



CENTRE SAINTE-COLETTE  
MÉDECINE ET BIOLOGIE DE LA REPRODUCTION  
HÔPITAL SAINT JOSEPH MARSEILLE

# VITRIFICATION ET RÉCHAUFFEMENT ULTRA-RAPIDE DES OVOCYTES

Journée BLEFCO DES TECHNICIENS ET BIOLOGISTES

27 MARS 2026

*Ne pas reproduire*

# CONTEXTE

15 ans après l'autorisation de la vitrification ovocytaire en France

- Vitrification ovocytaire : transformation de l'eau intracellulaire en état vitreux amorphe en évitant la formation de cristaux de glace.
  - Augmentation de la concentration en cryoprotecteurs
  - Déshydratation de l'ovocyte
- Dévitrification : élimination progressive des cryoprotecteurs, réintroduction de l'eau
- Apparition d'une méthode ultra rapide de vitrification/réchauffement sur le marché: un enjeu d'actualité
- Enjeux :
  - Toxicité des cryoprotecteurs
  - Variation de volume et stress osmotique

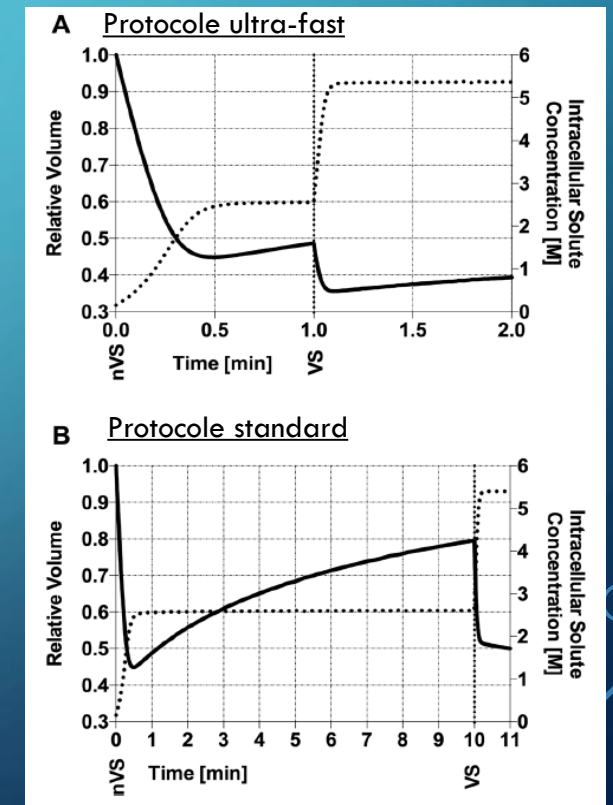
Ne pas reproduire



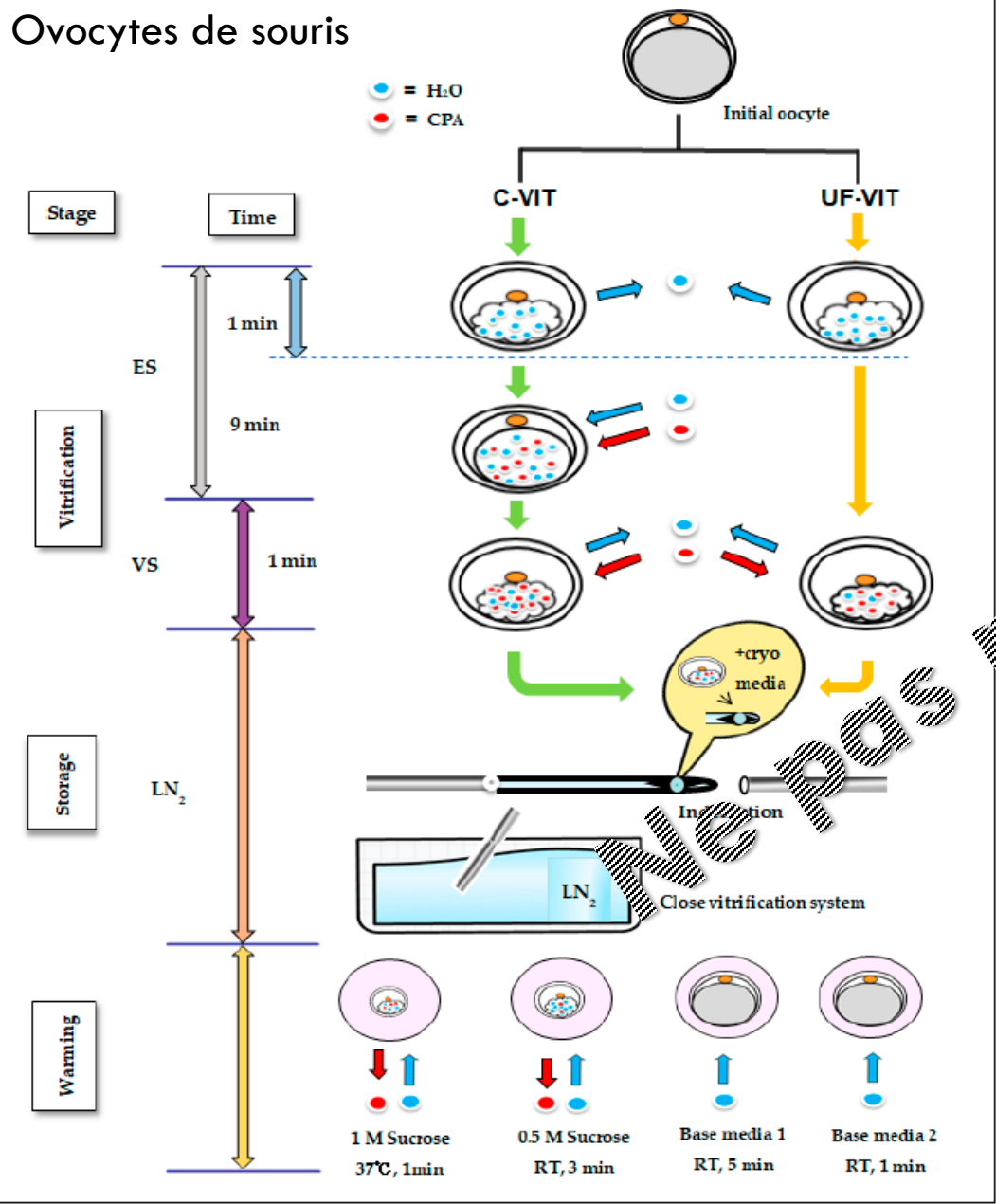
# PRÉSENTATION PRINCIPE VITRIFICATION ET DÉVITRIFICATION ULTRA-FAST

- Gallardo et al (2019) : étude in silico et in vitro des temps,
  - 1 min d'incubation dans une solution contenant le CPA à concentration  $\frac{1}{2}$  par rapport à la concentration finale suffit pour une dévitrification cellulaire continue et intense
  - Limite la durée d'exposition de l'ADN ovocytaire au CPA à T°C ambiante
- Schiewe et al (2024) : étude sur ovocytes humains (VG) maturés in vitro

		(a)	(c)	(d)	(e)	
		Duration of exposure	Intracellular Molarity	Permeated CPAs' contribution to total intracellular molarity	$\frac{\text{Cell Volume}}{\text{Initial Cell Volume}}$	$\frac{\text{Water Volume}}{\text{Initial Active Water Volume}}$
		(min)	mol/L	(%)	(%)	(%)
Protocole standard	nVS	10	2.61	92.1	79.4	63.7
	VS	1	5.40	92.5	49.9	26.6
Protocole UF	nVS	1	2.56	83.5	48.6	31.6
	VS	1	5.37	88.5	39.2	17.7



# Ovocytes de souris

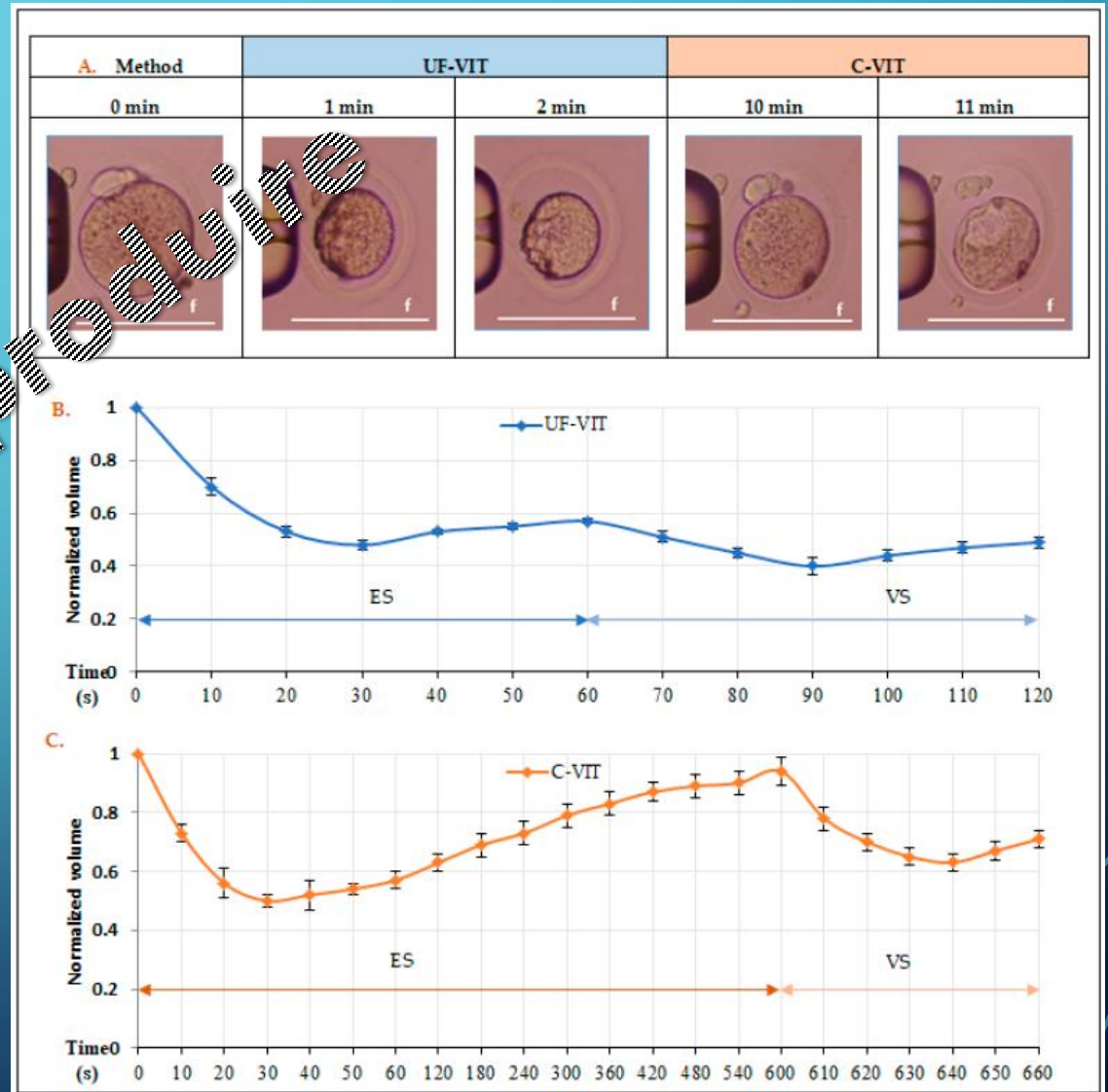


Cho et al, 2024, Int. J. Mol. Sci.

Phénomène de « contraction-contraction »

avec réduction massive du volume

Expulsion des molécules d'eau par gradient osmotique

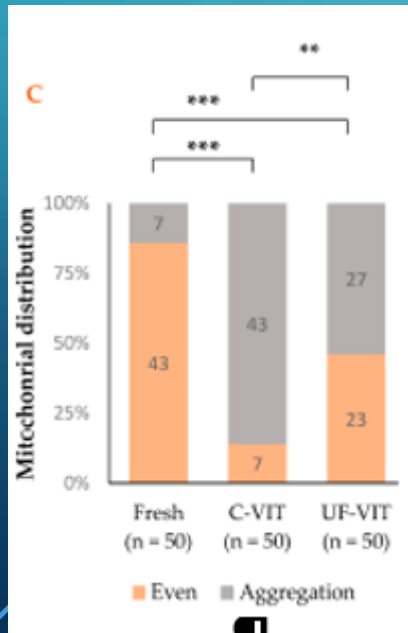
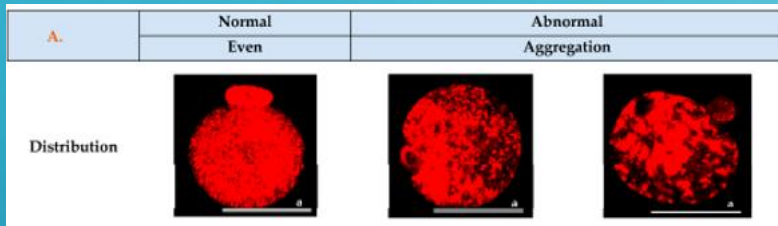


# CHO ET AL (2024) :

## Étude sur l'intégrité des ovocytes souris 2-3h post-réchauffement :

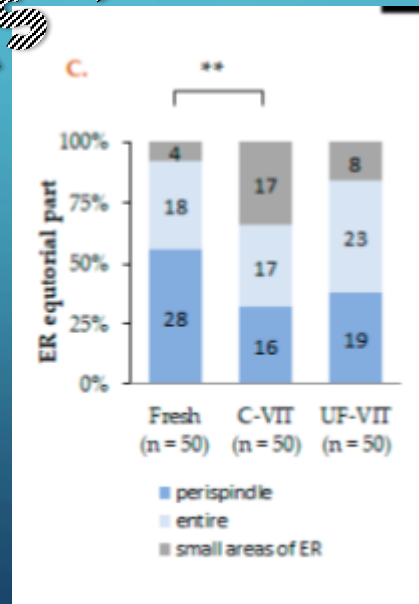
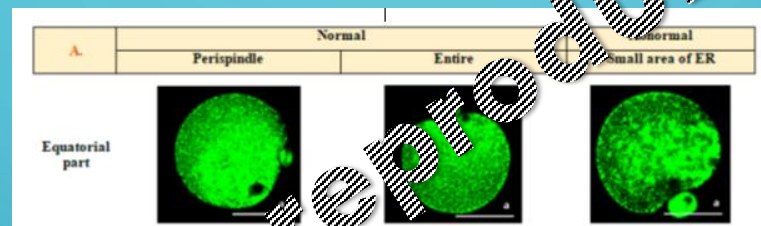
### Les mitochondries

Risque de diminuer l'approvisionnement en ATP nécessaire au développement embryonnaire

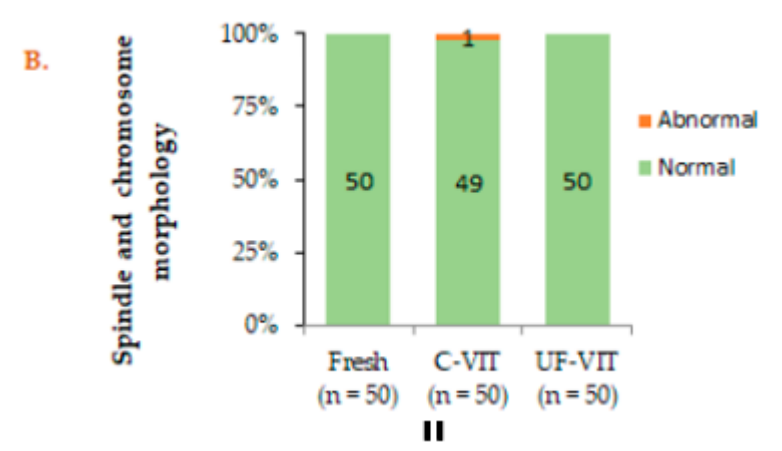


### Le réticulum endoplasmique

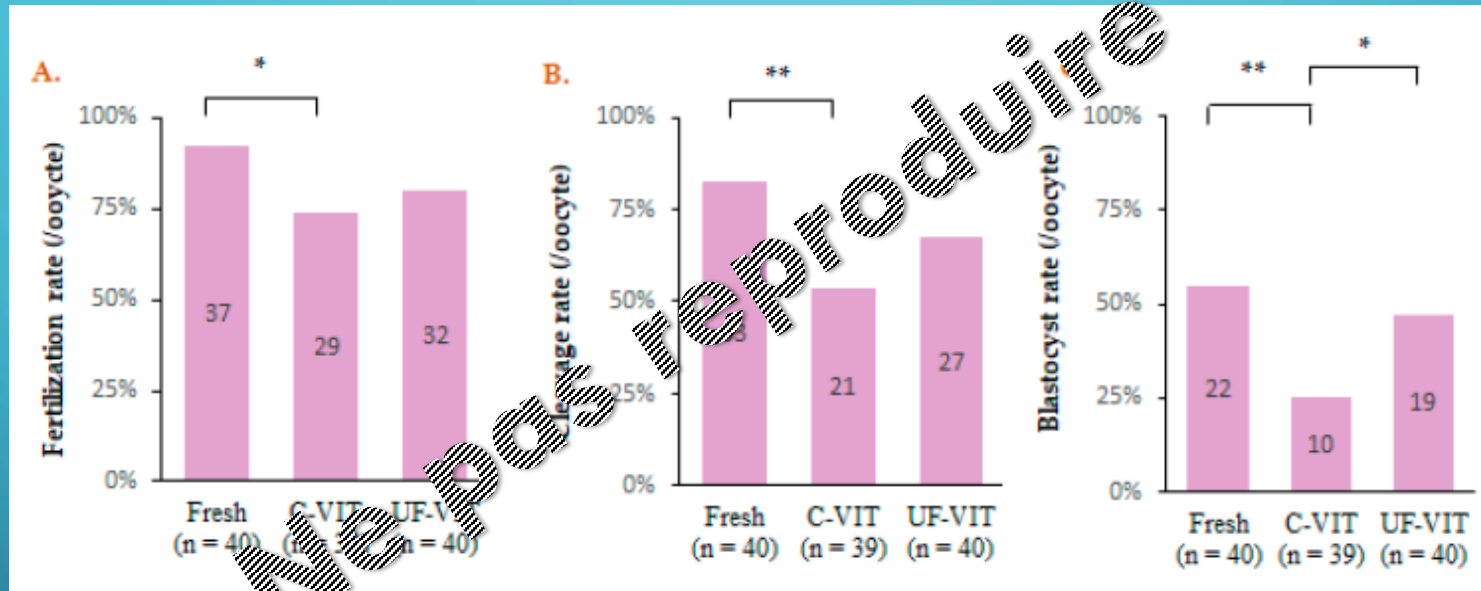
Risque de compromettre l'activation de l'ovocyte car responsable libération Ca<sup>2+</sup>



### Le fuseau



# CHO ET AL (2024) : Étude sur l'intégrité des ovocytes souris 2-3h post-réchauffement :



- CPA délétères sur les fonctions énergétiques et structurales de l'ovocyte (MT, RE, spindle) ... si contact prolongé.
- Etape clé de la vitrification : déshydratation cellulaire ... atteinte physiologiquement dès 1 min de contact avec la solution d'ES

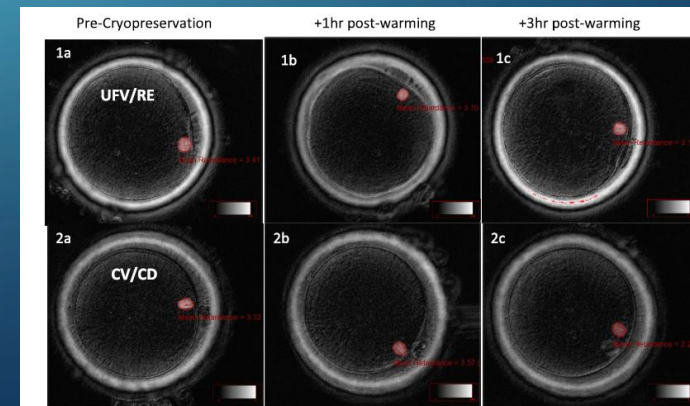
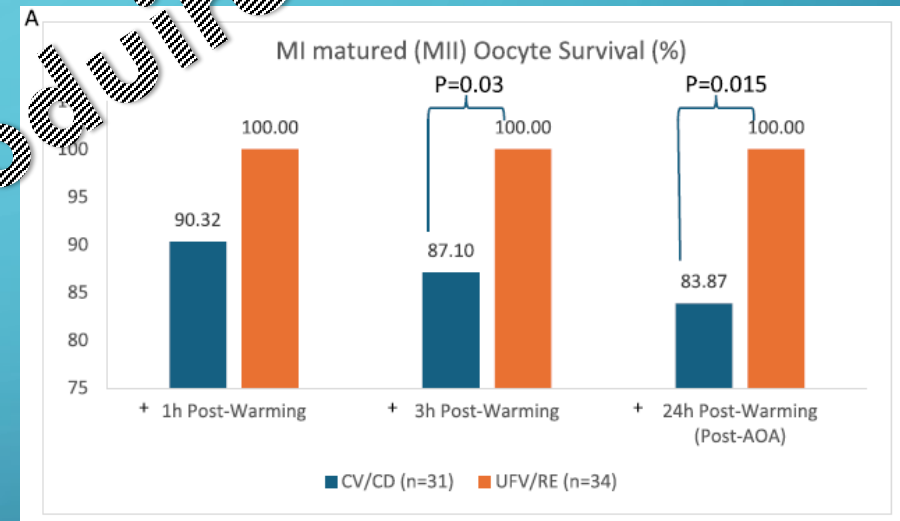
# WOSNIAK ET AL (2024, RBMO): Étude sur des ovocytes humains

VG muries,  
Méta1 devenues Méta2  
Méta2 de faible qualité

Meilleure survie

Ne pas reproduire

Fuseau intact après observation à l'oosight



# PLUSIEURS POSTERS PRÉSENTÉS PAR LE FOURNISSEUR

- Aydin et al (poster 2024) : étude prospective sur ovocytes de donneuses. Taux de survie : 100 % pour UFV (n=531) contre 94,5 % pour SV (n=634). Meilleurs taux de blastulation et de grossesse.
- Hudkova et al (poster 2024) : étude prospective sur ovocytes de donneuses avec comparaison entre frais/SV et UFV. Meilleurs taux de fécondation. Taux d'embryons euploïdes : pas de différence significative.
- Kotliarova et al (poster ESHRE 2025): Ovocytes humains en programme de don. Des résultats chez les receveuses selon si ovocytes SV/SW ou UFV/UFW. Avantage au programme UF (Tx de survie, Tx de fec°, Tx de blastulation)

# COMMENT RÉCHAUFFER LES OVOCYTES VITRIFIÉS DE FAÇON STANDARD CES 15 DERNIÈRES ANNÉES ?

## Situations hybrides rencontrées en pratique

Costa Borges et al (2025) :

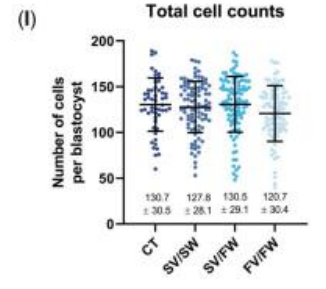
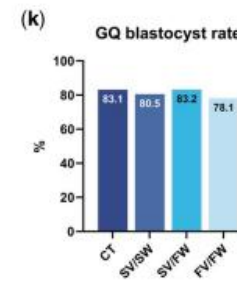
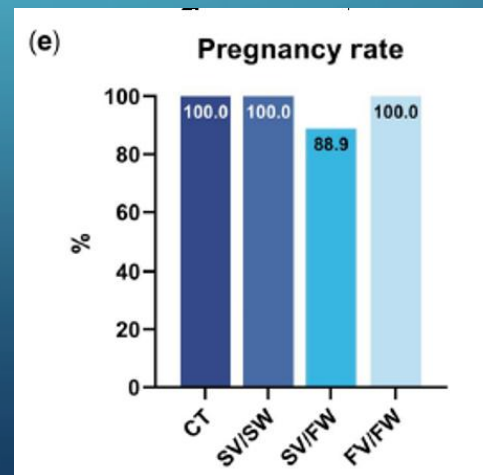
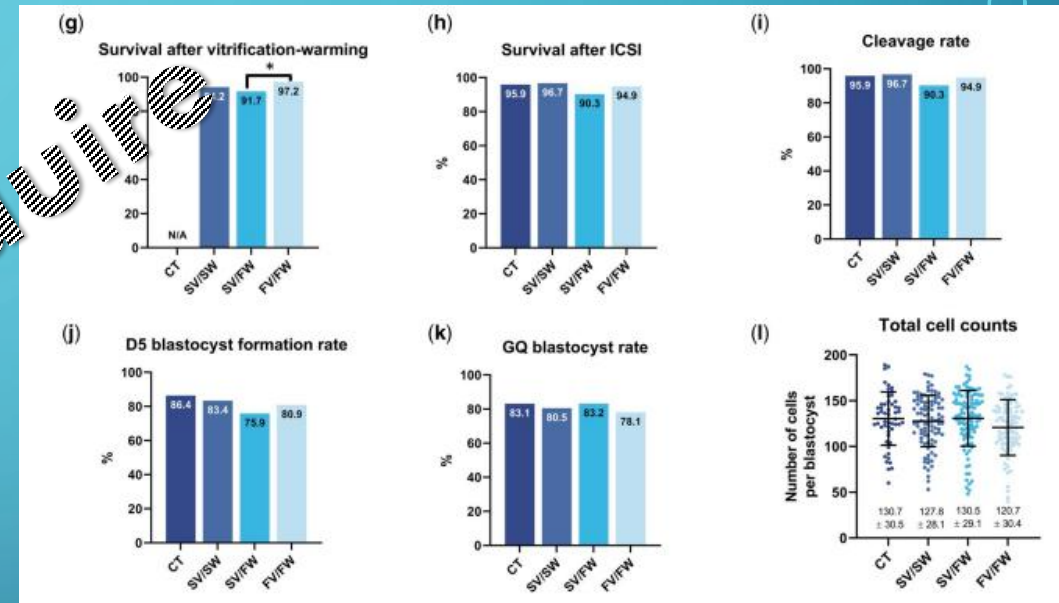
étude pré-clinique sur > 800 ovocytes de souris

3 situations :

- SV / SW,
- UFV / UFW
- SV / UFW

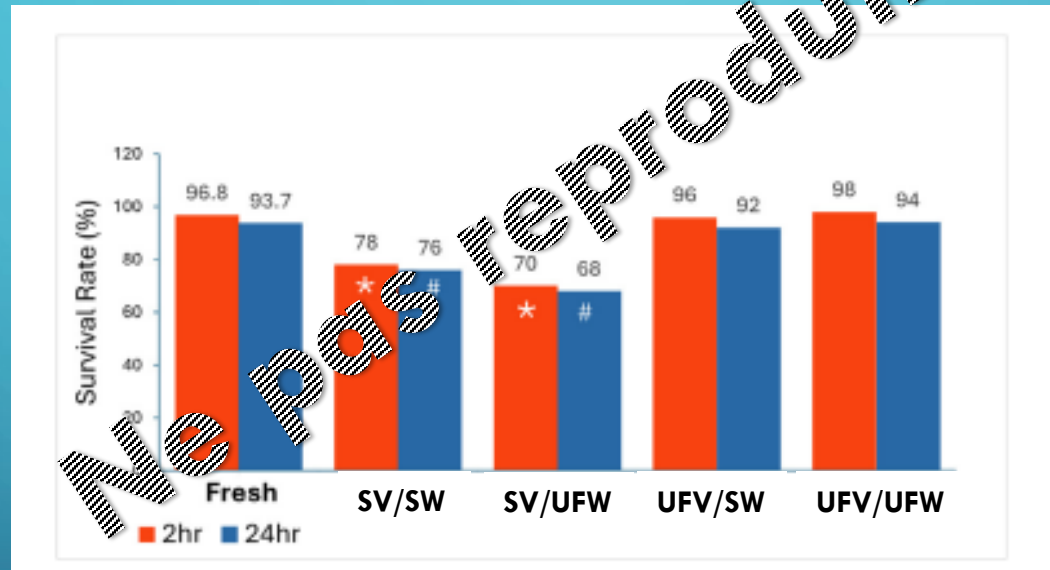
**La situation SV/UFW ne semble pas favorable**

Ne pas reproduire



Schiewe et al (2024): ce qui existe chez l'humain en étudiant des VG

**La situation SV/UFW ne semble pas favorable**



Costa Borges et al (2025) :

Ovocytes humains immatures (VG et Meta1, écartés d'ICSI, ayant muri secondairement)

Confirmation des données « in silico » de 2019

Protocoles UFV/UFW limitent les oscillations du volume cytoplasmique

Ne pas reproduire

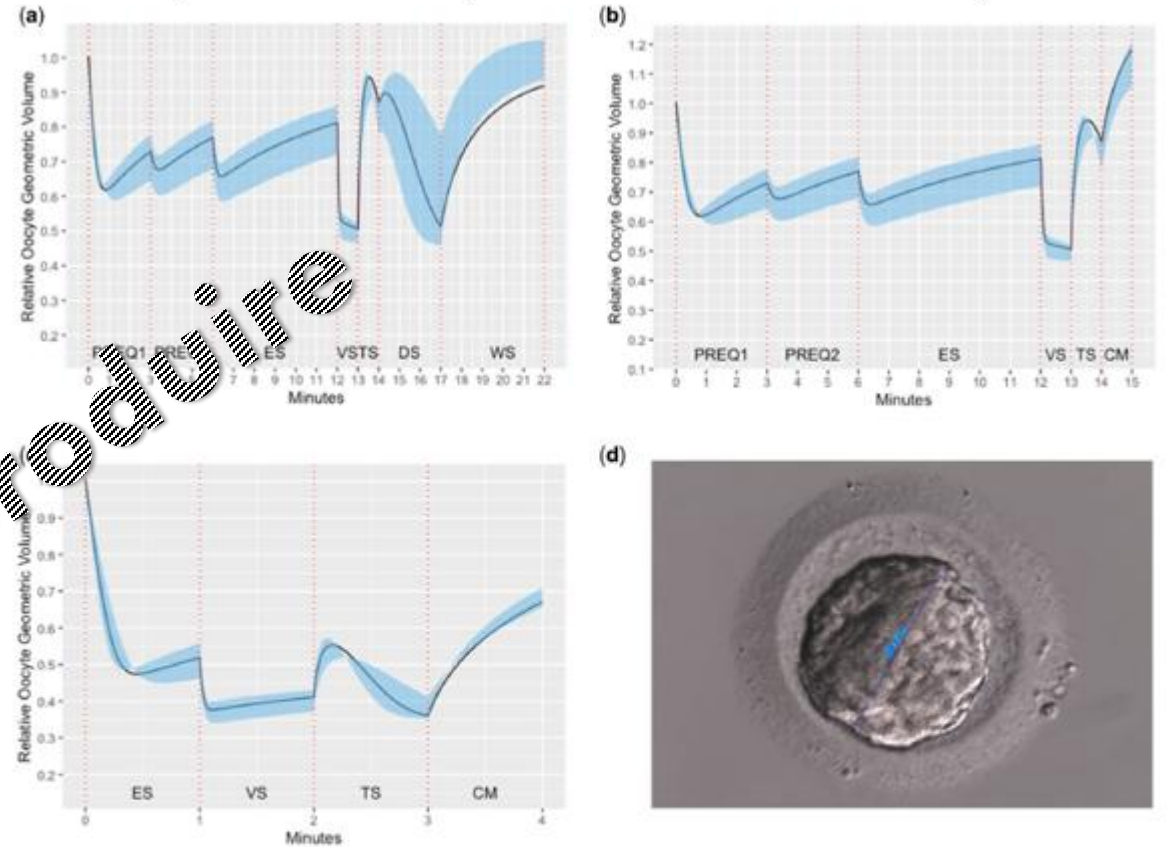


Figure 5. Simulations of the expected osmotic behavior of a human oocyte when exposed to three different cryoprotectant solution protocols (a-c). The y-axis in each graph (a-c) represents the relative geometric volume of the oocyte where shrinkage and swelling reflect the degree of dehydration, which correlates with osmolarity. The red dotted lines indicate the transition points between different cryoprotectant solutions. The black line shows the average expected values, while the blue ribbon represents the standard deviation. Note that in some regions of the graph, the expected values (black line) fall over the standard deviation range, due to the curvilinear relationship between permeability to water and CPAs and the oocyte's osmotic behaviour. All simulations conducted at 25°C except for the TS step, which is at 37°C. Panel (a) illustrates the response under the standard vitrification and standard warming (SV/SW) protocol, panel (b) represents the standard vitrification and fast warming (SV/FW) protocol, and panel (c) depicts the fast vitrification and fast warming (FV/FW) protocol. Panel (d) illustrates the morphological appearance of a human oocyte after the 60 s exposure to the ES solution in the fast vitrification protocol, right before transfer to VS solution. PREQ1: pre-equilibration solution 1, (1:1 BS+ES); PREQ2: pre-equilibration solution 2, (1:2 BS+ES); ES: equilibration solution; VS: vitrification solution; TS: thawing solution; DS: dilution solution; WS: washing solution; CM: culture media.

## Comparison of one-step and conventional warming in sibling donor oocytes: a proof-of-concept study

[Ana Cobo](#) <sup>a</sup>   · [Aila Coello](#) <sup>a</sup> · [Lucía Murria](#) <sup>b</sup> · ... · [María José de los Santos](#) <sup>a</sup> · [Juan A. García](#) <sup>b,c</sup> · [Fernando Bronet](#) <sup>c</sup> ...  
[Show more](#)

352 ovocytes de donneuses (n=30) vitrifiés en SV

- 179 réchauffés en UFW
- 173 réchauffés en SW

Aucune différence entre les 2 techniques de réchauffement concernant:

Tx de survie ovocytaire; Tx de blastulation; Tx de blasto utile

Tx d'implantation; Tx de grossesse évolutive par transfert

# MISE EN PRATIQUE AU LABO

## PRÉSENTATION DU NOUVEAU KIT UFV/UFW KITAZATO

Composition  
en CPA

### Ultra-fast Vitrification

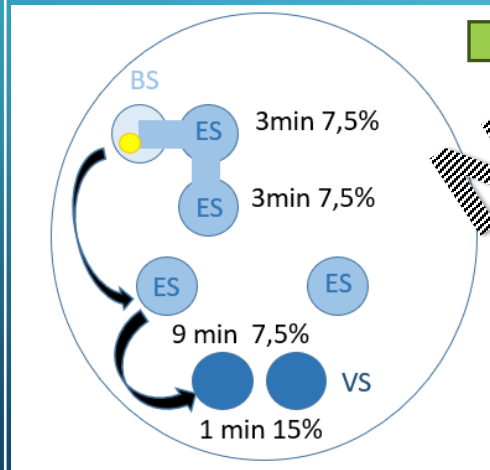


Ethylene Glycol  
DMSO  
Trehalose

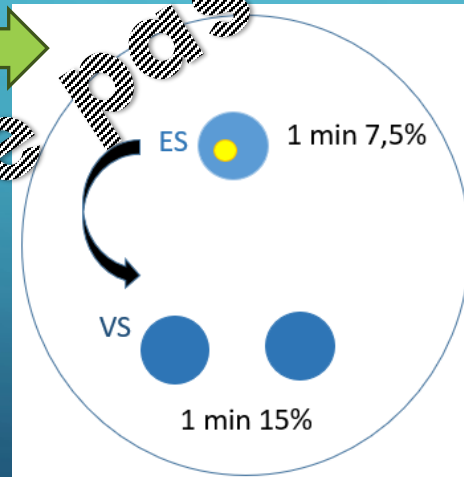
### Ultra-fast Warming



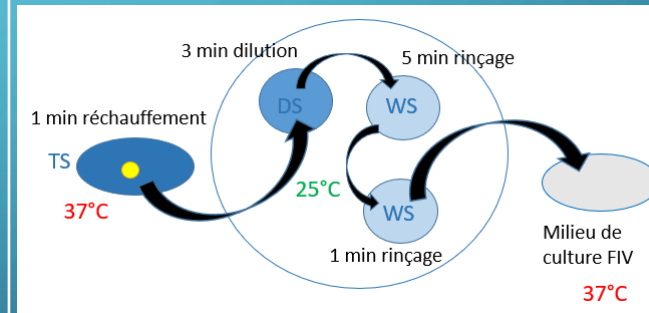
### Protocole vitrif standard



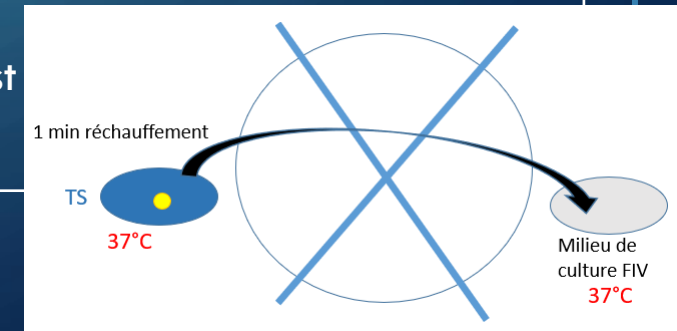
### Protocole ultra fast



### Réchauffement standard



### Réchauffement ultra fast



Protocole



# ETUDE PILOTE : NOTRE PROTOCOLE

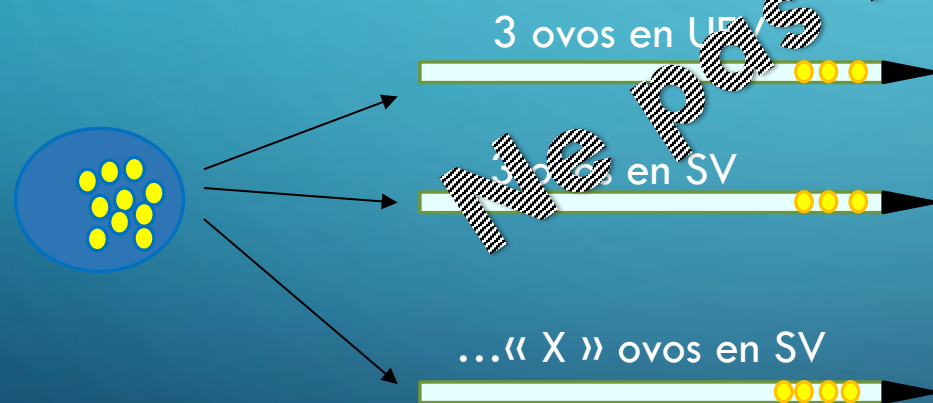
- Objectif principal :
  - Comparer l'efficacité du protocole UF avec celle du protocole standard utilisé actuellement dans le centre, en termes de taux de survie ovocytaire (critère d'évaluation principal).
- Objectifs secondaires :
  - Comparer la capacité des ovocytes vitrifiés/réchauffés à générer des embryons de bonne qualité et d'aboutir à la naissance d'enfants en bonne santé, à travers les critères d'évaluation secondaires : taux de lyse, de fécondation, de clivage, de blastulation, de grossesse, ...

Ne pas reproduire

# ETUDE PILOTE : NOTRE PROTOCOLE

- 1<sup>ère</sup> situation : Evaluer le protocole UFV / UFW

Vitrification ovocytaire dans le cadre d'une prise en charge en routine en ICSI  
si  $\geq 6$  ovocytes à vitrifier,



ROV n° 1 = 6 ovocytes:

- 3 ovos UFV / UFW
- 3 ovos SV / SW

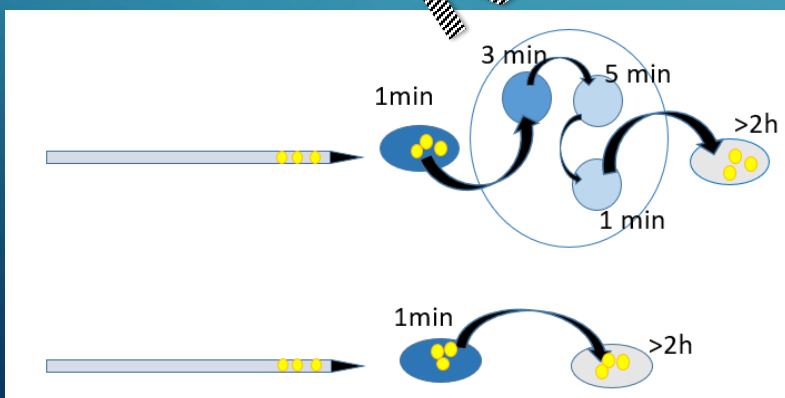
Suivi comparatif des ovos / embryons / grossesse

ROV suivants SW selon stratégie habituelle

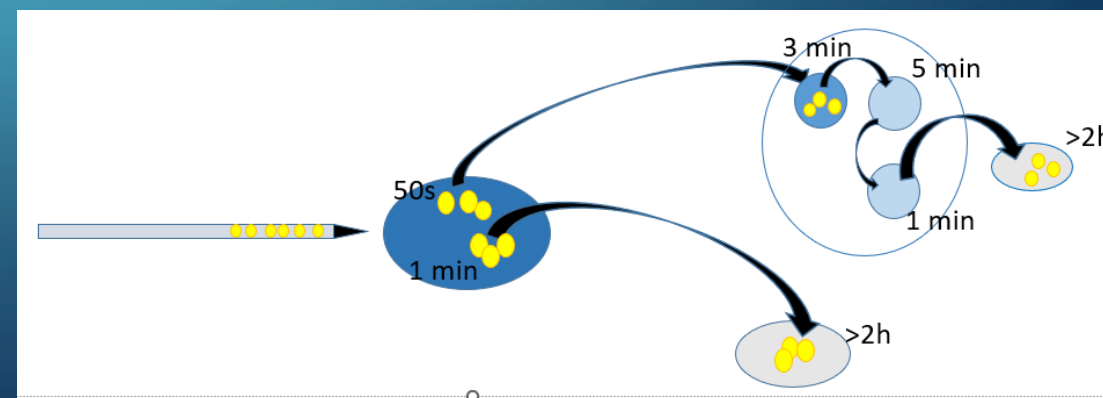
• 2<sup>ème</sup> situation : Evaluer les situations hybrides = la vie réelle à venir

- Etape 1: Réchauffement d'ovocytes voués à la destruction (SV/UFW) : calcul du taux de lyse uniquement à t0 et à t2h
- Etape 2: Réchauffement d'ovocytes (SV) dans le cadre de ROV en divisant la cohorte en 2 : moitié des ovocytes SV/UFW, autre moitié SV/SW puis comparaison.

Si on réchauffe 2 pailles



Si on réchauffe 1 seule paillette



# RÉSULTATS

- Au total, 20 ovocytes vitrifiés en vitrification standard voués à la destruction ont été décongelés à l'aide de la technique de réchauffement ultra-rapide.
- Résultats : pas d'impact négatif sur les ovocytes décongelés en termes de survie

	SV / UFW
Taux de survie T0	20/20 (100%)
Taux de survie T2h	20/20 (100%)

# RÉSULTATS

## EVALUER LE PROTOCOLE UFV / UFW ET LES SITUATIONS HYBRIDES

- Au total, 117 ovocytes vitrifiés avec la méthode ultra-fast chez 39 couples depuis le 01/12/2025
- Les réchauffements ultra-fast (n=23) ont démarré le 09/02/2026 (ovocytes issus de UFV et de SV)
- Comparaison avec notre précédente période de référence pour les mêmes indicateurs

Période	Référence SV/SW	UFV / UFW	SV / UFW	SV / SW
	Sept-Dec 2025	Période d'étude 09 fev-20 mars 26		
Tx de survie post réchauffement	431/520 (82,9%)	17/19 (89,5%)	45/48 (93,8%)	58/73 (79,5%)
Tx de lyse à J1 post ICSI	10/431 (3%)	0/17 (0%)	3/45 (6,7%)	4/58 (6,9%)
Tx de fécondation 2PN	330/431 (76,6%)	14/17 (82,4%)	24/45 (53,3%)	41/58 (70,7%)
Tx de clivage J2	259/330 (78,5%)	11/14 (78,6%)	20/24 (83,3%)	33/41 (80,5%)
Tx de blastulation	100/259 (38,6%)	4/11 (36,4%)	12/20 (60%)	12/33 (36,3%)
Tx de grossesse / transfert (issue renseignée)	20/47 (42,6%)	Pas de transfert	0/4 (0%)	0/1 (0%)

# INVESTIGATIONS EN COURS

## MÉTHODE DES 5 M

- Matière: 4 facteurs péjoratifs identifiés (age > 30 ans, crypto/Spz chir / atcd echec contexte HSO ) **17/23 ROV présentent au moins 1 F aggravant: 73,9%!**
- Milieu: changement réactif, production nettoyage **Mail fournisseur RAS, Milieu de culture et incubateur identiques avec culture FIV/ICSI**
- Matériel: maintenances? Période de fermeture? Alarmes? Pannes? **RAS**
- Méthode: modification du mode opératoire? **OUI mais SV/SW impacté aussi**
- Main d'oeuvre: nouveau personnel habilité? Opérateur dépendant? **NON**

# CONCLUSION

## La cryobiologie ultra-rapide pour l'ovocyte

- Le taux de survie ovocytaire est satisfaisant
- Optimise considérablement la charge de travail du laboratoire d'AMP
- **Evaluation indispensable dans les centres avant mise en place**
- Surveillance accrue des critères secondaires: Tx de fécondation, clivage, blastos, grossesse
- **Une attention particulière pour les situations hybrides qui semblent défavorables**
- Nécessité de continuer l'étude : augmenter les effectifs d'ovocytes, suivi des issues de tentatives (Calcul effectif une centaine de ROV pour la non infériorité en situation hybride)

# MERCI POUR VOTRE ATTENTION

