryons au stade 4 cellules. Parmi ces 12 embryons, 11 étaient classés dans le groupe « non tétraédrique » et 1 dans le groupe « tétraédrique » en annotation manuelle (figure 9).

Les résultats obtenus sur les 225 embryons analysés par le modèle d'IA ont été comparés à l'évaluation humaine dans un tableau de contingence (figure 7). Les résultats étaient concordants entre les 2 méthodes d'annotation dans 87% des cas. Sur les 154 embryons classés comme « tétraédriques » en annotation manuelle, les résultats en IA étaient concordants pour 143 embryons et discordants pour 11 embryons. La sensibilité calculée du test était de 93%. Pour les embryons non tétraédriques, les résultats étaient concordants entre les 2 méthodes pour 53 embryons et discordants pour 18 embryons. La spécificité calculée était de 75%.

Sur les 225 embryons analysés en IA, 63 naissances vivantes ont été obtenues, 44 dans le groupe des embryons tétraédriques et 19 dans le groupe des embryons non tétraédriques. Aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre les groupes pour les naissances vivantes ni pour les grossesses cliniques (figure 8).

Sur ces 63 naissances vivantes, 5 résultats discordants ont été observés entre les 2 méthodes d'annotation. 4 embryons initialement classés dans le groupe « tétraédrique » en annotation manuelle, ont été classés dans le groupe « non tétraédrique » par le modèle d'IA. A l'inverse, 1 embryon évalué en « non tétraédrique » en annotation manuelle a été classé en « tétraédrique » par l'IA.

Enfin, parmi les 12 embryons dont la configuration spatiale n'a pas pu être déterminée avec certitude par le modèle d'IA, 3 embryons sont à l'origine d'une naissance vivante après transfert. Ces 3 embryons avaient été classés en « non tétraédriques » en annotation manuelle (figure 9).



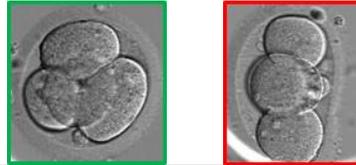
PERIODE D'ETUDE 2018-2019		Annotations humaines		
		Tetra n = 154	nTetra n = 71	
Annotations IA	Tetra IA n = 161	143	18	VPP = 89%
	nTetra IA n = 64	11	53	VPN = 83%
		Se = 93% Sp = 75%		

Figure 7 : Tableau de contingence de la classification des embryons tétraédriques et non tétraédriques au stade 4 cellules du modèle d'intelligence artificielle et comparée à l'annotation humaine.

225 embryons ont été classés avec succès en « tétraédriques » et « non tétraédriques » au stade 4 cellules par le modèle d'IA. « Tetra » et « nTetra » correspondent respectivement aux embryons dont la conformation spatiale au stade 4 cellules était de type tétraédrique et non-tétraédrique par l'analyse humaine. « Tetra IA » et « nTetra IA » correspondent respectivement aux embryons dont la conformation spatiale au stade 4 cellules était de type tétraédrique et non-tétraédrique par l'analyse du modèle d'intelligence artificielle.

Se : Sensibilité, Sp : spécificité, VPP : valeur prédictive positive, VPN : valeur prédictive négative.

Précision totale : 87%



PERIODE D'ETUDE 2018-2019 ISSUES DE CYCLE (Classification IA)	Tetra IA	nTetra IA	<i>p</i>
Nombre d'embryons classés par l'IA et transférés, n=225 (%)	161 (72%)	64 (28%)	
Naissance vivante : n=63 (%)	44 (70%)	19 (30%)	NS
Grossesse clinique : n=65 (%)	46 (71%)	19 (29%)	NS

Figure 8 : Issues de grossesses des embryons étudiés et classés par le modèle d'intelligence artificielle.

Tous les transferts étaient monoembryonnaires. « Tetra IA » et « nTetra IA » correspondent respectivement aux embryons dont la conformation spatiale au stade 4 cellules était de type tétraédrique et non-tétraédrique par l'analyse du modèle d'intelligence artificielle.

« p » * significatif si < 0,05.

NS : non significatif.

PERIODE D'ETUDE 2018-2019 13 embryons non classés par le modèle d'IA	Classification IA	Classification humaine	Naissance vivante
Embryon N°1	Indéterminé	Tétraédrique	<i>Non</i>
Embryon N°2	Indéterminé	Non tétraédrique	<i>oui</i>
Embryon N°3	Indéterminé	Non tétraédrique	<i>oui</i>
Embryon N°4	Indéterminé	Non tétraédrique	<i>oui</i>
Embryon N°5	Indéterminé	Non tétraédrique	<i>Non</i>
Embryon N°6	Indéterminé	Non tétraédrique	<i>Non</i>
Embryon N°7	Indéterminé	Non tétraédrique	<i>Non</i>
Embryon N°8	Indéterminé	Non tétraédrique	<i>Non</i>
Embryon N°9	Indéterminé	Non tétraédrique	<i>Non</i>
Embryon N°10	Indéterminé	Non tétraédrique	<i>Non</i>
Embryon N°11	Indéterminé	Non tétraédrique	<i>Non</i>
Embryon N°12	Indéterminé	Non tétraédrique	<i>Non</i>

Figure 9 : Détail des issues de grossesse des 12 embryons dont le modèle d'intelligence artificielle n'a pas été en mesure de déterminer la configuration spatiale au stade 4 cellules.

Sur ces 12 embryons non classés par le modèle d'IA : 3 naissances vivantes ont été observées pour des embryons étudiés comme étant non tétraédriques au stade 4 cellules par l'évaluation humaine. 1 embryon classé comme étant tétraédrique au stade 4 cellule par l'évaluation humaine et qui n'a pas donné de naissance vivante après transfert.

V. DISCUSSION

Le but de cette étude était d'évaluer le potentiel implantatoire et le taux de naissance vivante pour les embryons dont l'organisation spatiale des blastomères était tétraédrique et non tétraédrique au stade 4 cellules. Elle est la seule, à notre connaissance, proposant d'utiliser la technologie time-lapse pour analyser les embryons tétraédriques et non tétraédriques et permettant un suivi du taux de naissance vivante après un transfert monoembryonnaire. Elle est aussi la seule à comparer l'organisation spatiale des embryons au stade 4 cellules par rapport au KidScore™ D5 v3 pour évaluer le pronostic implantatoire. L'originalité supplémentaire de cette étude a été de comparer les résultats obtenus par l'évaluation « humaine » de la forme de l'embryon à 4 cellules à une analyse faite par un outil d'intelligence artificielle.

Au cours de cette étude, aucune différence significative n'a pu être mise en évidence concernant le taux de naissance vivante et le taux de grossesse clinique entre les groupes des embryons tétraédriques et non tétraédriques. En conséquence, l'organisation spatiale des blastomères au sein d'un embryon au stade 4 cellules ne semble pas être un facteur prédictif de la naissance vivante. Ce résultat est concordant par rapport à la littérature. En 2014, Cauffman et al. (32) ont observé 3534 embryons au stade clivé (3^{ème} jour de développement) et 1418 au 5^{ème} jour de développement. Chacun de ces embryons avaient été classés en « tétraédrique » ou « non tétraédrique » au stade 4 cellules. Aucune différence n'a été constatée sur le taux de naissance vivante ou le taux d'implantation entre les 2 groupes, à la fois pour les embryons transférés au 3^{ème} et au 5^{ème} jour de développement.

En 2014, Paternot et al. montrent, à l'inverse, que les embryons tétraédriques ont un meilleur potentiel implantatoire que les embryons non tétraédriques (50). Néanmoins, cette évaluation était réalisée sur une unique observation au microscope au 3^{ème} jour de développement (jour du transfert embryonnaire) ce qui limite les informations disponibles pour chaque embryon. De plus, dans l'étude de Paternot et al., un outil informatique analysait 26 images par embryon pour déterminer les chances implantatoires (FertiMorph computer system™) et permettait de sélectionner l'embryon à transférer. Cet outil avait été précédemment décrit par les même auteurs comme étant intéressant pour l'évaluation de la qualité des embryons précoces (au

3^{ème} jour de développement) par rapport à l'évaluation morphologique simple (51). L'utilisation d'une méthode d'assistance par ordinateur pour l'analyse des embryons à transférer rend les résultats de cette étude difficilement comparables à la nôtre puisque nous utilisons l'évaluation morphocinétique humaine pour déterminer l'embryon à transférer. Cependant, dans l'étude de Paternot et al., les embryons tétraédriques étaient associés à un meilleur pronostic implantatoire (38% versus 21%; $p=0.038$) et à un meilleur taux de naissance vivante (33% versus 16%; $p=0.032$), soulignant ainsi l'intérêt d'évaluer l'organisation spatiale des embryons à 4 cellules, au moins pour les embryons transférés au stade précoce (J3).

Si notre étude ne permet pas de conclure quant au facteur prédictif de la naissance vivante des embryons tétraédriques, nous avons montré que ceux-ci étaient corrélés avec plusieurs marqueurs de bon pronostic implantatoire, eux-mêmes retrouvés dans la littérature.

Ainsi, Il est intéressant de constater que dans notre étude les embryons tétraédriques au stade 4 cellules sont significativement plus souvent à l'origine d'embryons de bonne qualité morphologique que les embryons non tétraédriques (figure 4). De plus, l'analyse morphocinétique de l'embryon révèle que le « tB » est en moyenne plus court dans le groupe des embryons tétraédriques. Ce résultat est intéressant car plusieurs études décrivent un « tB » court comme étant un élément pronostic important pour l'obtention d'un blastocyste de bonne qualité et pour un meilleur taux d'implantation (52–54).

Des résultats similaires ont été constatés dans la littérature. En 2014, Cauffman et al. (32) observaient significativement plus d'embryons de bonne qualité morphologique au 3^{ème} et au 5^{ème} jour de développement dans le groupe « tétraédrique » (64.5% versus 53.6% des embryons à J3, $p<0.001$ et 19.4% versus 13.7% des embryons à J5, $p=0.036$) et plus d'embryons de qualité intermédiaire ou faible dans le groupe « non tétraédrique » (7.9% versus 17.1% des embryons à J3, $p<0.001$ et 45.2% versus 55.7% des embryons à J5, $p=0.036$). Enfin, le taux de blastulation des embryons tétraédriques était significativement supérieur aux non tétraédriques (70.8% versus 62.4%, $p=0.009$).

En 2017, Ebner et al. utilisent la technologie time-lapse pour analyser et classer les embryons au stade 4 cellules comme étant tétraédriques ou non tétraédriques (35). Au total, 586 embryons ont été analysés dans cette étude, réunissant plus de 10000

images d'embryons grâce au système time-lapse développé par Miri®. De nombreux paramètres morphocinétiques ont été étudiés mais au final seuls les t2, t3, t4 et t8 étaient significativement plus longs dans le groupe des embryons non-tétraédriques. Le « tB » était identique entre les deux groupes ce qui est en désaccord par rapport à nos résultats. Cette différence pourrait s'expliquer par le fait que l'annotation des paramètres morphocinétiques a pour inconvénient d'être opérateur dépendant (55). Pour pallier à ce problème, des contrôles de qualité mensuels sont organisés au sein de notre laboratoire et les annotations s'effectuent par deux biologistes expérimentés simultanément. Ces contrôles de qualité révèlent une bonne reproductibilité des opérateurs sur les temps de division t2, t3, t4 et t5, mais les résultats sont insatisfaisants sur le « tB » (variabilité inter-opérateur > ±2 images soit ±20-30min) ce qui constitue un biais important. Enfin, Ebner et al. ne font pas l'analyse du taux d'implantation ni du taux de naissance vivante car tous les embryons n'ont pas été transférés ce qui ne permet pas de conclure quant au potentiel implantatoire des embryons tétraédriques et non tétraédriques.

Dans une publication plus récente, publiée en 2019, Desai et al. proposent d'étudier la répartition spatiale tétraédrique ou non tétraédrique de plus de 700 embryons au stade 4 cellules en vidéo time-lapse (36). Ils observent des résultats similaires à l'équipe de Ebner et aux nôtres puisque la plupart des marqueurs morphocinétiques observables, et de bon pronostic implantatoire, sont plus souvent retrouvés dans le groupe des embryons tétraédriques. De plus, le taux de blastulation était supérieur pour les embryons tétraédriques et ils formaient des blastocystes de meilleure qualité morphologique. Cependant, comme dans l'étude de Ebner et al., le taux d'implantation et le taux de naissance vivante n'ont pas été évalués. Notre étude constitue donc une avancée majeure dans l'analyse du pronostic implantatoire des embryons tétraédriques et non tétraédriques en proposant une analyse time-lapse d'embryons transférés en monoembryonnaire et dont l'issue de grossesse était connue.

Enfin, l'inclusion dans notre étude d'embryons transférés uniquement au 5^{ème} ou 6^{ème} jour de développement a permis de comparer l'organisation spatiale des embryons tétraédriques et non tétraédriques au KIDScore™ D5 v3. On observe ainsi que, si le KIDScore™ D5 v3 est identique en moyenne entre les 2 groupes, il existe une forte corrélation positive entre le nombre d'embryons tétraédriques et la valeur du KIDScore™ D5 v3. Si le KIDScore™ D5 v3 a déjà été décrit dans la littérature comme

étant un marqueur pronostic des chances d'implantation (22), la corrélation du KIDScore™ D5 v3 n'a jamais été étudiée auparavant.

Si le lien prédictif entre la naissance vivante et un embryon tétraédrique au stade 4 cellules n'a pu être établi dans cette étude, la corrélation mise en évidence entre les embryons tétraédriques et des éléments pronostics de l'implantation déjà décrits dans la littérature tels que la morphologie embryonnaire (10), le « tB » (52–54) ou encore le KIDScore™ D5 v3 (22) laisse supposer qu'une étude de plus grande ampleur avec l'inclusion d'un plus grand nombre d'embryons pourrait permettre de statuer sur le pronostic implantatoire des embryons tétraédriques et non tétraédriques.

Enfin, une récente revue de la littérature publiée en 2021 par Ribeiro Hentschke et al. (56) conclue que la disposition spatiale des blastomères au stade 4 cellules peut jouer un rôle majeur dans le développement de l'embryon. Les auteurs suggèrent d'apprécier la configuration tétraédrique ou non de l'embryon pour en tenir compte lors du choix de l'embryon à transférer. Ils soulignent aussi que l'utilisation de la technologie time-lapse est particulièrement importante dans cette analyse du fait des difficultés d'évaluation qu'elle soulève, ce qui est concordant par rapport aux travaux de Liu et al. (1).

Ces résultats concordent avec les recommandations publiées en 2014 sur l'évaluation morphocinétique de la qualité embryonnaire qui préconisaient d'annoter en « tPA » (*Time of planar blastomere arrangement*) les embryons dont la répartition spatiale est non tétraédrique comme étant un élément de mauvais pronostic implantatoire. Néanmoins, l'annotation du « tPA » a été retirée des recommandations sur le time-lapse publiées à l'ESHRE de 2020 (48). Cela peut en partie être expliqué par les différences de protocole des études publiées sur le sujet ainsi que la forte variabilité inter et intra individuelle de cette analyse (57) ce qui limite le niveau de preuve. Notre présente étude constitue donc une avancée supplémentaire dans ce domaine. Il serait aussi intéressant d'évaluer le pronostic implantatoire des embryons via un score combiné, proposant d'associer à la fois l'organisation spatiale des blastomères au stade 4 cellules à d'autres outils morphocinétiques tels que le KIDScore™ D5 v3.

Dans notre étude, la population d'inclusion était homogène entre les deux groupes. De plus, les données épidémiologiques des couples inclus sont concordantes par rapport

à la population prise en charge en AMP en France en 2019 (2) en terme d'âge maternel et paternel ou encore du type d'infertilité féminine et masculine. La technique de mise en fécondation était majoritairement de type ICSI (injection intra-cytoplasmique de spermatozoïde) avec moins de 15% de FIV ce qui ne correspond pas aux résultats annuels observés dans notre centre (approximativement 50% de FIV et 50% d'ICSI). Ce biais peut être expliqué par la sélection d'embryons uniquement cultivés en time-lapse. En effet, une mise en fécondation par technique ICSI permet d'insérer les ovocytes injectés dès J0 dans le système time-lapse, contrairement aux ovocytes mis en fécondation par FIV qui ne peuvent être insérés qu'à partir de J1. Puisque le nombre total de place est limité dans le système time-lapse, la priorité est donnée aux ICSI lorsque les places manquent car celles-ci sont insérées en premières. Ceci constitue un biais dans notre recrutement. Néanmoins, les résultats des cultures embryonnaires après FIV ou ICSI en terme de taux de fécondation ou de taux de blastulation ainsi que les chances de naissance vivante par transfert sont très proches entre les deux techniques dans notre centre. De plus, les groupes « tétraédrique » et « non tétraédrique » étaient comparables entre eux dans la technique de mise en fécondation. L'impact de ce biais est donc a priori faible concernant le critère de jugement principal de cette étude.

Cependant, cette étude ne prend pas en compte le rang de tentative en AMP au moment de l'inclusion des patients. Cela peut représenter un biais important puisque les chances de réussite par tentative pour chaque couple ne sont pas comparables. Ainsi, un couple ayant été exposé à de multiples transferts embryonnaires par le passé sans obtenir de naissance vivante aura un moins bon pronostic qu'un couple au moment de sa première tentative.

Dans notre période d'inclusion, 33% des couples ont eu plus d'1 transfert embryonnaire (certains couples ayant bénéficié de 3 voire 4 transferts) soit 1.5 embryons transférés en moyenne par couple. Si la répartition de ces couples dans chaque groupe semble homogène, il est difficile de définir le pronostic de chacun de ces couples. En effet, pour certains d'entre eux, la cohorte des embryons transférés par couple n'était pas systématiquement homogène (tous tétraédriques ou tous non tétraédriques). Classer les couples dans le groupe « tétraédrique » ou « non tétraédrique » uniquement en fonction du premier embryon transféré représente donc un biais évident. Néanmoins, parmi les 53 couples ayant eu plus de 1 transfert

embryonnaire, seuls 14 dans le groupe « tétraédrique » et 12 dans le groupe « non tétraédrique » présentaient une discordance entre les différents embryons transférés. Enfin, 7 couples ont eu 2 cycles de ponction ovocytaire lors de notre période d'inclusion. Ces 7 couples présentent donc un pronostic défavorable par rapport aux autres puisque les transferts issus de leur première tentative n'ont pas permis d'obtenir de naissance vivante.

Une méthode d'analyse alternative des couples inclus dans notre étude était de pondérer chaque couple dans chaque groupe en fonction du nombre d'embryons qu'il représente. Néanmoins, cela aurait eu pour conséquence de surreprésenter certains couples, ce qui pourrait constituer une dérive épidémiologique.

Concernant l'analyse du KIDScore™ D5 v3, il est important de noter que nous avons exclu tous les embryons au stade B3 et inférieurs (annexe 1) au cours de cette analyse de manière à pouvoir comparer l'organisation spatiale des embryons au stade 4 cellules à un KIDScore™ D5 v3 possédant toutes les informations nécessaires à son calcul. Le KIDScore™ D5 v3 est en mesure de calculer un score dès le stade blastocyste (quel que soit son expansion), cependant, pour les embryons au stade B3 ou inférieur qui n'ont pas atteint une expansion complète, on ne peut pas caractériser le « tB » (annoté sur la dernière image avant que le trophoctoderme ne comprime la zone pellucide). L'absence de cette donnée dans le calcul du KIDScore™ D5 v3 impacte très fortement le résultat du score et il est difficile d'en comparer le résultat avec celui obtenu sur les embryons en expansion complète. Cependant, les auteurs soulignent que ce choix n'a pas été documenté dans la littérature et pourrait donc constituer un biais de sélection important pour cette analyse.

Enfin, lorsque l'on s'intéresse à la classification et à la répartition des embryons tétraédriques et non tétraédriques, on peut constater que, au total, 65% des embryons avaient une répartition tétraédrique. De tels résultats ne sont pas retrouvés systématiquement dans la littérature. Ainsi dans l'étude de Cauffman et al. publiée en 2014 (32), près de 80% des embryons au 3^{ème} et au 5^{ème} jour de développement étaient tétraédriques. Ces résultats ont été également observés dans l'étude publiée par Paternot et al. en 2014 (50) avec plus de 80% des embryons tétraédriques au 3^{ème} et au 5^{ème} jour de développement. Néanmoins, dans l'étude publiée en 2019 par Desai et al. (36) dans laquelle ils utilisent la technologie time-lapse pour l'analyse de la forme

des embryons, des résultats différents ont été observés. Ainsi, seulement 45% d'embryons tétraédriques y étaient observés soit une majorité d'embryons non tétraédriques. La technologie time-lapse pourrait donc jouer un rôle très important dans l'analyse de la forme tétraédrique ou non d'un embryon à 4 cellules. Il est aussi important de noter que dans les 3 études précédemment citées, la classification des embryons tétraédriques et non tétraédriques au stade 4 cellules ne dépendait pas du nombre de jonction intercellulaire de chaque blastomère, mais résultait de l'analyse des premiers et seconds plans de clivage de chaque blastomère : 2 divisions méridionales ou équatoriales successives conduisent à un embryon non tétraédrique, 2 divisions de 2 plans différents successivement conduisent à un embryon tétraédrique (schéma 1). Cela rend ces études difficilement comparables à la nôtre puisque nous nous appuyons sur les travaux de Liu et al. de 2015 (1) qui traitent de l'importance du nombre de jonction intercellulaire par blastomère (3 jonctions intercellulaires par blastomère) pour classer les embryons au stade 4 cellules en « tétraédrique » ou « non tétraédrique ».

La seule autre étude proposant d'étudier les embryons tétraédriques au stade 4 cellules comme étant un élément pronostic du développement embryonnaire en utilisant la méthode de classification proposée par Liu et al. (1) est celle publiée par Ebner et al. en 2017 (35). Dans cette étude qui utilise un système time-lapse, 95% des embryons ont été classés dans le groupe tétraédrique. Il est probable que ce résultat, discordant par rapport à notre étude, est en lien avec le fait que l'analyse de la forme de l'embryon à 4 cellules est soumise à une variabilité inter et intra-individuelle importante malgré l'utilisation des outils time-lapse.

Il est aussi important de noter que dans l'étude publiée par Liu et al. (1) et menée sur des images time-lapse, il est démontré que 2 embryons sur 3 corrigent leur arrangement spatiale non tétraédrique en tétraédrique à la fin du stade 4 cellules. Les blastomères migrent alors les uns vers les autres ce qui leur permet d'établir progressivement le contact intercellulaire. Cela souligne donc l'existence de deux entités différentes d'embryons tétraédriques qu'il pourrait être intéressant de distinguer : ceux qui sont directement tétraédriques au moment de leur division, issus de la succession de 2 plans de clivage différents (équatorial et méridional) et ceux qui sont issus de 2 plans de clivage identiques mais qui corrigent leur organisation spatiale au cours du stade 4 cellules. Ce phénomène n'a pas été étudié dans ce travail puisque l'analyse de la répartition spatiale des blastomères au stade 4 cellules se faisait

systématiquement au temps médian entre la 4^{ème} et la 5^{ème} division cellulaire. L'organisation spatiale des blastomères avant l'apparition de la 5^{ème} division cellulaire n'était donc pas connue. Une étude complémentaire proposant d'étudier le pronostic implantatoire des embryons qui corrigent leur arrangement spatial par rapport aux embryons tétraédriques d'emblée pourrait être intéressante pour mieux encadrer la définition d'un embryon « tétraédrique ».

Réduire la part de subjectivité est donc un enjeu majeur dans l'analyse de la forme de l'embryon au stade 4 cellules et une grande expérience des embryologistes sera nécessaire pour en réduire l'impact. Si le time-lapse est une aide précieuse dans cette analyse, celle-ci reste très chronophage, ce qui peut être un frein pour une utilisation au quotidien. Dans certains centres d'AMP où l'activité est parfois importante, une telle charge de travail supplémentaire semble inenvisageable. Un outil d'intelligence artificielle pourrait apporter des solutions à ces deux problématiques en proposant une analyse rapide, objective, reproductible et automatisée.

Notre collaboration avec d'autres centres d'AMP à travers le monde et avec les équipes de Rish Hariharan nous a permis de comparer nos résultats sur la classification des embryons tétraédriques et non tétraédriques avec un outil d'intelligence artificielle développé spécifiquement dans ce but. Ce modèle d'IA a proposé des résultats très proches de ceux observés dans notre analyse (Sensibilité 93%, spécificité 75%, et 87% de concordance analytique entre les 2 méthodes).

95% des embryons ont été classés par l'IA. Pour seulement 12 embryons, l'IA n'a pas été en mesure de déterminer la configuration spatiale des blastomères au stade 4 cellules. Au final, parmi ces 12 embryons, 3 embryons, classés dans le groupe « non tétraédrique » par l'analyse humaine, ont donné une naissance vivante (figure 9). Il paraît donc légitime de se demander si les interférences analytiques, qui nous ont conduites à classer ces embryons comme étant non-tétraédriques, n'ont pas été discriminées différemment par le modèle d'IA. Si cette théorie est exacte, cela implique que le modèle est en mesure de définir des interférences analytiques qu'un biologiste ne peut pas percevoir avec fiabilité et est ainsi capable d'inclure la notion de « doute raisonnable » dans son analyse. Le modèle préfère alors ne pas statuer sur l'embryon plutôt que de le classer dans un groupe. De tels résultats soulignent l'importance d'éviter de classer les embryons comme étant de mauvais pronostic implantatoire

d'une manière trop hâtive. Il serait intéressant de mener de nouvelles études sur les capacités des modèles d'IA à évaluer leurs propres limites analytiques.

Cependant ces résultats sont critiquables. En effet, il faut garder à l'esprit que le modèle utilisé dans cette étude a été en partie développé sur notre propre cohorte. Ainsi, le modèle ResNet-50 utilisé pour classer les embryons de notre cohorte a été développé sur la base d'un autre modèle d'IA qui a été entraîné sur deux bases de données brésiliennes et dont la phase de test a été menée uniquement sur notre cohorte. Les résultats du premier modèle d'IA ont été publiés à l'ESHRE 2021 (58). Cela constitue un biais important dans ces résultats puisque le concept même des phases d'entraînement, validation et test impliquent que le modèle a été développé spécifiquement pour cette base de données. Soumettre de nouveau les mêmes images à l'IA consiste donc à répéter, en partie, une phase de son développement qui a déjà été validée.

De plus, il est difficile de déterminer avec précision comment l'IA pondère les différents arguments qui constituent sa décision. Cela rend la conclusion du modèle difficilement critiquable par un opérateur non expérimenté. Plusieurs recherches ont été menées sur ce sujet et notamment en imagerie médicale pour aider les radiologues à comprendre les décisions prises par une IA (59).

Néanmoins, ces premiers résultats suggèrent que l'utilisation d'outils d'IA pourrait être très intéressante dans l'étude de l'organisation spatiale de l'embryon à 4 cellules. Ce type de technologie permettrait de palier à la problématique de la variabilité inter et intra-opérateur en proposant une évaluation objective de l'embryon tétraédrique et non tétraédrique. De plus, l'étude de la forme de l'embryon au stade 4 cellules demande de prêter une longue attention à chaque embryon ce qui peut être difficilement concevable au sein d'un laboratoire d'AMP. Cette technologie permettrait donc de faciliter cette analyse et de réduire les problématiques organisationnelles qu'elle impose.

L'arrivée de l'IA en AMP n'en est qu'à ses débuts et ce marché est en plein essor. De nombreux modèles sont déjà disponibles (41,43,44,46) pour évaluer le pronostic implantatoire des embryons. La place du biologiste en AMP va donc devoir évoluer,

comme dans de nombreux secteurs de la biologie médicale, pour lui permettre de mieux comprendre ces outils et de mieux en critiquer les résultats. L'arrivée de l'automatisation et des assistants personnels informatisés va progressivement révolutionner la pratique quotidienne. Cependant la plupart des outils proposés actuellement restent très opaques sur leur fonctionnement et il n'est pas évident de les intégrer dans la prise de décision en toute confiance.

Mais ce constat ne s'applique pas uniquement aux biologistes et des outils similaires se développent aussi pour adapter les protocoles de stimulation ovarienne, intégrer les antécédents des patients, les prises en charge antérieures etc. Une revue de la littérature sur ce sujet, publiée en 2020 par Fernandez et al. (60), décrit les outils disponibles sur le marché et leur application en AMP. Elle conclue que les outils d'intelligence artificielle vont progressivement faire leur apparition dans tous les domaines de l'AMP.

Il faudra donc comprendre et évaluer ces technologies complexes pour garantir aux laboratoires une totale liberté d'exercice et aux patients les meilleurs résultats possibles.

VI. CONCLUSION

Pour conclure, cette étude n'a pas permis de déterminer si l'arrangement tétraédrique des blastomères d'un embryon au stade 4 cellules évalué à partir d'images issues d'un système time-lapse est un facteur pronostic sur la survenue d'une naissance vivante. Cependant, plusieurs marqueurs de bon pronostic implantatoire, décrits dans de multiples études, sont associés à un embryon de forme tétraédrique au stade 4 cellules. Si nos résultats sont dans l'ensemble cohérents par rapport à la littérature sur ce sujet, il reste difficile d'en comparer les résultats du fait des différences entre les classifications des embryons tétraédriques et non tétraédriques.

L'arrivée des technologies d'intelligence artificielle pourrait apporter une réponse intéressante par leur capacité à étudier rapidement un grand nombre de données et à offrir une analyse objective et reproductible. Il reste néanmoins indispensable de statuer sur la définition d'un embryon tétraédrique et sur la problématique des embryons qui corrigent leur organisation spatiale au fur et à mesure de la 3^{ème} division.

VII. BIBLIOGRAPHIE

1. Liu Y, Chapple V, Feenan K, Roberts P, Matson P. Clinical significance of intercellular contact at the four-cell stage of human embryos, and the use of abnormal cleavage patterns to identify embryos with low implantation potential: a time-lapse study. *Fertility and Sterility*. juin 2015;103(6):1485-1491.e1.
2. Rapport annuel de l'Agence de Biomédecine. 2019.
3. Kamath MS, Mascarenhas M, Kirubakaran R, Bhattacharya S. Number of embryos for transfer following in vitro fertilisation or intra-cytoplasmic sperm injection. Cochrane Gynaecology and Fertility Group, éditeur. Cochrane Database of Systematic Reviews. 21 août 2020;
4. Erenus M, Zouves C, Rajamahendran P, Leung S, Fluker M, Gomel V. The effect of embryo quality on subsequent pregnancy rates after in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*. oct 1991;56(4):707-10.
5. Giorgetti C, Terriou P, Auquier P, Hans E, Spach J-L, Salzmann J, et al. Implantation: Embryo score to predict implantation after in-vitro fertilization: based on 957 single embryo transfers. *Human Reproduction*. 1 sept 1995;10(9):2427-31.
6. De Cássia Savio Figueira R, Souza Setti A, Paes De Almeida Ferreira Braga D, Iaconelli A, Borges E. Blastomere multinucleation: Contributing factors and effects on embryo development and clinical outcome. *Human Fertility*. sept 2010;13(3):143-50.
7. Hardarson T. Human embryos with unevenly sized blastomeres have lower pregnancy and implantation rates: indications for aneuploidy and multinucleation. *Human Reproduction*. 1 févr 2001;16(2):313-8.
8. Gardner DK, Lane M, Stevens J, Schlenker T, Schoolcraft WB. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertility and Sterility*. juin 2000;73(6):1155-8.
9. Ahlstrom A, Westin C, Reismer E, Wikland M, Hardarson T. Trophectoderm morphology: an important parameter for predicting live birth after single blastocyst transfer. *Human Reproduction*. 1 déc 2011;26(12):3289-96.
10. Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology, Balaban B, Brison D, Calderon G, Catt J, Conaghan J, et al. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Human Reproduction*. 1 juin 2011;26(6):1270-83.
11. Mestres E, García-Jiménez M, Casals A, Cohen J, Acacio M, Villamar A, et al. Factors of the human embryo culture system that may affect media evaporation and osmolality. *Human Reproduction*. 18 févr 2021;36(3):605-13.
12. Mio Y, Maeda K. Time-lapse cinematography of dynamic changes occurring during in vitro development of human embryos. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. déc 2008;199(6):660.e1-660.e5.
13. Zaninovic N, Irani M, Meseguer M. Assessment of embryo morphology and developmental dynamics by time-lapse microscopy: is there a relation to implantation and ploidy? *Fertility and Sterility*. nov 2017;108(5):722-9.

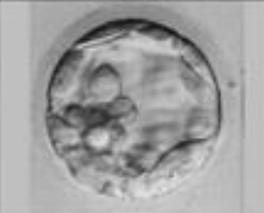
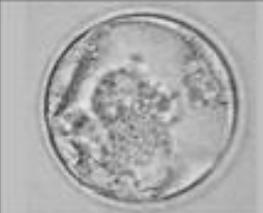
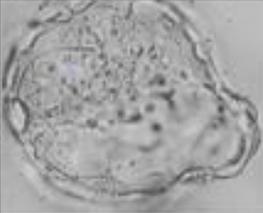
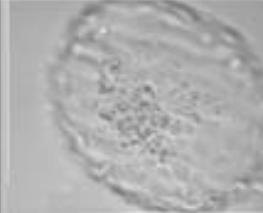
14. Lundin K, Bergh C, Hardarson T. Early embryo cleavage is a strong indicator of embryo quality in human IVF. *Human Reproduction*. déc 2001;16(12):2652-7.
15. Almagor M, Or Y, Fieldust S, Shoham Z. Irregular cleavage of early preimplantation human embryos: characteristics of patients and pregnancy outcomes. *J Assist Reprod Genet*. déc 2015;32(12):1811-5.
16. Rubio I, Kuhlmann R, Agerholm I, Kirk J, Herrero J, Escribá M-J, et al. Limited implantation success of direct-cleaved human zygotes: a time-lapse study. *Fertility and Sterility*. déc 2012;98(6):1458-63.
17. Liu Y, Chapple V, Roberts P, Matson P. Prevalence, consequence, and significance of reverse cleavage by human embryos viewed with the use of the Embryoscope time-lapse video system. *Fertility and Sterility*. nov 2014;102(5):1295-1300.e2.
18. Ciray HN, Campbell A, Agerholm IE, Aguilar J, Chamayou S, Esbert M, et al. Proposed guidelines on the nomenclature and annotation of dynamic human embryo monitoring by a time-lapse user group. *Human Reproduction*. déc 2014;29(12):2650-60.
19. Paternot G, Wetsels AM, Thonon F, Vansteenbrugge A, Willemen D, Devroe J, et al. Intra- and interobserver analysis in the morphological assessment of early stage embryos during an IVF procedure: a multicentre study. *Reprod Biol Endocrinol*. 2011;9(1):127.
20. Reignier A, Girard J-M, Lammers J, Chtourou S, Lefebvre T, Barriere P, et al. Performance of Day 5 KIDScore™ morphokinetic prediction models of implantation and live birth after single blastocyst transfer. *J Assist Reprod Genet*. nov 2019;36(11):2279-85.
21. KIDScore D5 v3 decision support tool, Vitrolife, v2.INT, JUNE, 2019.
22. Kato K, Ueno S, Berntsen J, Ito M, Shimazaki K, Uchiyama K, et al. Comparing prediction of ongoing pregnancy and live birth outcomes in patients with advanced and younger maternal age patients using KIDScore™ day 5: a large-cohort retrospective study with single vitrified-warmed blastocyst transfer. *Reprod Biol Endocrinol*. déc 2021;19(1):98.
23. Antczak M. Oocyte influences on early development: the regulatory proteins leptin and STAT3 are polarized in mouse and human oocytes and differentially distributed within the cells of the preimplantation stage embryo. *Molecular Human Reproduction*. 1 déc 1997;3(12):1067-86.
24. Antczak M, Van Blerkom J. Temporal and spatial aspects of fragmentation in early human embryos: possible effects on developmental competence and association with the differential elimination of regulatory proteins from polarized domains. *Human Reproduction*. 1 févr 1999;14(2):429-47.
25. Van Blerkom J. Translocation of the subplasmalemmal cytoplasm in human blastomeres: possible effects on the distribution and inheritance of regulatory domains. *Reproductive BioMedicine Online*. janv 2007;14(2):191-200.
26. Hansis C, Edwards RG. Cell differentiation in the preimplantation human embryo. *Reproductive BioMedicine Online*. janv 2003;6(2):215-20.
27. Gardner RL. Specification of embryonic axes begins before cleavage in normal mouse development. *Development*. mars 2001;128(6):839-47.

28. Edwards R. Oocyte polarity and cell determination in early mammalian embryos. *Molecular Human Reproduction*. 1 oct 1997;3(10):863-905.
29. Gardner RL. The early blastocyst is bilaterally symmetrical and its axis of symmetry is aligned with the animal-vegetal axis of the zygote in the mouse. *Development*. janv 1997;124(2):289-301.
30. Ajduk A, Zernicka-Goetz M. Polarity and cell division orientation in the cleavage embryo: from worm to human. *Mol Hum Reprod*. oct 2016;22(10):691-703.
31. Gardner RL. Experimental analysis of second cleavage in the mouse. *Human Reproduction*. 1 déc 2002;17(12):3178-89.
32. Cauffman G, Verheyen G, Tournaye H, Van de Velde H. Developmental capacity and pregnancy rate of tetrahedral- versus non-tetrahedral-shaped 4-cell stage human embryos. *J Assist Reprod Genet*. avr 2014;31(4):427-34.
33. Ebner T, Maurer M, Shebl O, Moser M, Mayer RB, Duba HC, et al. Planar embryos have poor prognosis in terms of blastocyst formation and implantation. *Reproductive BioMedicine Online*. sept 2012;25(3):267-72.
34. Ebner T, Oppelt P, Mayer RB, Shebl O. Developmental capacity and pregnancy rate of tetrahedral- versus non-tetrahedral-shaped 4-cell stage human embryos. *J Assist Reprod Genet*. mai 2014;31(5):621-621.
35. Ebner T, Höggerl A, Oppelt P, Radler E, Enzelsberger S-H, Mayer RB, et al. Time-lapse imaging provides further evidence that planar arrangement of blastomeres is highly abnormal. *Arch Gynecol Obstet*. déc 2017;296(6):1199-205.
36. Desai N, Gill P. Blastomere cleavage plane orientation and the tetrahedral formation are associated with increased probability of a good-quality blastocyst for cryopreservation or transfer: a time-lapse study. *Fertility and Sterility*. juin 2019;111(6):1159-1168.e1.
37. Kaufmann SJ, Eastaugh JL, Snowden S, Smye SW, Sharma V. The application of neural networks in predicting the outcome of in- vitro fertilization. *Human Reproduction*. 1 juill 1997;12(7):1454-7.
38. Hicks SA, Andersen JM, Witczak O, Thambawita V, Halvorsen P, Hammer HL, et al. Machine Learning-Based Analysis of Sperm Videos and Participant Data for Male Fertility Prediction. *Sci Rep*. déc 2019;9(1):16770.
39. International Computer Institute at Ege University, 35100, Bornova, Izmir, Turkey, Candemir C. Estimating the Semen Quality from Life Style Using Fuzzy Radial Basis Functions. *IJMLC*. févr 2018;8(1):44-8.
40. Hariton E, Chi EA, Chi G, Morris JR, Braatz J, Rajpurkar P, et al. A machine learning algorithm can optimize the day of trigger to improve in vitro fertilization outcomes. *Fertility and Sterility*. juill 2021;S0015028221005124.
41. Chavez-Badiola A, Flores-Saiffe-Farías A, Mendizabal-Ruiz G, Drakeley AJ, Cohen J. Embryo Ranking Intelligent Classification Algorithm (ERICA): artificial intelligence clinical assistant predicting embryo ploidy and implantation. *Reproductive BioMedicine Online*. oct 2020;41(4):585-93.
42. Curchoe CL, Bormann CL. Artificial intelligence and machine learning for human reproduction and embryology presented at ASRM and ESHRE 2018. *J Assist Reprod Genet*. avr 2019;36(4):591-600.

43. Tran D, Cooke S, Illingworth PJ, Gardner DK. Deep learning as a predictive tool for fetal heart pregnancy following time-lapse incubation and blastocyst transfer. *Human Reproduction*. 4 juin 2019;34(6):1011-8.
44. Khosravi P, Kazemi E, Zhan Q, Malmsten JE, Toschi M, Zisimopoulos P, et al. Deep learning enables robust assessment and selection of human blastocysts after in vitro fertilization. *npj Digit Med*. déc 2019;2(1):21.
45. Ueno S, Berntsen J, Ito M, Uchiyama K, Okimura T, Yabuuchi A, et al. Pregnancy prediction performance of an annotation-free embryo scoring system on the basis of deep learning after single vitrified-warmed blastocyst transfer: a single-center large cohort retrospective study. *Fertility and Sterility*. juill 2021;S0015028221004957.
46. VerMilyea M, Hall JMM, Diakiw SM, Johnston A, Nguyen T, Perugini D, et al. Development of an artificial intelligence-based assessment model for prediction of embryo viability using static images captured by optical light microscopy during IVF. *Human Reproduction*. 28 avr 2020;35(4):770-84.
47. Moura BRL de, Gurgel MCA, Machado SP, Marques PA, Rolim JR, Lima MC de, et al. Low concentration of hyaluronidase for oocyte denudation can improve fertilization rates and embryo quality. *JBRA Assisted Reproduction [Internet]*. 2017 [cité 26 sept 2021];21(1). Disponible sur: <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/1518-0557.20170008>
48. ESHRE Working group on Time-lapse technology, Apter S, Ebner T, Freour T, Guns Y, Kovacic B, et al. Good practice recommendations for the use of time-lapse technology†. *Human Reproduction Open*. 1 févr 2020;2020(2):hoaa008.
49. Université Pierre et Marie Curie (Paris) et Université Paul Sabatier (Toulouse), Logiciel BiostatGV : <http://www.u707.jussieu.fr/biostatgv>.
50. Paternot G, Debrock S, De Neubourg D, D'Hooghe TM, Spiessens C. The spatial arrangement of blastomeres at the 4-cell stage and IVF outcome. *Reproductive BioMedicine Online*. févr 2014;28(2):198-203.
51. Paternot G, Debrock S, D'Hooghe T, Spiessens C. Computer-assisted embryo selection: a benefit in the evaluation of embryo quality? *Reproductive BioMedicine Online*. sept 2011;23(3):347-54.
52. Chamayou S, Patrizio P, Storaci G, Tomaselli V, Alecci C, Ragolia C, et al. The use of morphokinetic parameters to select all embryos with full capacity to implant. *J Assist Reprod Genet*. mai 2013;30(5):703-10.
53. Kirkegaard K, Kesmodel US, Hindkjær JJ, Ingerslev HJ. Time-lapse parameters as predictors of blastocyst development and pregnancy outcome in embryos from good prognosis patients: a prospective cohort study. *Human Reproduction*. oct 2013;28(10):2643-51.
54. Storr A, Venetis CA, Cooke S, Susetio D, Kilani S, Ledger W. Morphokinetic parameters using time-lapse technology and day 5 embryo quality: a prospective cohort study. *J Assist Reprod Genet*. juill 2015;32(7):1151-60.
55. Sundvall L, Ingerslev HJ, Breth Knudsen U, Kirkegaard K. Inter- and intra-observer variability of time-lapse annotations. *Human Reproduction*. 1 déc 2013;28(12):3215-21.
56. Hentschke MR, Azambuja R, Dornelles VC, Cunegatto B, Hariharan R, Telöken IB, et al. Is there a better evolutionary outcome in a 4-cell tetrahedron embryo? 2021;4.

57. Chen AA, Tan L, Suraj V, Reijo Pera R, Shen S. Biomarkers identified with time-lapse imaging: discovery, validation, and practical application. *Fertility and Sterility*. mars 2013;99(4):1035-43.
58. Hariharan R, He P, Hickman C, Chambost J, Jacques C, Hentschke M, et al. Using Artificial Intelligence To Classify Embryo Shape : An International Perspective. :1.
59. Cai J, Xing F, Batra A, Liu F, Walter GA, Vandenborne K, et al. Texture analysis for muscular dystrophy classification in MRI with improved class activation mapping. *Pattern Recognition*. févr 2019;86:368-75.
60. Fernandez EI, Ferreira AS, Cecílio MHM, Chéles DS, de Souza RCM, Nogueira MFG, et al. Artificial intelligence in the IVF laboratory: overview through the application of different types of algorithms for the classification of reproductive data. *J Assist Reprod Genet*. oct 2020;37(10):2359-76.

VIII. ANNEXES

Calidad MCI	A	B	C
Calidad TE	A	B	C
Grado de expansión 1: blastocisto temprano			
Grado de expansión 2: blastocisto			
Grado de expansión 3 y 4: blastocisto completo/expandido			
Grado de expansión 5: b. iniciando eclosión			
Grado de expansión 6: b. eclosionado			

Annexe 1 : Classification de Gardner et Schoolcraft, 1999.

Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. Fertility and Sterility; 2000

Group	Description	Site of the lesion
WHO type I	Hypogonadotrophic Hypo-estrogenic Normoprolactinemic	Central
WHO type II	Hypogonadotrophic Normo-estrogenic Normoprolactinemic	Hypothalamic-pituitary ovarian axis
WHO type III	Hypergonadotrophic Hypo-estrogenic Normoprolactinemic	Ovarian failure
Hyperprolactinemic	Hyperprolactinemic	Central

Annexe 2 : Classification des troubles ovulatoires.

Shetty A. Disorders of ovulation

Templeton AA. ed. Management of Infertility for the MRCOG and Beyond. London: rCOG press; 2001.

Vu, le Président du Jury,



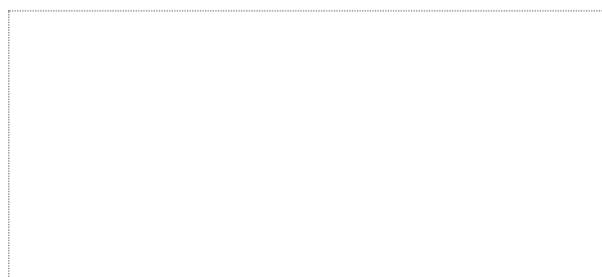
Pr Thomas FREOUR

Vu, les Directeurs de Thèse,



Dr Sophie LOUBERSAC

Vu, le Doyen de la Faculté,



Professeur Pascale JOLLIET

Titre de Thèse :**Chances de naissance vivante selon la structure de l'embryon humain au stade 4 cellules : Comparaison de l'analyse morphocinétique humaine avec une technique automatisée de Machine Learning**

Introduction : L'organisation spatiale tétraédrique des blastomères d'un embryon au stade 4 cellules a été décrite comme étant un élément pronostic de son potentiel implantatoire. Dans cette étude, nous avons cherché à déterminer si l'arrangement tétraédrique des blastomères d'un embryon au stade 4 cellules évalué à partir d'images issues d'un système time-lapse est de bon pronostic sur la survenue d'une naissance vivante et en avons comparé les résultats par rapport à un outil d'intelligence artificielle.

Matériel et Méthodes : il s'agit d'une étude rétrospective menée entre le 1^{er} janvier 2018 et le 31 décembre 2019. Nous avons inclus 237 embryons cultivés en étuve time-lapse, qui ont été transférés en monoembryonnaire et dont l'issue de grossesse était connue. Chaque embryon a été évalué selon l'organisation spatiale de ses blastomères au stade 4 cellules en « tétraédrique » ou « non tétraédrique ». Ces résultats ont ensuite été comparés à un outil d'intelligence artificiel basé sur le modèle ResNet-50.

Résultats : Aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre le groupe des embryons tétraédrique et des embryons non tétraédriques. Cependant les embryons tétraédriques au stade 4 cellules étaient corrélés à une meilleure qualité morphologique au 5^{ème} et 6^{ème} jour de développement ($p < 0.05$) et à certains marqueurs morphocinétiques de meilleur pronostic implantatoire. Le modèle d'intelligence artificielle a réussi à prédire l'organisation spatiale des blastomères au stade 4 cellules avec de bonnes performances analytiques (précision 87%, sensibilité 93%, spécificité 75%).

Conclusion : Cette étude n'a pas permis de déterminer si l'arrangement tétraédrique des blastomères d'un embryon au stade 4 cellules évalué à partir d'images issues d'un système time-lapse est de bon pronostic sur la survenue d'une naissance vivante. Cependant plusieurs facteurs prédictifs de l'implantation décrits dans la littérature sont associés à un embryon de forme tétraédrique au stade 4 cellules. L'arrivée des technologies d'intelligence artificielle pourrait apporter une réponse intéressante par leur capacité à étudier rapidement un grand nombre de données et à offrir une analyse objective et parfaitement reproductible.

MOTS-CLES

Tetrahedron embryos – Planar embryos – Time-lapse imaging – Morphokinetic – Embryo quality – Blastomere spatial arrangement – Cleavage plane – 4-cell-stage embryos – Live birth rate – IVF – artificial intelligence – machine learning