

# RECHAUFFEMENT EMBRYONNAIRE ULTRA-RAPIDE

Dr Muriel Lopes

JT BLEFCO – 27 mars 2026



# Plan

---

## 1 Vitrification

- › Principes
- › Indications
- › Résultats

## 2 Protocoles courts

- › Sémantique
- › Vitrification ultra-rapide
- › Warming ultra-rapide

## 3 Expérience Lyonnaise

- › Mise en place
- › Résultats
- › Perspectives

01

---

# Vitrification

---

# Principes vitrification

## Rappels

Processus transformation échantillon biologique en état vitreux

- › sans formation de cristaux de glace à l'intérieur ou à l'extérieur de la cellule
- › par refroidissement ultra-rapide
- › en présence de concentrations élevées de CPA

**Viscosité X vitesse de refroidissement**

**petit volume**

Kuwayama et al., 2005  
Saragusty and Arav, 2011

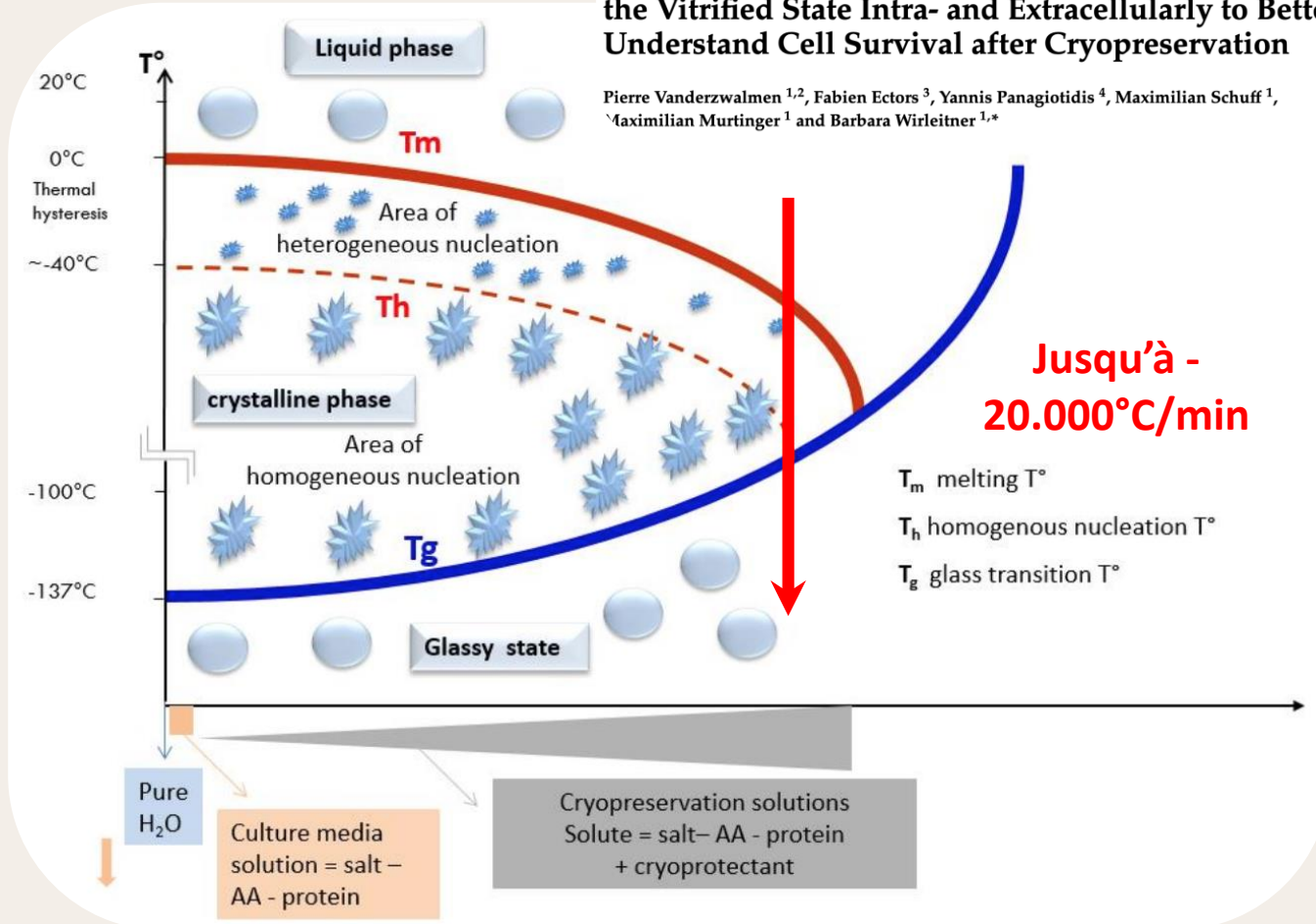


Apparue il y a plus de 20 ans dans les laboratoires de FIV, et autorisée depuis 15 ans en France

Review

## The Evolution of the Cryopreservation Techniques in Reproductive Medicine—Exploring the Character of the Vitrified State Intra- and Extracellularly to Better Understand Cell Survival after Cryopreservation

Pierre Vanderzwalmen<sup>1,2</sup>, Fabien Ectors<sup>3</sup>, Yannis Panagiotidis<sup>4</sup>, Maximilian Schuff<sup>1</sup>, Maximilian Murtinger<sup>1</sup> and Barbara Wirleitner<sup>1,\*</sup>



# Principes vitrification

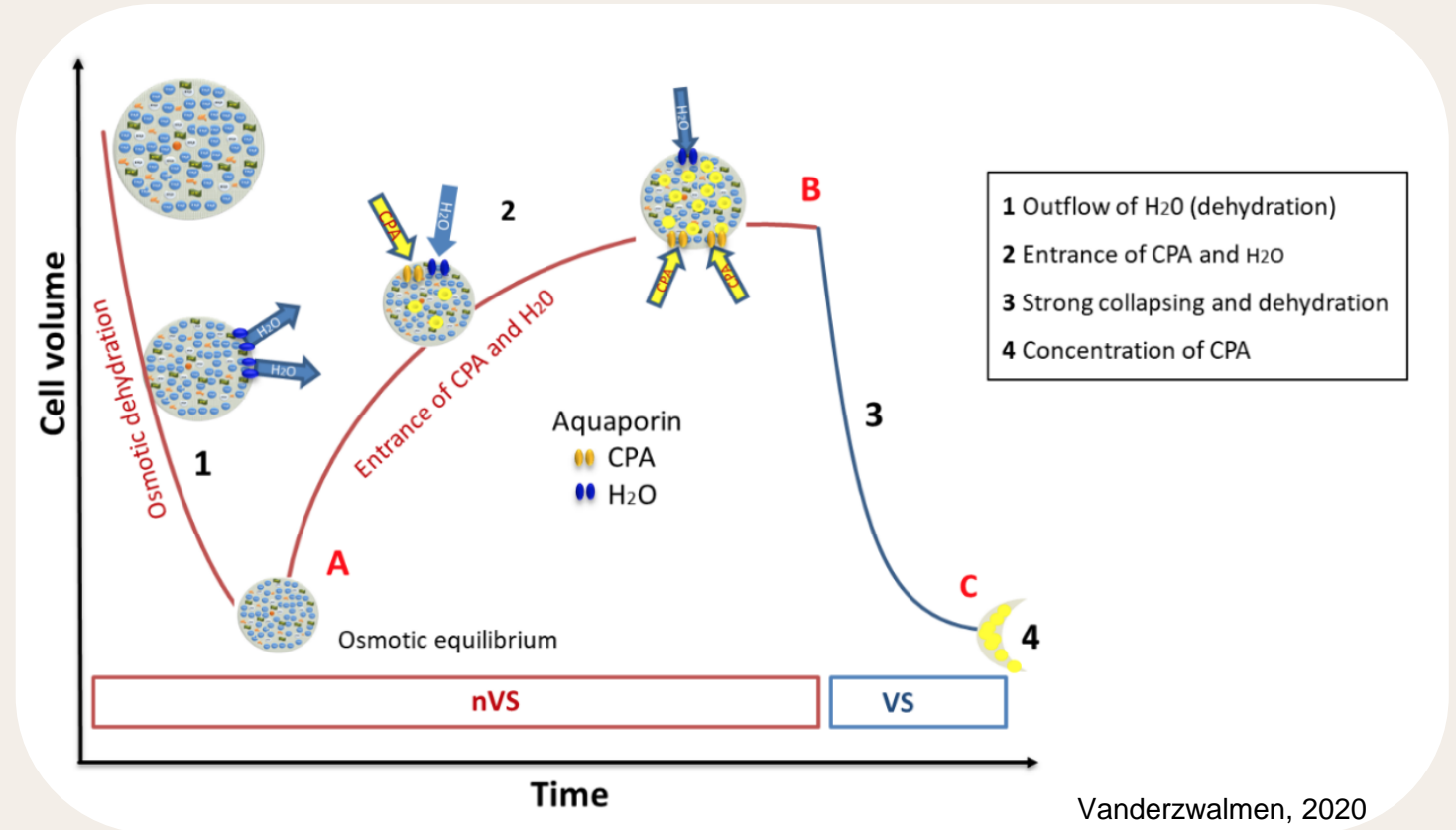
## 2 étapes

- › Phase d'équilibration (ES=nVS)
- › Phase de vitrification (VS)

Cryoprotecteurs  
(CPA)  
pénétrants  
DMSO, EG,  
PROH, glycérol

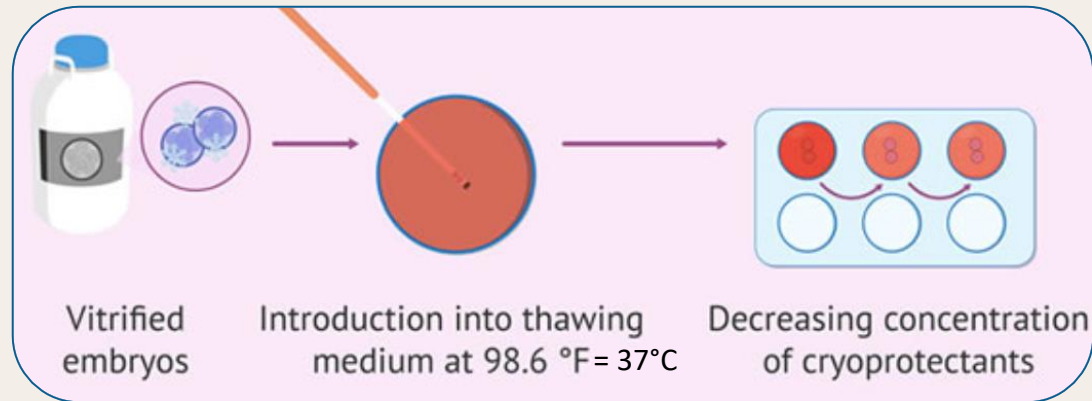
Cocktails  
de CPA

CPA non  
pénétrants  
glucose,  
sucrose,  
tréhalose



**But : déshydratation cytoplasme +++ sortie eau et entrée CPA**

# Principes réchauffement



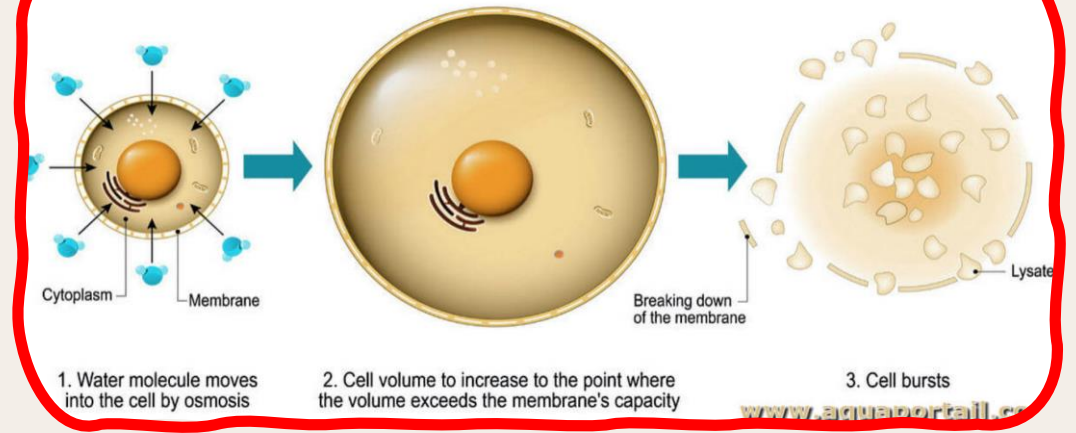
≥ 3 étapes

## › Réchauffement 37°C

Seki & Mazur 2009 Jin & Mazur 2015

- › Solution hyperosmotique de CPA non pénétrant en concentration progressivement décroissante
- › Dernier bain : washing

## lyse osmotique



## Prévention choc osmotique

- › CPA non pénétrants : ↓ différence d'osmolarité entre IC et EC
- › contrebalancer forte concentration en cryoprotecteurs pénétrants à l'intérieur de la cellule
- › « tampon » osmotique

Retrait progressif des CPA pénétrants avec concentrations décroissantes CPA NP + réhydratation progressive  
👉 **prévention du choc osmotique**



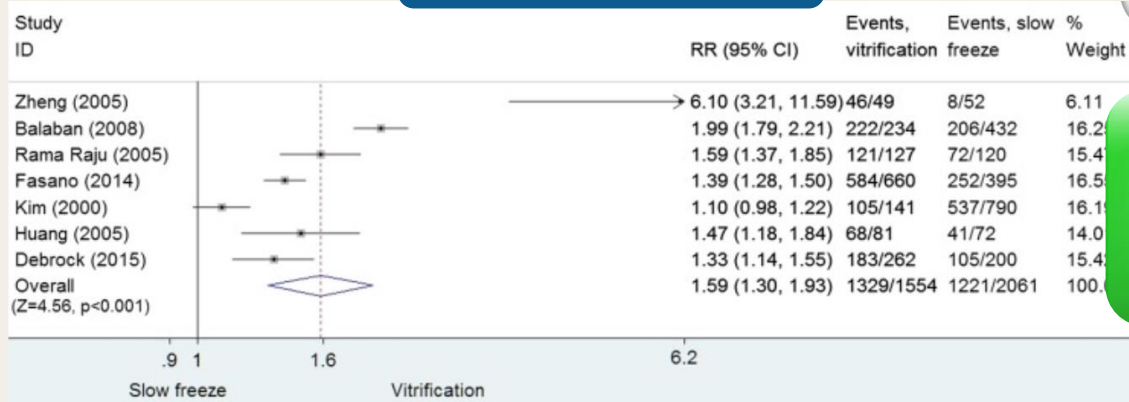
# Résultats

▶ Hum Reprod Update. 2016 Nov 4;23(2):139–155. doi: [10.1093/humupd/dmw038](https://doi.org/10.1093/humupd/dmw038)

## Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance

[Laura Rienzi](#)<sup>1,\*</sup>, [Clarisa Gracia](#)<sup>2</sup>, [Roberta Maggiulli](#)<sup>1</sup>, [Andrew R LaBarbera](#)<sup>3</sup>, [Daniel J Kaser](#)<sup>4</sup>, [Filippo M Ubaldi](#)<sup>1</sup>, [Sheryl Vanderpoel](#)<sup>5,6</sup>, [Catherine Racowsky](#)<sup>4</sup>

### Survie

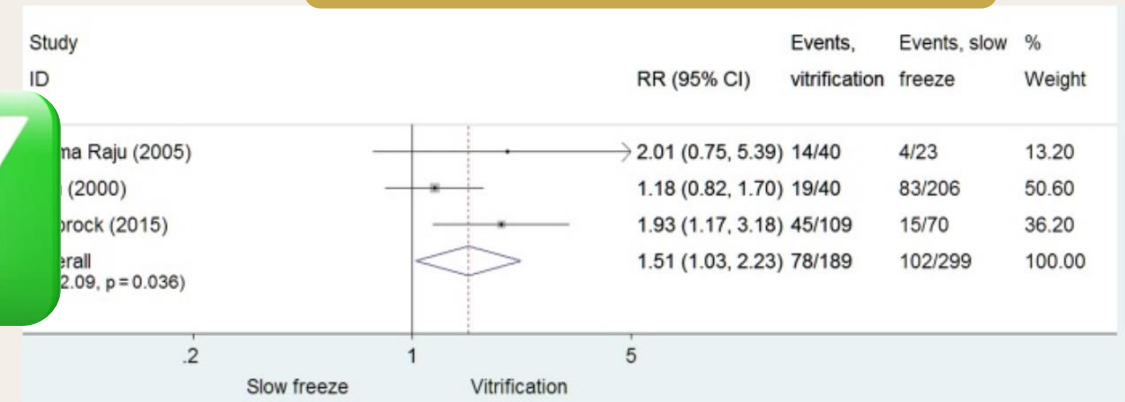


**RR = 1.59**, 95% CI: 1.30–1.93;  $P < 0.001$

slow-freezing:  $n = 2061$  vitrification:  $n = 1554$

Comparison on cryosurvival rate for cleavage-stage embryos and blastocysts: 7 RCTs.

### CPR/embryo transfer



**RR = 1.51**, 95% CI: 1.03–2.23;  $P = 0.036$   $n = 488$  TEC

Comparison on CPR/embryo transfer for cleavage-stage embryos and blastocysts: 3 RCTs

👉 Technique cryoconservation embryonnaire efficiente

👉 Gold standard dans le monde entier

02

---

# Protocoles Ultra-rapides

---

# Rappel sémantique

« ultra fast warming » « rapid warming » « ultra fast vitrification »

The new vitrification and warming protocols: when rapid is not really rapid

RBMO, 2026

Alessandro Bartolacci , Lodovico Parmegiani , Gabor Vajta



confusion

≠ vitesses de réchauffement  
et/ou refroidissement

≠ vitesses de sortie des CPA



Optimisation protocole

« shortened dilution protocols »

Vitesse de réchauffement augmentée si :

- ✓ Augmentation température du milieu Seki and Mazur, 2008
- ✓ Diminution distance entre cryostorage et milieu réchauffement Patrizio et al., 2017

# Pourquoi développer ces protocoles rapides /courts ?

1.  
Simplifier/  
standardiser/  
optimiser  
procédures  
d'équilibration  
(vitrification) et de  
réhydratation  
(réchauffement)

Protocoles de vitrification  
et réchauffement = 15-20  
minutes  
CHRONOPHAGE

2.  
Diminuer le  
temps  
d'exposition  
températures et  
osmolarités  
suboptimales

3.  
Réduire le  
temps  
d'exposition  
aux agents  
cryoprotecteurs

## Shorter protocols for vitrification and post-warming dilution of human oocytes and embryos: a narrative review



### BIOGRAPHY

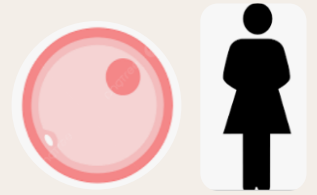
Juergen Liebermann, PhD, HCLD, has been an IVF Laboratory Director since 1996. He received his doctoral degree in 1995 and his postdoctoral thesis in 2004. Since 2004, he has lived in Chicago, IL, USA. His research focuses on optimizing egg and embryo vitrification to improve clinical outcomes.

Iris Martinez-Rodero<sup>a</sup>, Miguel Gallardo<sup>b</sup>, Valerio Pisaturo<sup>c</sup>, Catello Scarica<sup>d</sup>,  
Joseph Conaghan<sup>e</sup>, Juergen Liebermann<sup>f,\*</sup>, Irene Cuevas-Saiz<sup>g</sup>

RBMO, 2025



# Vitrification embryonnaire ultra-rapide



## Durée phase équilibration

### › Embryons clivés : 5 à 15 min

Bagis et al., 2005; Hiraoka et al., 2009; Selman et al., 2009; Valojerdi et al., 2010; Shi et al., 2012; Stanger et al., 2012

### › Blastocystes : 8 to 15 min

Cobo et al., 2012; Tong et al., 2012; Mori et al., 2015; Coello et al., 2017

Pas de  
consensus sur  
la durée  
d'équilibration

Article | [Open access](#) | Published: 05 November 2019

## Human oocytes and zygotes are ready for ultra-fast vitrification after 2 minutes of exposure to standard CPA solutions

[Miguel Gallardo](#), [Jaime Saenz](#) & [Ramon Risco](#) ✉

- › Gallardo montre que l'équilibre osmotique est atteint 1 minute après exposition aux CPA
- › Déshydratation très rapide et maximale : l'eau sort de la cellule plus vite que les CPA n'entrent
- › Conductivité hydraulique  $L_p$  > perméabilité solutés  $P_s$

# Vitrification embryonnaire ultra-rapide

> [Reproduction](#). 2024 Apr 29;167(6):e240036. doi: 10.1530/REP-24-0036. Print 2024 Jun 1.

## In silico-designed vitrification protocols: an approach to improve survival of in vitro produced-bovine embryos

Iris Martínez-Rodero <sup>1</sup>, Judith Díaz-Muñoz <sup>1</sup>, Adam Z Higgins <sup>2</sup>, Manel López Béjar <sup>3</sup>,  
Teresa Mogas <sup>1</sup>, Tania García-Martínez <sup>1</sup>

Martinez-Rodero, 2024

> Étude perméabilité MP ≠ CPA, ≠ T°, ≠ temps




« new ES incubation times of 3 min 40 s for D7 blastocysts and 3 min 15 s for D8 blastocysts at 38.5°C were validated for optimizing vitrification/warming methods for bovine IVP blastocysts »

Très peu de données sur la vitrification ultra-rapide des embryons clivés

# Vitrification embryonnaire ultra-rapide

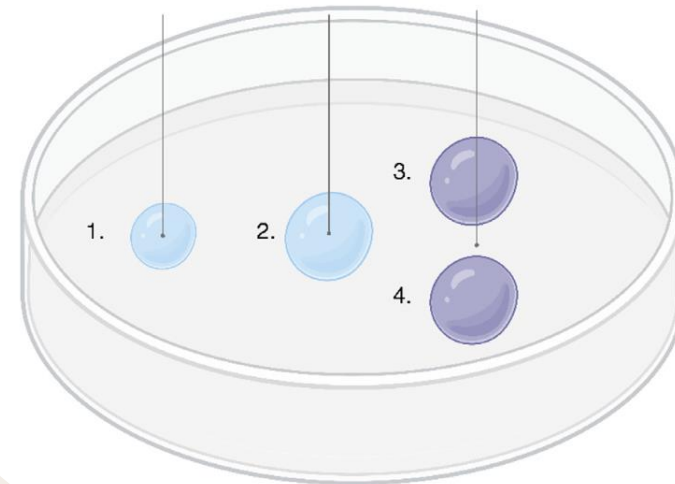
Zhang 2023

- › Rétrospective 
- › 763 blastocystes collapsés artificiellement
- › ES : 6-7 min vs 9-10 min
- › Survie et issues non inférieures

## Fast blastocyst vitrification procedure

90 mm dish | RT | total time: 5 min

ES (50  $\mu$ L) (rinse briefly)      ES (100  $\mu$ L) (4 min)      VS (2x100  $\mu$ L) (1 min)



## Protocole Fast equilibration vitrification (two-step) of blastocysts

Liebermann, 2024

ES : 7.5% ethylene glycol 7.5% DMSO 4 min

VS : 15% DMSO 15% ethylene glycol 0.5 M sucrose 1 min



**5 minutes en tout**

➡ plus d'études et RCT nécessaires sur la vitrification ultra-rapide des embryons

# Réchauffement embryonnaire ultra-rapide

## Expérience « grands animaux »

### Dilution “one step”

- › Cuello, C., 2004. In vitro development following one-step dilution of OPS- vitrified porcine blastocysts. *Theriogenology*.  

- › Caamaño, J. 2015. Survival of vitrified IVP bovine embryos after a one-step warming in-straw cryoprotectant dilution procedure. *Theriogenology*. 41 °C in 0.25 M sucrose for 10 minutes, 0.15 M sucrose for 10 minutes, or 0.25 M sucrose for 5 minutes  


Schiewe et al., 1991; Saha and Suzuki, 1997; Vajta et al., 1998; Vajta et al., 1999; Pugh et al., 2000; Taniguchi et al., 2007; Vieira et al., 2007; Inaba et al., 2011; Morato and Mogas, 2014; Caamano et al., 2015; Oliveira et al., 2020

### Dispositifs “one step in straw”

Vitrification and in-straw warming do not affect pregnancy rates of biopsied bovine embryos

Núria González-Rodríguez<sup>a</sup>, Iris Martínez-Rodero<sup>b</sup>, Jakob Scherzer<sup>a</sup>, Simone Jung<sup>a</sup>, Myriam Reichenbach<sup>a</sup>, Yury Zablotski<sup>c</sup>, Christiane Otzdorff<sup>d</sup>, Holm Zerbe<sup>c</sup>, Teresa Mogas<sup>b,\*</sup>

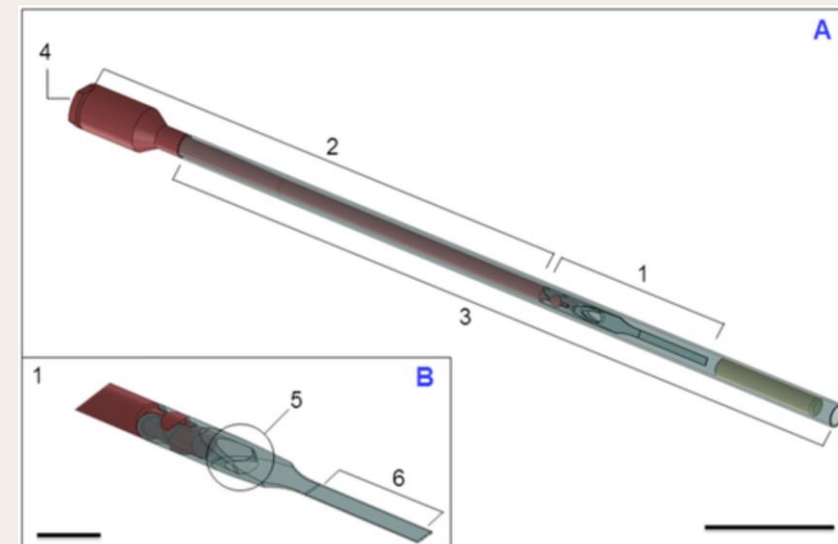


Fig. 6. Picture of the first calf born after transfer of a biopsied vitrified embryo using the in-straw VitTrans method.

# Réchauffement embryonnaire ultra-rapide

## Etudes +++ depuis 2021



**VALIDATION OF A NEW, ULTRA-FAST BLASTOCYST WARMING TECHNIQUE REDUCES WARMING TIMES TO 1 MIN AND YIELDS SIMILAR SURVIVAL AND RE-EXPANSION COMPARED TO BLASTOCYSTS WARMED USING A STANDARD METHOD.** Jessica Nicole Manns, MS,<sup>1</sup> Seth Katz, MD,<sup>1</sup> Joe Whelan, III, MD,<sup>1</sup> Jennifer L. Patrick, MS, PhD,<sup>2</sup> Taylor Holt, PA-C,<sup>3</sup> Ann Morris Merline, PA-C,<sup>3</sup> Tyl H. Taylor, PhD<sup>3</sup> <sup>1</sup>Reproductive Endocrinology Associates of Charlotte, Charlotte, NC; <sup>2</sup>Revolution Genetics, Charlotte, NC; <sup>3</sup>Reproductive Endocrinology Associates of Charlotte (REACH), Charlotte, NC, NC.



- › FS 2021
- › RCT 70 blastocystes
- › PS Fujifilm vs 1 min en TS
- › Survie et réexpansion = NS

P-96 6:30 AM Monday, October 24, 2022

**ULTRAFAST WARMING PROTOCOL DEMONSTRATES SIMILAR OUTCOMES AND SIGNIFICANTLY DECREASES EMBRYOLOGY WORKLOAD COMPARED TO STANDARD WARMING PROTOCOLS, A RANDOMIZED CONTROL TRIAL WITH EUPLOID BLASTOCYSTS.** Tyl H. Taylor, PhD,<sup>1</sup> Jessica Nicole Manns, MS,<sup>2</sup> Isabelle Katz, BS,<sup>3</sup> Jennifer L. Patrick, MS, PhD,<sup>4</sup> Taylor Holt, PA-C,<sup>5</sup> Seth E. Katz, M.D.<sup>6</sup> <sup>1</sup>REACH, Charlotte, NC; <sup>2</sup>Reproductive Endocrinology Associates of Charlotte, Charlotte, NC; <sup>3</sup>Reproductive Endocrinology Associates of Charlotte (REACH), Charlotte, NC; <sup>4</sup>Reproductive Endocrinology Associates of Charlotte (REACH), Charlotte, NC, NC; <sup>5</sup>REACH, Charlotte, NC, NC; <sup>6</sup>Reach, Charlotte, NC.



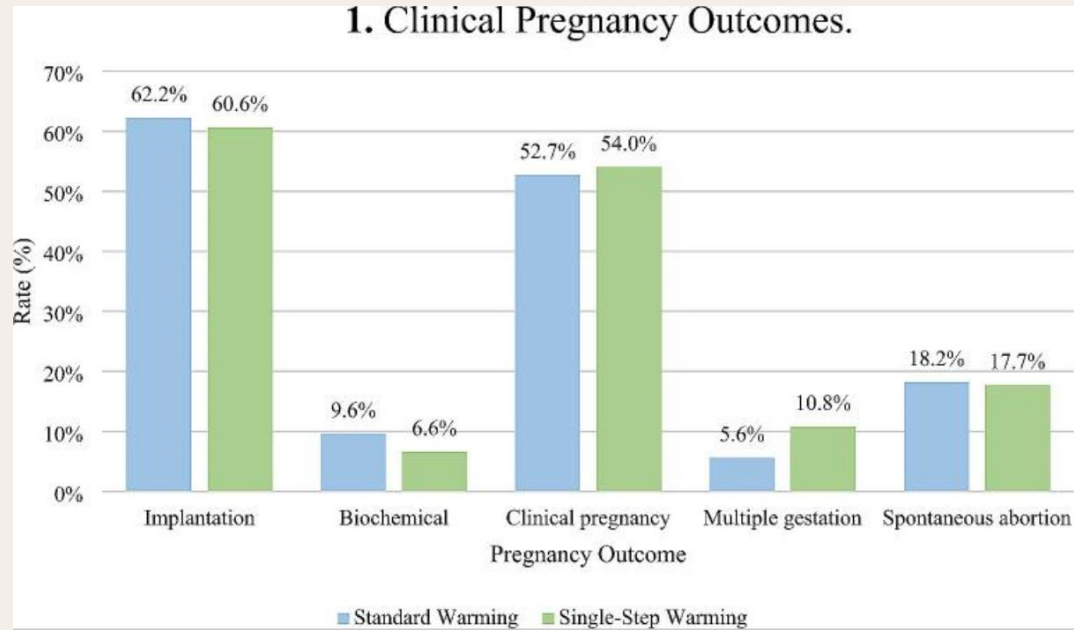
**CLINICAL VALIDATION OF A NEW, ULTRAFAST WARMING PROTOCOL, RESULTING IN EQUIVALENT IMPLANTATION RATES AND SIGNIFICANT TIME SAVINGS VERSUS ROUTINE WARMING PROTOCOL, A PROSPECTIVE RANDOMIZED CONTROL.** Jessica Manns,<sup>1</sup> Jennifer L. Patrick,<sup>1</sup> Isabelle Katz,<sup>1</sup> Taylor Holt,<sup>1</sup> Seth L. Katz,<sup>1</sup> Tyl H. Taylor.<sup>1</sup> <sup>1</sup>Reproductive Endocrinology Associates of CharlotteCharlotte, North Carolina.



- › ASRM 2022
- › RCT 200 et 100 blastocystes
- › PS Fujifilm vs 1 min en TS
- › PR et IR = NS

# Réchauffement embryonnaire ultra-rapide

Etudes +++ depuis 2021



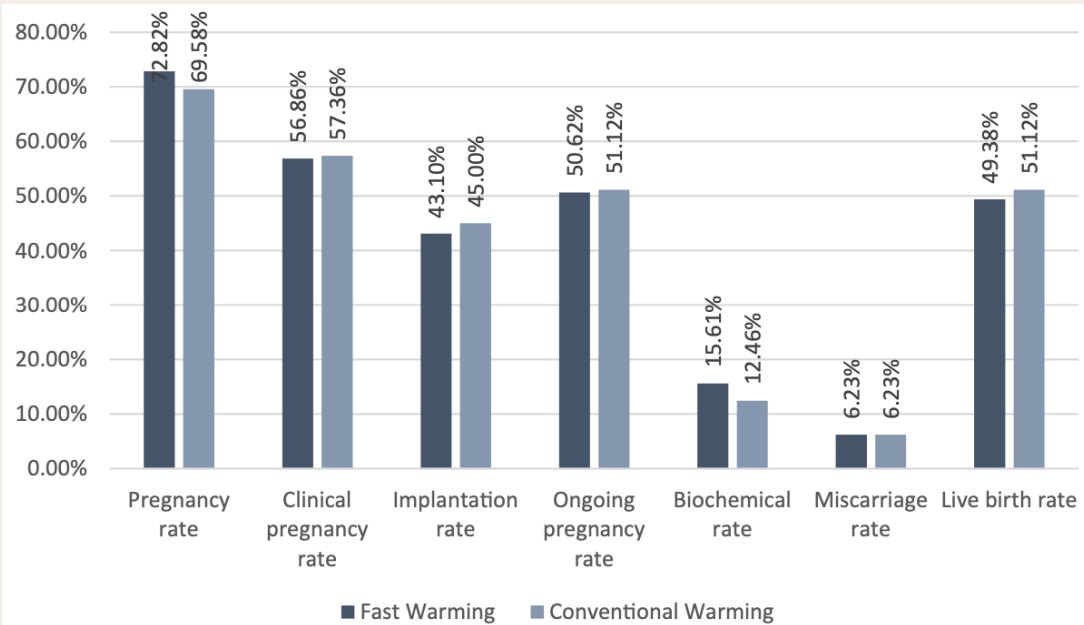
**Live birth outcomes following single-step blastocyst warming technique – optimizing efficiency without impacting live birth rates**

[Victoria S Jiang](#)<sup>1</sup>, [Panagiotis Cherouveim](#)<sup>1</sup>, [Mackenzie N Naert](#)<sup>2</sup>, [Irene Dimitriadis](#)<sup>1</sup>, [Irene Souter](#)<sup>1</sup>, [Charles L Bormann](#)<sup>1,✉</sup>

- › JARG 2024
- › rétrospectif 200 blastocystes donnés survie et expansion NS
- › Puis 376 TEC OS 376 TEC MS = LBR NS
- › PS Fujifilm vs 1 min en TS 1 M sucrose, 20% DSS, and gentamicin in a M-199 HEPES-buffered Medium

# Effect of a one-step fast warming protocol on reproductive outcomes of vitrified-warmed blastocysts

Mary Karagianni, FS 2025



# One-step warming of vitrified human cleavage and blastocyst stage embryos does not adversely impact embryo survivability and subsequent developmental potential

Shioya M., HR 2025

- › Etude randomisée 377 embryons donnés (177 clivés et 200 blastos)
- › Irvine Fujifilm : 37°C TS 1M trehalose vs TS, DS, WS
- › puis culture Eslide
- › Pas de ≠ Survie 100% NS
- › Paramètres morphocinétiques (clivés) = NS
- › Pas de ≠ viabilité cellulaire 93,9% OS vs 90,5 % MS
- › Pas de ≠ propriétés d'adhésion 95% vs 97%

- › Cohorte prospective Irvine Fujifilm
- › 802 TEC, 400/groupe : 1ml TS 1M sucrose à 37°C
- › Vs 1M, 0,5 M, 0,25 M
- › 1er TEC/couple, J5 good-quality blastocysts (AA or AB)

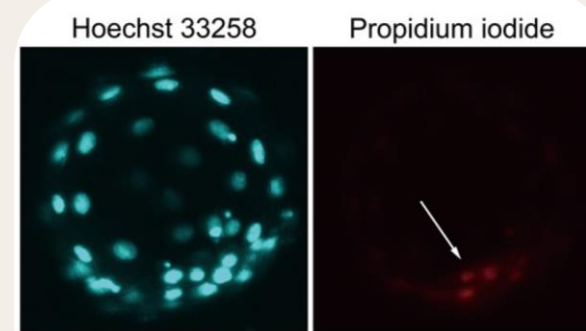


Figure 1. Representative images of Hoechst 33258 and PI staining of a blastocyst after 3h of warming. The arrow indicates dead cells stained with a solution.

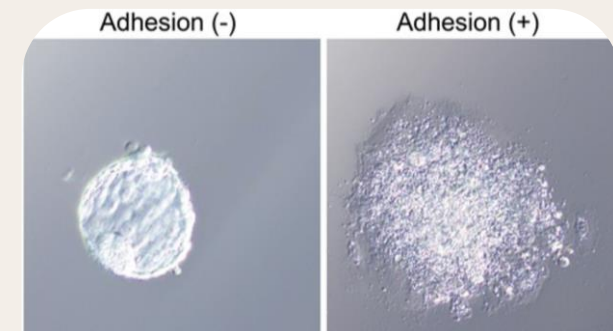


Figure 2. Representative images of embryo during the *in vitro* adhesion assay with the fibronectin-precoated dish. Embryos without visible adhesion.

# One-step warming technique for vitrified human blastocysts using commercially available thawing solutions

Kato, 2026 RBMO

- › Rétrospectif 1173 TEC
- › 573 One step vs 600 multistep
- › 1 min, 37°C
- › 3 kits warming ≠
- › **Irvine** 1M tréhalose  
(MOPS, HEPES, HSA, dextran)
- › **Kitazato** 1M tréhalose  
(HEPES-M199, HPC)
- › **Reprolife** 1 M tréhalose  
(xanthan gum, HEPES-MEM)

☞ Résultats comparables ou meilleurs en OS vs MS  
☞ Les 3 kits sont équivalents

**TABLE 2 CLINICAL OUTCOMES WITH EACH WARMING TECHNIQUE USED IN FROZEN EMBRYO TRANSFER CYCLES**

Outcomes	Multi-step warming	One-step warming (Total)	Multi-step warming versus one-step warming			One-step warming (by manufacturer)		
			P-value	Irvine	Kitazato	Reprolife	P-value	
No. of FET cycles	600	573	–	319	128	126	–	
No. of warmed blastocysts	733	659	–	373	146	140	–	
No. of transferred embryos	733	659	–	373	146	140	–	
% cryo-survival rate	100	100	–	100	100	100	–	
No. of re-expansions after 2–3 h (%)	392 (53.5)	464 (70.4)	<0.0001	265 (71.0)	90 (61.6)	109 (77.9)	0.0101	
No. of re-expansions after 4–5 h (%)	636 (86.8)	609 (92.4)	0.0009	343 (92.0)	133 (91.1)	133 (95.0)	0.4049	
Mean no. of transferred embryos	1.22 ± 0.42	1.15 ± 0.36	0.0017	1.17 ± 0.37	1.14 ± 0.35	1.11 ± 0.31	0.2855	
No. of positive pregnancies based on beta-HCG <sup>a</sup> (%)	408 (68.0)	437 (76.3)	0.0020	248 (77.7)	90 (70.3)	99 (78.6)	0.1959	
No. of implantations (%)	395 (53.9)	420 (63.7)	0.0002	234 (62.7)	91 (62.3)	95 (67.9)	0.5180	
No. of clinical pregnancies (%)	367 (61.2)	397 (69.3)	0.0042	220 (69.0)	86 (67.2)	91 (72.2)	0.6734	
No. of biochemical pregnancies (%)	41 (6.8)	40 (7.0)	1.0000	28 (8.8)	4 (3.1)	8 (6.3)	0.0958	
No. of miscarriages (%)	68 (18.5)	87 (21.9)	0.2834	47 (21.4)	21 (24.4)	19 (20.9)	0.8142	
No. of artificial abortions	3	1		1	0	0		
No. of ectopic pregnancies	1	0		0	0	0		
No. of ongoing pregnancies <sup>b</sup> (%)	295 (49.2)	309 (53.9)	0.1150	172 (53.9)	65 (50.8)	72 (57.1)	0.6040	
No. of twins at FHB (%)	23 (6.3)	19 (4.8)	0.4602	10 (4.5)	6 (7.0)	3 (3.3)	0.6293	

**TABLE 3 MULTI-VARIATE LOGISTIC REGRESSION ANALYSIS OF ONGOING PREGNANCY OF FROZEN EMBRYO TRANSFERS USING THREE BRANDS OF WARMING MEDIA**

Variable	OR	95% CI	P-value
Thawing solution (by manufacturer)			
Irvine)	Reference		
Kitazato)	0.749	0.476–1.178	0.211
Reprolife)	0.989	0.626–1.562	0.962

# Réchauffement embryonnaire ultra-rapide

ARTICLE · Volume 48, Issue 4, 103731, April 2024

[Download Full Issue](#)

## Fast and furious: pregnancy outcome with one-step rehydration in the warming protocol for human blastocysts

Juergen Liebermann <sup>a</sup> · Kristina Hrvojevic <sup>b</sup> · Jennifer Hirshfeld-Cytron <sup>a</sup> · ... · Shu Chan <sup>b</sup> · Eden Takhsh <sup>b</sup> · Meike Uhler <sup>a</sup> ... [Show more](#)

- › OPR 60,4% ↗ OS vs 55,5%
- › IR 63,6% ↗ OS vs 57%
- › FCS 4% ↘ OS VS 7,6 %



› [Reprod Biomed Online](#). 2026 Jan;52(1):105238. doi: 10.1016/j.rbmo.2025.105238. Epub 2025 Aug 31.

## Fast and furious: live birth outcomes in 1266 infants born after one-step warming of vitrified human blastocysts

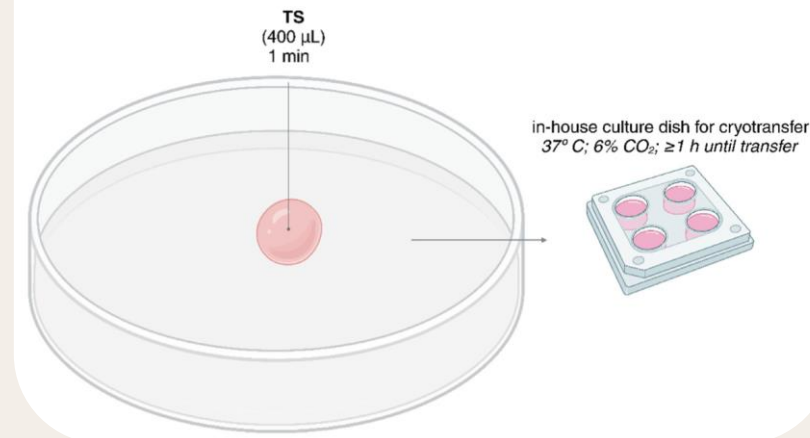


Juergen Liebermann <sup>1</sup>, Rebecca Brohammer <sup>2</sup>, Yuri Wagner <sup>2</sup>, Allison Parus <sup>2</sup>, Cynthia Macias <sup>2</sup>,

- › 2411 TEC OS vs 2606 TEC MS
- › LBR 51,3% vs 48,5% NS
- › FCS 16,1 % VS 16,5% NS
- › Age gestationnel, poids de naissance, sex ratio ... NS

### Fast blastocyst warming procedure

90 mm dish | 37° C | total time: 1 min



1 min, 1M sucrose, 37°C, platine chauffée à 38°C

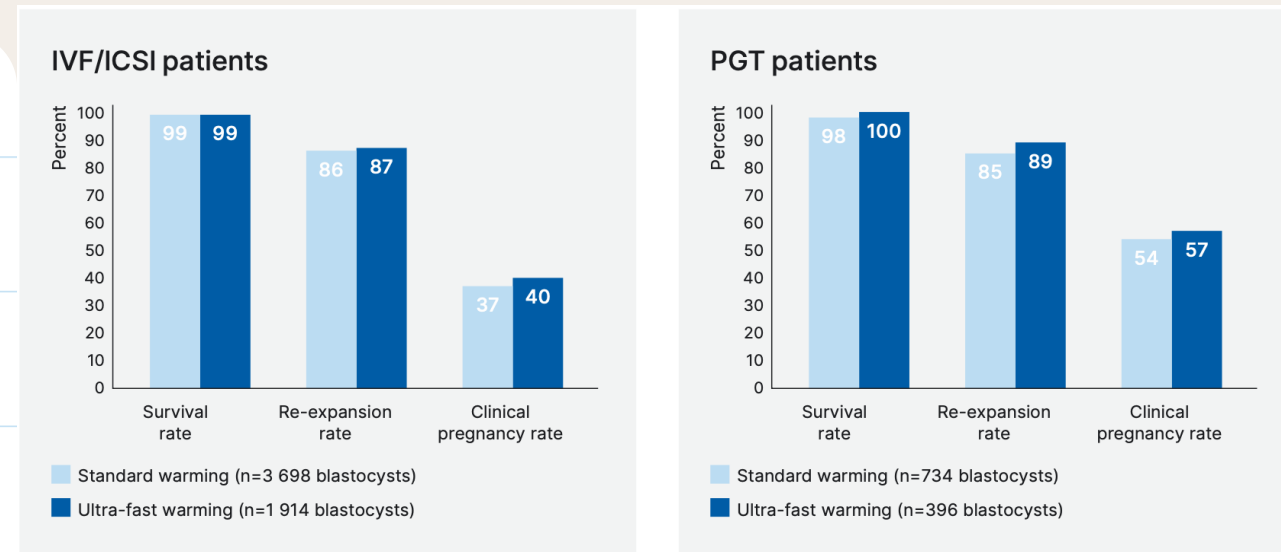
# Réchauffement embryonnaire ultra-rapide

## Données du fournisseur avec notre protocole



› Lane, Schoolcraft & Gardner, FS 1999 : sucrose 0,25M suffit

<b>Multicentre pre-clinical validation of warming procedures for human blastocysts involving a short exposure to a single sucrose solution shows promising survival, re-expansion and continued development</b>	Gunst J., Ahlstrom A.
<b>Rapid warming of human blastocysts: Is 1M sucrose the only choice?</b>	Liebermann J., Wagner Y., Pantos M., Susralski A., Brohammer R., Joris H.
<b>Rapid warming of non-biopsied vs biopsied blastocysts: Is there a need for assisted hatching?</b>	Liebermann J., Wagner Y., Pantos M., Susralski A., Brohammer R., Joris H.
<b>Ultra-rapid warm: A pre-clinical comparative analysis of the effects of different sucrose concentrations on blastocyst survival, re-expansion and development post-warm</b>	Emeny-Smith K., Proctor J.G., Larman M.G., Kirkpatrick S.
<b>Evaluation of a rapid warming protocol for human vitrified blastocysts</b>	Van Landuyt L., Van Asbroeck J., Wouters K., De Munck N.
<b>Validation of single-step warming for human blastocysts shows successful results are independent of the sucrose concentration used</b>	Abu ali K., Ahlström A.



UZB abstract 2024. 5716 TEC single step 0,25M **2 minutes** VITROLIFE vs Fujifilm Irvine VitKit Warm NX 12 minutes : survie réexpansion CPR identiques dans les 2 groupes

ESHRE 2023. single step 0,25M, 0,5M, ou 1M de sucrose à 37°C (**1 ou 2 minutes**)(1mL ou 0,2 mL). survie et réexpansion identiques qq soit concentration en sucrose, volume ou durée du warming

👉 d'autres concentrations de CPA NP sont possibles pour OS

# Réchauffement embryonnaire ultra-rapide

## Données du fournisseur avec notre protocole

> [Reprod Sci.](#) 2025 Feb;32(2):495-501. doi: 10.1007/s43032-024-01762-x. Epub 2025 Jan 9.

### Ultra-Fast Warming Procedure of Vitrified Blastocysts Results in Maintained Embryology and Clinical Outcomes

Jenna Lammers<sup>1 2</sup>, Arnaud Reignier<sup>1 2</sup>, Sophie Loubersac<sup>1 2</sup>, Maxime Chaillot<sup>1</sup>, Thomas Freour<sup>3 4</sup>

**Group 1**  
Conventional warming  
protocol  
(Jan-Jun 2022, n=547 FBT  
cycles, 578 embryos)

**Group 2**  
Ultrafast warming protocol  
(Aug-Oct 2022, n=321 FBT  
cycles, 336 embryos)

*p*

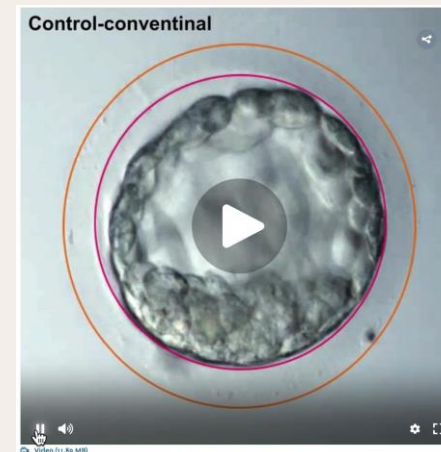
	Group 1	Group 2	<i>p</i>
Survival rate (%)	97.6	97.8	>.05
Expansion rate (%)	80.5	80.3	>.05
Biochemical pregnancy rate (%)	41	42	>.05
Pregnancy loss rate (%)	29.9	29.6	>.05
Clinical pregnancy rate (%)	38.2	39.2	>.05
Live birth rate (%)	28.7	29.6	>.05

# Réchauffement embryonnaire ultra-rapide

## Pourquoi ça fonctionne ?

- › Concentration intracellulaire en CPA après vitrif plus basse qu'en SF Vanderzwalmen 2013
- › Majorité des CPA sortirait durant la première étape du réchauffement
- › Impact exposition moins longue aux CPA et aux conditions suboptimales (température et osmolarité) moins de temps hors incubateurs
- › Retour plus rapide à des conditions physiologiques
- › Plasticité de perméabilité membranaire des blastocystes, capacité à résister au stress osmotique

Edashige, 2016    Schiewe, 2025



WS



Recovery medium

Ezoe, 2025

03

---

## Expérience Lyonnaise

---

Mise en place du protocole de réchauffement « one step »

# Notre centre

## Activité

- › ≈ 1000 cycles annuels
- › 4-5 /jour lundi mardi et mercredi
- › 7-9 jeudi et vendredi



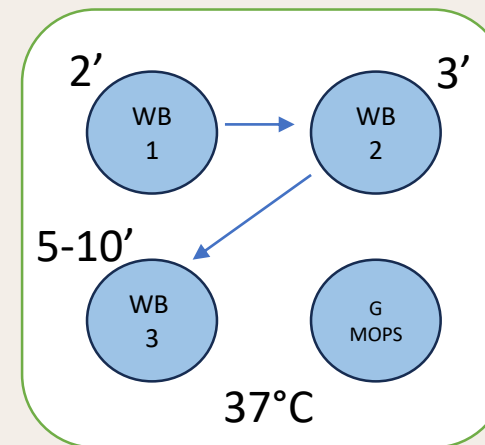
## RapidVit™ Blast kit + Rapid-i™

- › Vitrification à 37°C
- › MOPS, HSA, hyaluronan, gentamicine
- › ES = EG + PROH 8%
- › VS = EG + PROH 16% + sucrose 0,65M

# Protocole standard

## RapidWarm™ Blast kit (Vitrolife)

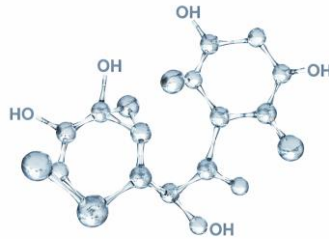
- › WB 1 : 0,25 M sucrose 2'
- › WB 2 : 0,125 M sucrose 3'
- › WB 3 : absence de sucrose 5'
  
- › Boite de transfert G-TL (Vitrolife)  
800 µL
  
- › Evaluation T0, T30', T2H



# Protocole ultra-rapide « one step »

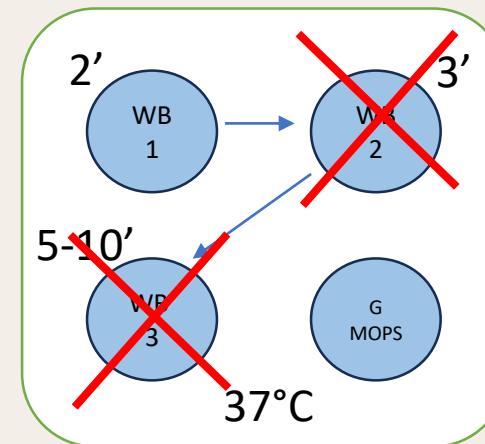
## Ultra RapidWarm™ Blast kit (Vitrolife)

› Etape unique 0,25 M sucrose 37°C



› Passage boîte de transfert G-TL 800 µL (Vitrolife) après rinçage

› Evaluation T0, T30', T2H idem PS



2'

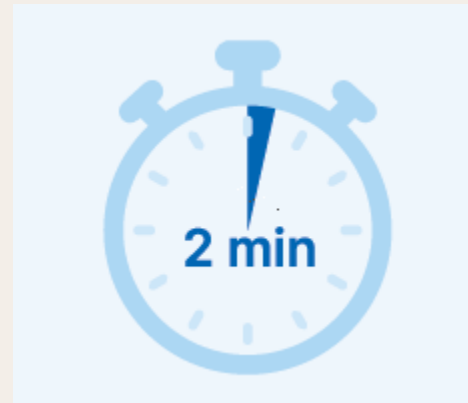
# Protocole ultra-rapide « one step »

## Preparation



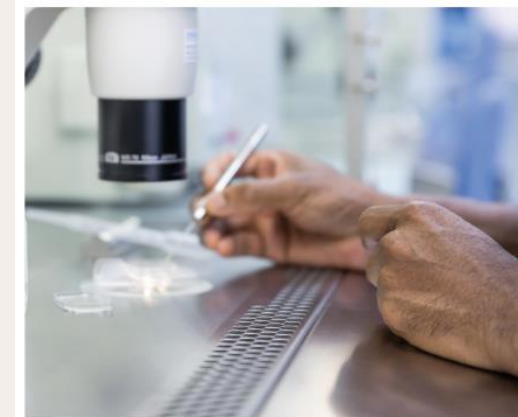
Place at least 0.5 ml and up to 1 ml of warming solution into a dish and warm it to 37 °C.

## Warming



Leave the blastocyst in the solution for **2 minutes**.

## Post-warming



Wash the blastocyst several times with a culture medium, or transfer medium, then incubate until further use.

Gain de temps à la paillasse : 8' par réchauffement

👉 **entre 30' et > 1 h/jour**

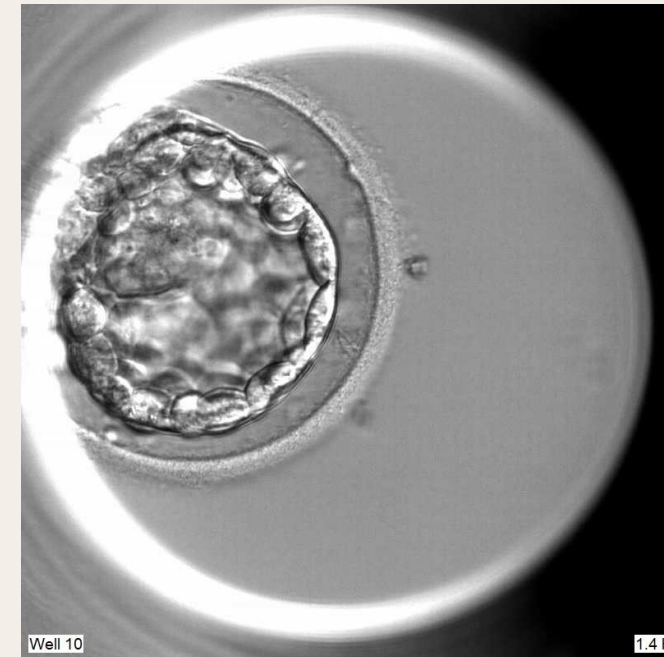
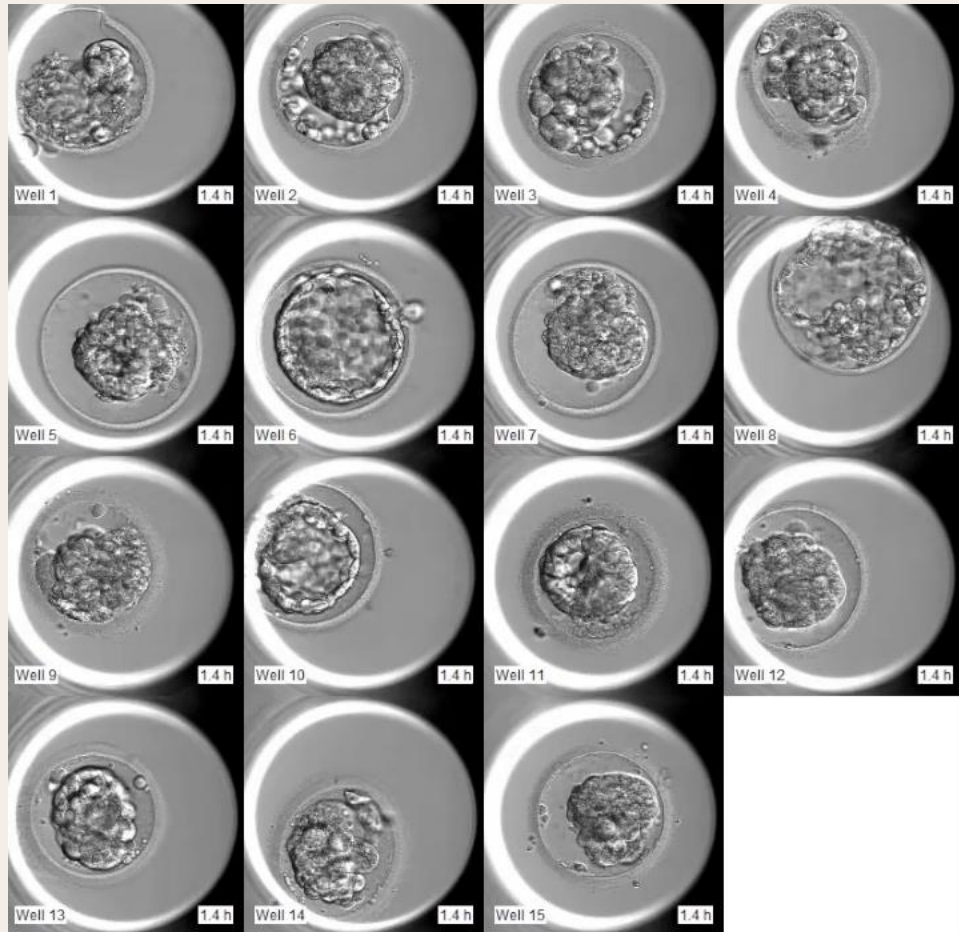
# Etude préliminaire

---

## Protocole

- › Décembre 2024 : 60 dévitrifiés  
dont 15 observés en incubateur Time Lapse
- › Avec WB 1 (avant disponibilité marquage CE Ultra RapidWarm™ Blast kit)

# Etude préliminaire : observation Time lapse



# Etude préliminaire

---



## Résultats préliminaires

- › Taux de survie 98,3% en URWB versus 97,8% en moyenne sur année 2024 = NS
- › Réexpansion complète 78,3% à 2h

Utilisation protocole court « one step » en routine à partir Janvier 2025

# Objectifs

---

- Non infériorité des taux de survie par embryon réchauffé
  - Non infériorité taux de grossesse / TEC
  - Taux de FCS précoces ?

# Résultats

## Analyse univariée par cycle



n = 1085 cycles « Standard »  
n = 1009 cycles « Rapide »

Réchauffement embryonnaire	Standard	Rapide	P value	Total
Effectif	1085	1009		2094
Age femme	34,95 ± 4,56	35,56 ± 4,50	0,0020	35,24 ± 4,54
BMI	25,76 ± 5,69	25,59 ± 5,66	0,5235	25,67 ± 5,67
Infertilité primaire, % (n)	69,5 (751)	67,6 (671)	0,3321	68,6 (1422)
Tabac femme (en cours)	18,5 (171)	17,9 (153)	0,9212	18,2 (324)
Protocole, % (n)				
Cycle naturel	0,3 (3)	0,3 (3)	0,7029	0,3 (6)
FSH	6,8 (74)	8,4 (85)		7,6 (159)
TEC patch	69,0 (749)	67,9 (685)		68,5 (1434)
THS	23,7 (257)	23,3 (235)		23,5 (492)
Vivelledot	0,2 (2)	0,1 (1)		0,1 (3)
Origine des embryons, % (n)				
FIV	18,2 (197)	17,2 (173)	0,4941	17,7 (370)
ICSI	77,1 (836)	77,0 (773)		77,1 (1609)
Mixte (FIV & ICSI)	4,7 (51)	5,8 (58)		5,2 (109)
Embryons total (cycle frais)	10,04 ± 5,41	10,52 ± 6,51	0,0661	10,27 ± 5,97
Epaisseur endomètre (mm)	9,34 ± 2,05	9,18 ± 2,10	0,0878	9,26 ± 2,07

# Résultats

## Analyse univariée par cycle

Réchauffement embryonnaire	Standard	Rapide	P value	Total
<b>Embryons transférés</b>	1,21 ± 0,43	1,15 ± 0,36	<b>0,0005</b>	1,18 ± 0,40
Taux de transfert, %	99,14 ± 6,46	99,37 ± 5,55	0,3968	99,25 ± 6,04
Transfert, % (n)	99,6 (1081)	98,9 (998)	0,0900	99,3 (2079)
Stade de congélation, % (n)				
J5	81,6 (880)	82,3 (821)	0,8858	81,9 (1701)
J6	16,3 (176)	15,5 (155)		15,9 (331)
Mixte	2,1 (23)	2,2 (22)		2,2 (45)
<b>Nb embryons transférés</b>				
SET	80,6 (870)	85,9 (857)	<b>0,0015</b>	83,1 (1227)
DET	19,4 (210)	14,1 (141)		16,9 (351)
Grossesse clinique (Beta hCG > 100)	32,6 (352)	35,6 (355)	0,1659	34,0 (707)
FCS précoce (< 12 SA)	31,5 (111)	27,3 (97)	0,3021	29,4 (208)
Grossesse échographique (AC+)	27,7 (299)	27,7 (276)	1	27,7 (575)



# Résultats

## Analyse univariée par cycle

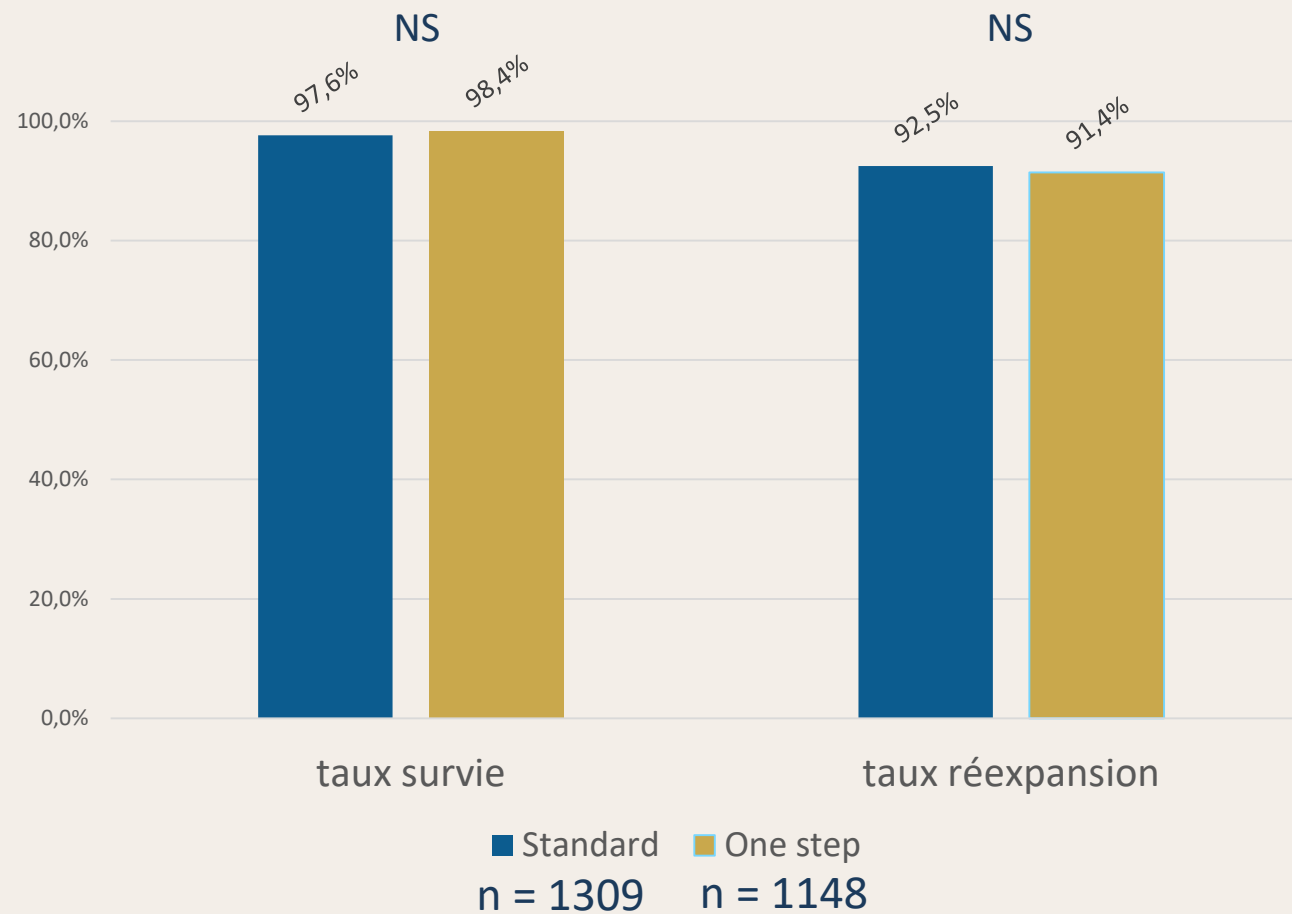
Réchauffement embryonnaire	Standard	Rapide	P value	Total
Effectif	1085	1009		2094
Age femme	34,95 ± 4,56	35,56 ± 4,50	0,0020	35,24 ± 4,54
Nb Embryons transférés	1,21 ± 0,43	1,15 ± 0,36	0,0005	1,18 ± 0,40
Grossesse clinique (Beta hCG > 100)	32,6 (352)	35,6 (355)	0,1659	34,0 (707)
FCS précoce (< 12 SA)	31,5 (111)	27,3 (97)	0,3021	29,4 (208)
Grossesse échographique	27,7 (299)	27,7 (276)	1	27,7 (575)



BMI, infertilité primaire, tabagisme,  
protocole, origine embryons  
(FIV/ICSI/mixte),  
nb embryons total, épaisseur  
endomètre, stade congélation  
(J5/J6/mixte)

# Résultats

## Analyse univariée par embryon réchauffé



# Analyse multivariée : grossesse clinique

Variable	Odd Ratio	IC Odd Ratio à 95%	P value
Warming			
Standard	-	-	-
Rapide	1,27	[1,0420 ; 1,5456]	0,0179
Rang	0,94	[0,8513 ; 1,0452]	0,2702
Age femme	0,96	[0,9353 ; 0,9763]	<0,0001
Epaisseur endomètre	1,05	[1,0033 ; 1,0989]	0,0355
Après Freeze all			
Non	-	-	-
Oui	1,03	[0,8954 ; 1,3321]	0,3228
Nombre embryon total (frais)	1,01	[0,9951 ; 1,0291]	0,1644
Nombre embryon transféré	1,67	[1,2701 ; 2,1971]	0,0002
Stade de congélation			
J5	-	-	-
J6	0,66	[0,4966 ; 0,8785]	0,0047
Mixte	0,55	[0,2577 ; 1,1054]	0,1032



# Analyse multivariée : grossesse échographique

Variable	Odd Ratio	IC Odd Ratio à 95%	P value
Warming			
Standard	-	-	-
Rapide	1,09	[0,8819 ; 1,3364]	0,4382
Rang	0,97	[0,8593 ; 1,0881]	0,6083
Age femme	0,96	[0,9446 ; 0,9813]	0,0015
Epaisseur endomètre	1,06	[1,0106 ; 1,1117]	0,0164
Après Freeze all			
Non	-	-	-
Oui	1,06	[0,8139 ; 1,3007]	0,5992
Nombre embryon total (frais)	1,01	[0,9970 ; 1,0324]	0,1017
Nombre embryon transféré	1,54	[1,1547 ; 2,0374]	0,0029
Stade de congélation			
J5	-	-	-
J6	0,73	[0,5405 ; 0,9871]	0,0441
Mixte	0,54	[0,2328 ; 1,1429]	0,1247



# Résultats

## Univariée

- › Taux de survie/ER non inférieurs
- › Taux de réexpansion/ER non inférieurs
- › Taux de  $\beta$  +/TEC non inférieurs
- › Taux de G. évol/ TEC non inférieurs
- › Pas d'impact sur les FCS



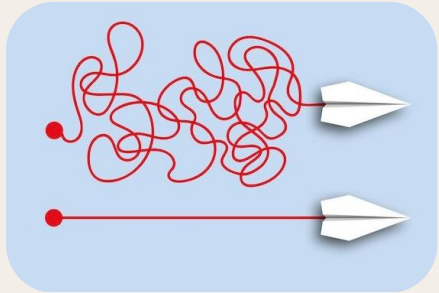
## Régression logistique

Fast Warming n'impacte pas négativement les chances de grossesses cliniques ou échographiques

Dévitricification en une seule étape NE COMPROMET PAS les résultats par embryon réchauffé et par cycle

⚠ Pas de recul sur les naissances vivantes à ce stade

# Avantages en pratique



- › Simplification au quotidien ✓

Moins de manipulations : 3 bains => 1 seul bain

- › Evolution technique cohérente avec la standardisation des laboratoires AMP ✓

Réduction de la variabilité inter-opérateur et inter-labo

- › Gain de temps et optimisation du workflow au laboratoire ✓

Intéressant pour centres à activité importante

- › Sécurité ✓

Moins de risque d'erreur (un seul milieu)



# Points de vigilance

---

- ⚠️ Contrôle strict de la **température**
- ⚠️ Validation interne obligatoire
- ⚠️ Formation/habilitation du personnel



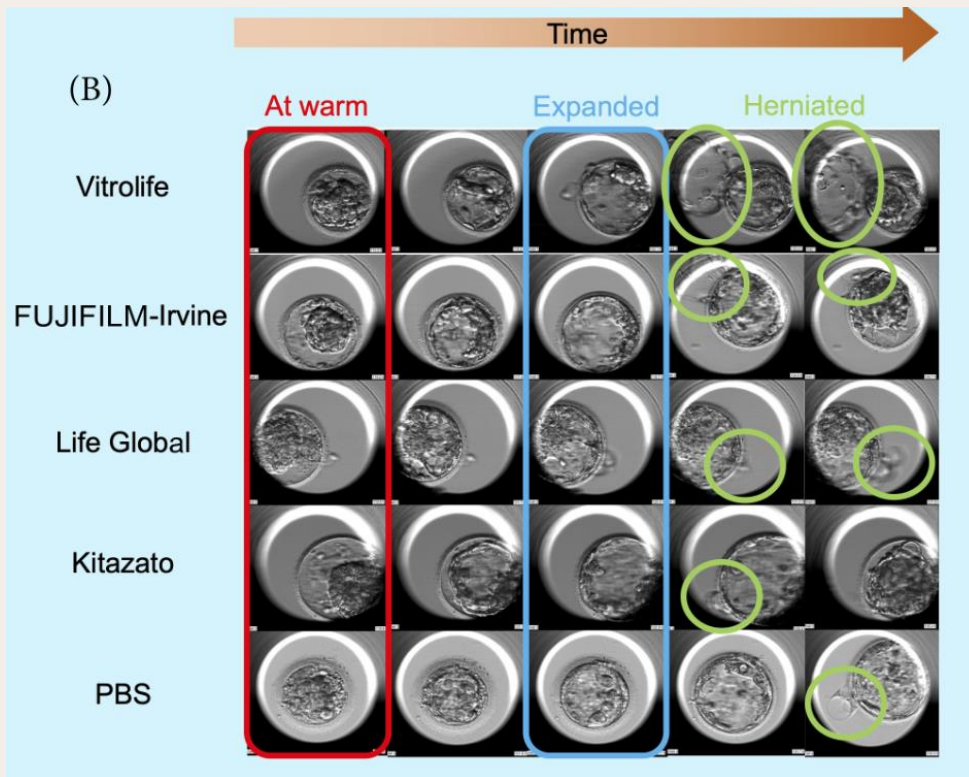
Simplification/optimisation OUI mais  
**phase de réchauffement reste biologiquement CRITIQUE**

# Et demain ?

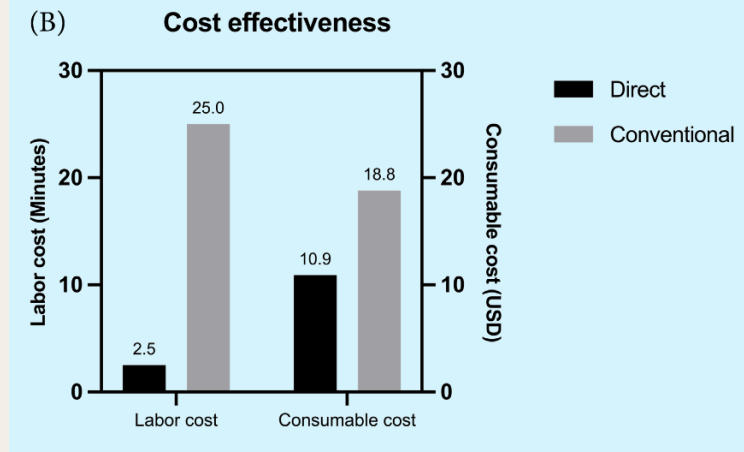
## Live Birth Resulting from the Direct Warming and Direct Rehydration of Vitrified Human Blastocyst in Embryo Culture Medium: A Pilot Study

Chan, FS 2025

1mL, 37°C



Brand of the one-step Media	Osmolality	Guarantee range	No of Blastocyst tested
Vitrolife GTL	268	270±5	28
FUJIFILM-Irvine	260	260-270	8
Life Global	265	260-270	8
Kitazato	270-295	270-295	8
PBS	270-290	NA	11
Total Blastocyst tested			63
(survival rate):			100%



# Et demain ?



1 RBMO VOLUME 52 ISSUE 1 2026 105219

# RBMO

COMMENTARY

## Fast to fastest: single-step sucrose dilution to direct hydration of vitrified-warmed human blastocysts

Mitchel C Schiewe\*



- › 137 blastos
- › 1 mL, 1 minute, 1M sucrose vs G-MOPS
- › Dont 66 re-vitrifiés en UFV et réchauffés direct ou 1M sucrose
- › Survie, développement et IR =
- › Ps:Lp  $\approx 1$

- › Réhydratation directe en milieu de culture à 37°C est tolérée par les blastomères
- › Echange entre CPA et eau : CPA sortent aussi rapidement que l'eau rentre
- › Résistance blastomères au stress osmotique



# Merci de votre attention

Merci à toute l'équipe du service de Médecine de la Reproduction et Préservation de la Fertilité du CHU de Lyon  
notamment au Dr M. Benchaib

