

# Le *time-lapse* : bilan et perspectives en 2019

## Time-lapse imaging: state-of-the-art and future perspectives

Arnaud Reignier<sup>1,2,3</sup>  
Julie Firmin<sup>1</sup>  
Jenna Lammers<sup>1</sup>  
Paul Barriere<sup>1,2,3</sup>  
Thomas Freour<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Service de biologie et médecine de la reproduction, CHU de Nantes

<sup>2</sup> Inserm UMR1064

<sup>3</sup> Faculté de médecine, université de Nantes  
<thomas.freour@chu-nantes.fr>

**Résumé.** Apparue dans les années 2010, la technologie *time-lapse* a immédiatement généré beaucoup d'intérêt et s'est rapidement développée dans de nombreux laboratoires. Alors que l'intérêt de cette technologie pour optimiser les conditions de culture embryonnaires et améliorer l'évaluation de la qualité embryonnaire est généralement reconnu, son apport réel pour l'amélioration des chances de succès des couples reste toujours débattu dans la littérature. Malgré certaines limites, l'utilisation du *time-lapse* permet néanmoins d'envisager des perspectives prometteuses en recherche et en fécondation *in vitro*.

**Mots clés :** *time-lapse*, développement embryonnaire, fécondation *in vitro*

**Abstract.** Appeared in the 2010s, *time-lapse* technology immediately generated a lot of interest and was rapidly implemented in several IVF laboratories. While the interest of this technology in optimizing embryonic culture conditions and improving the evaluation of embryonic quality is generally recognized, its real contribution to improving couples' chances of success in IVF is still debated in the literature. Despite certain limitations, the use of *time-lapse* nevertheless makes it possible to envisage promising prospects, both in research and in vitro fertilization.

**Key words:** *Time-lapse*, embryo development, in vitro fertilization

Apparue dans les années 2010, la technologie du *time-lapse* a immédiatement généré beaucoup d'intérêt et s'est rapidement développée dans de nombreux laboratoires. Alors que l'intérêt de cette technologie pour optimiser les conditions de culture embryonnaires et améliorer l'évaluation de la qualité embryonnaire est généralement reconnu, son apport réel pour l'amélioration des chances de succès des couples reste toujours débattu dans la littérature. Malgré certaines limites, l'utilisation du *time-lapse* offre des perspectives prometteuses en recherche et en fécondation *in vitro* (FIV). Dans cette revue, nous proposons de rappeler le principe du *time-lapse*, puis de présenter une synthèse de la littérature disponible sur l'apport clinique du *time-lapse*, et enfin, de discuter les limites et les perspectives de cette technologie.

### Principe du *time-lapse*

Depuis les débuts de la FIV, la technique de référence pour

l'évaluation de la qualité embryonnaire, et donc pour le choix de l'embryon à transférer, repose sur l'observation microscopique qualitative de la morphologie embryonnaire. Les consensus des sociétés savantes ont défini les caractéristiques du développement embryonnaire précoce corrélées avec les chances de succès. Il s'agit du nombre, de la taille et de la régularité des cellules, de l'apparence du cytoplasme et de la présence de noyaux [1]. Cette observation répétée de la morphologie embryonnaire impose un examen quotidien des boîtes de culture sous le microscope, exposant les embryons à des conditions non optimales de température, d'atmosphère et de luminosité. De plus, l'ouverture répétée des incubateurs pour sortir puis remettre chaque boîte de culture lors de l'évaluation morphologique aboutit également à des perturbations prolongées des conditions de culture à l'intérieur même des incubateurs, du fait du temps assez long nécessaire à la récupération de conditions équilibrées [2]. Ces limites bien connues

Médecine  
de la **Reproduction**

Tirés à part : T. Freour

ont abouti à la recherche de solutions techniques permettant à la fois d'optimiser les conditions de culture embryonnaire et leur évaluation morphologique. Les systèmes *time-lapse*, déjà connus pour d'autres applications, en culture cellulaire notamment, ont ainsi été développés et adaptés à la FIV chez l'homme, permettant un excellent compromis entre l'étude approfondie et continue du développement embryonnaire préimplantatoire et le maintien de conditions de culture optimales [3].

Le principe du *time-lapse* est de coupler l'incubateur et le microscope au sein d'un même appareil, permettant ainsi l'observation sans manipulation des ovocytes et embryons jusqu'au moment du transfert ou de la congélation. Chaque ovocyte ou embryon est photographié à intervalle régulier par un microscope situé à l'intérieur de l'incubateur, sans nécessité d'ouvrir la chambre d'incubation. Ces images successives, prises 24 h sur 24, sont enregistrées et restituées sous forme de vidéo (*time-lapse*) présentant le déroulement du développement embryonnaire. À la fin des années 1990, une première publication pilote a présenté le principe du *time-lapse* et son application possible en embryologie humaine en décrivant les phénomènes liés à la fécondation [4]. Une dizaine d'années plus tard, une étude rapportant pour la première fois l'observation du développement embryonnaire jusqu'au stade de blastocyste a été publiée [5]. Il existe aujourd'hui plusieurs modèles commerciaux de systèmes *time-lapse*, certains à intégrer dans des incubateurs (Primovision<sup>®</sup>), d'autres combinant les deux systèmes dans un même équipement (Embryoscope<sup>®</sup>, Geri<sup>®</sup>, MiriTL<sup>®</sup>, etc.). Les différences principales entre ces appareils concernent le type de microscope, les modèles de boîtes utilisées pour la culture embryonnaire et les logiciels d'annotation embryonnaire. Le principe d'observation répétée d'images dans des conditions stables reste cependant le même.

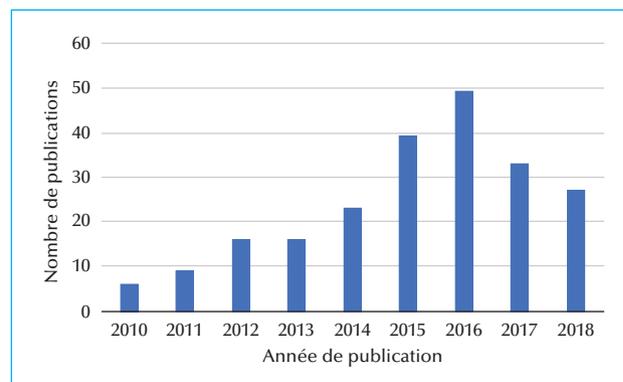
L'avènement des systèmes *time-lapse* a fait émerger le concept de paramètres morphocinétiques du développement embryonnaire. Ces paramètres regroupent les aspects morphologiques traditionnels (nombre, taille, régularité des blastomères, expansion du blastocyste, etc.) en les associant à leur cinétique précise d'apparition. La première publication d'envergure portant sur la description et l'intérêt de ces paramètres morphocinétiques en FIV chez l'homme date de 2011 [6]. Le résultat est l'heure à laquelle se sont produites les divisions cellulaires successives : t2, t3, t4, etc. pour les passages à deux cellules, à trois, à quatre, etc. L'évaluation morphocinétique permet également de mesurer précisément de nouveaux paramètres, tels que la durée des cycles cellulaires ou la synchronie de division. De plus, certains phénomènes anormaux ont pu être facilement observés et intégrés à l'évaluation de la qualité embryonnaire (clivage direct d'une cellule en plus de deux cellules filles, fusion cellulaire de deux blastomères, réabsorption de fragments,

exclusion de cellules lors du processus de compaction, etc.). Devant l'avènement de ces nombreux nouveaux paramètres et dans un souci de standardisation, des recommandations sur la nomenclature à utiliser et les éléments à observer ont été publiées dès 2014 [7]. Depuis lors, de très nombreuses études ont évalué l'intérêt de ces paramètres morphocinétiques, seuls ou combinés sous forme de modèle, pour la prédiction de la qualité embryonnaire et des chances de grossesse.

## Bilan de l'intérêt clinique du *time-lapse*

Depuis les années 2010, le nombre d'études utilisant la technologie *time-lapse* est en constante augmentation. Ainsi, on dénombre, sur la base de données Medline-Pubmed près de 220 articles répondant aux mots-clés « *time-lapse* », « culture », « embryon » et « humain », plus de la moitié de ces études ayant été publiées ces trois dernières années (*figure 1*). Cela illustre le recours croissant à ces systèmes d'incubation avec caméra embarquée pour la culture des embryons humains obtenus en FIV depuis les premières études sur leur utilisation en routine [6, 8]. Pour autant, quelle est la place de ces systèmes *time-lapse* en pratique clinique et quels bénéfices attendre de cette technologie ?

Même si la littérature est abondante sur l'utilisation des systèmes *time-lapse* en clinique, les études ayant un haut niveau de preuve scientifique sont rares, qu'il s'agisse de méta-analyses ou d'essais contrôlés randomisés. Nous ne discuterons pas ici en détail des très nombreuses études rétrospectives de cohorte ou cas-témoin disponibles dans la littérature. Cependant, et malgré leurs biais potentiels, la grande majorité de ces études concluent à une amélioration des chances de succès en FIV grâce à l'utilisation des systèmes *time-lapse*, par comparaison au système conventionnel. Quelques essais contrôlés randomisés ont tenté d'évaluer l'intérêt clinique des systèmes *time-lapse*. Cependant, les méthodes, les populations de patients et



**Figure 1.** Diagramme de répartition du nombre d'occurrences dans la base de données PubMed entre 2010 et 2018.

les points de mesure choisis dans ces essais randomisés étaient très hétérogènes, aboutissant à des conclusions divergentes. Certaines études suggéraient ainsi que le suivi des embryons en système *time-lapse* n'aurait pas de bénéfice clinique par rapport aux incubateurs avec évaluation morphologique conventionnelle [9-15]. À l'inverse, d'autres essais randomisés concluaient à une amélioration des taux d'implantations, de grossesses cliniques et/ou de naissances vivantes [16-19], et à une diminution du taux de fausses couches [16], par utilisation des systèmes *time-lapse*. La part respective, tenue dans ces bons résultats, de l'amélioration des conditions de culture et du perfectionnement de l'évaluation de la qualité embryonnaire grâce au *time-lapse* n'est pas encore précisément établie.

Depuis 2014, cinq revues systématiques (avec méta-analyse) ont été réalisées afin de déterminer l'intérêt des systèmes *time-lapse* par rapport à des systèmes d'incubation conventionnelle [20-24]. Elles permettent d'évaluer deux bénéfices théoriques des systèmes *time-lapse* :

- l'amélioration des conditions de culture embryonnaire par rapport aux incubateurs conventionnels,
- l'amélioration de l'évaluation de la qualité embryonnaire, grâce aux paramètres morphocinétiques, par rapport à l'évaluation morphologique conventionnelle.

Les résultats des premières méta-analyses [23, 24] sont intéressants, mais sont désormais dépassés, suite à la publication récente de plusieurs études prospectives randomisées [13-19].

Plus récemment, en 2017, la méta-analyse de Pribensky et al. [22] a évalué l'impact de la sélection embryonnaire grâce à des paramètres morphocinétiques sur les issues cliniques. Les auteurs concluaient, sur un ensemble de cinq études incluant 1 637 patientes randomisées [10, 14, 16, 17, 25], que la sélection des embryons en système *time-lapse* était associée à une augmentation significative des taux de naissances vivantes (odds ratio [OR] = 1,668 IC95% = [1,134-2,455],  $p = 0,009$ ,  $n = 481$ ) ainsi que des taux de grossesses cliniques (OR = 1,542 IC95 % = [1,211-1,965],  $p < 0,001$ ,  $n = 1 637$ ), et à une diminution des taux de fausses couches précoces (OR = 0,662 IC95 % = [0,469-0,935],  $p = 0,019$ ,  $n = 904$ ).

Une autre méta-analyse a été publiée en 2017 [21], incluant six études [10, 12-14, 26, 27]. Cependant, le manque d'exhaustivité de cette revue systématique doit être souligné, puisque deux essais contrôlés randomisés [11, 16] déjà publiés à cette époque, n'y ont pas été inclus. L'un des intérêts de cette étude, néanmoins, est qu'elle s'attachait, pour la première fois, à étudier séparément l'apport respectif de l'incubation en système *time-lapse* et de l'évaluation morphocinétique par rapport à la culture en incubateur conventionnel et à l'évaluation morpholo-

gique standard. Cette revue ne mettait pas en avant de différence significative pour les taux de grossesses cliniques. Une différence était néanmoins notée pour les taux de naissances vivantes (RR = 1,23 IC95 % = [1,06-1,44]  $n = 842$  patientes), mais une seule des six études incluses avait analysé ce critère de jugement.

Enfin, la revue systématique de la Cochrane parue récemment [20], portant sur huit essais contrôlés randomisés [10, 11, 13-16, 27, 28], concluait à l'absence de différence significative pour les taux de naissances vivantes (OR = 0,73 IC95 % = [0,47-1,13]), les taux de grossesses cliniques et les taux de fausses couches (OR = 2,25 IC95 % [0,84-6,02]) entre le *time-lapse* et les incubateurs conventionnels.

Ces revues de la littérature aboutissent donc à des conclusions sensiblement différentes, malgré une méthodologie apparemment rigoureuse. Il est à noter que la publication de chacune de ces méta-analyses a donné lieu à de nombreuses critiques de part et d'autre, notamment méthodologiques. Le débat entre les « pour » et les « contre » sur l'intérêt clinique réel du *time-lapse* reste donc ouvert, et il est difficile de trouver une réponse unique dans la littérature à ce jour.

Comme montré précédemment, les conclusions des études prospectives randomisées sur l'intérêt clinique du *time-lapse* divergent. En parallèle, la majorité des études rétrospectives publiées à ce jour concluent plutôt à un intérêt clinique du *time-lapse*. À noter qu'aucune étude n'a montré un effet délétère du *time-lapse* sur l'issue des cycles. Cependant, toutes les équipes s'accordent à dire que le niveau de preuve scientifique des études disponibles est modéré, avec un risque de biais, y compris pour les rares essais contrôlés randomisés disponibles à ce jour, qui ont porté sur des effectifs assez limités, des populations hétérogènes (causes de l'infertilité, origine des ovocytes, jour du transfert embryonnaire et nombre d'embryons transférés, etc.) et ont utilisé des critères de jugement principaux variables.

## Limites du *time-lapse*

Malgré ses nombreux avantages, la technologie *time-lapse* présente également un certain nombre de limites qui sont régulièrement soulignées par ses détracteurs. Le principal inconvénient généralement cité par les professionnels concernant le *time-lapse* est son coût élevé. Ainsi, 50 % des biologistes français d'assistance médicale à la procréation (AMP) ne possédant pas de système *time-lapse* identifient l'aspect financier comme frein principal à la mise en place cette technologie [29]. Le coût d'achat des automates *time-lapse*, ainsi que celui des consommables spécifiques et de la maintenance, est effectivement assez élevé par comparaison aux autres incubateurs utilisés en FIV. Cependant, il est réducteur de ne considérer que ces

coûts directs dans l'évaluation financière de cette technologie. Comme cela est présenté plus largement dans un autre chapitre de cet article, le *time-lapse* présente de nombreux avantages qui participent à optimiser la prise en charge des couples et l'organisation du laboratoire, éléments indirectement mais significativement bénéfiques sur le plan financier. Tout d'abord, l'amélioration des conditions de culture et de l'évaluation de la qualité embryonnaire aboutit à une meilleure efficacité du laboratoire. L'enregistrement des données permet également une large flexibilité dans l'organisation quotidienne du laboratoire en supprimant les contraintes horaires habituelles. De plus, la consommation de gaz, de milieu de culture et d'huile est diminuée. Enfin, le *time-lapse* peut participer à l'attractivité du centre et donc générer une activité supplémentaire.

L'évaluation de la qualité embryonnaire dans les systèmes *time-lapse* repose principalement sur l'annotation des paramètres morphocinétiques pour chacun des embryons. Cette annotation est moins subjective que l'évaluation morphologique conventionnelle, mais il est impératif de standardiser les pratiques au sein d'une équipe où plusieurs opérateurs participeraient à cette activité, afin de maintenir la pertinence et la reproductibilité de l'évaluation de la qualité embryonnaire. Des guides d'annotation ont été publiés [7]. Leur utilisation, associée à des contrôles qualité internes réguliers, est recommandée pour optimiser et homogénéiser les annotations du développement embryonnaire.

Alors que l'intérêt clinique des paramètres morphocinétiques et des modèles prédictifs issus du *time-lapse* a été largement évoqué dans de nombreuses études, leur pertinence reste cependant toujours discutée par certains auteurs [30]. Parmi les points soulevés par les détracteurs de l'utilisation clinique du *time-lapse*, la performance limitée des modèles prédictifs en dehors du centre où ils ont été développés est régulièrement citée [31]. En effet, les rares études de validation externe ont rapporté des résultats inférieurs à ceux obtenus initialement [32]. Le développement de modèles prédictifs à partir de très larges populations de patients issus de nombreuses cliniques devrait permettre de les rendre plus généralisables [33]. Un autre aspect récemment souligné dans la littérature concerne un risque de biais statistique dû à l'association entre les paramètres morphocinétiques d'une cohorte embryonnaire issue d'un couple et ses caractéristiques cliniques [34]. Ce risque de biais impose la réalisation d'une analyse statistique des données morphocinétiques plus complexe que celle réalisée dans la majorité des études disponibles afin de conclure précisément sur leur capacité à prédire la compétence implantatoire d'un embryon chez un couple donné.

Enfin, l'absence d'étude clinique de haut niveau sur l'intérêt clinique du *time-lapse* est souvent mise en avant par les opposants au *time-lapse* pour critiquer ou

déconseiller son utilisation. Il est intéressant de noter, tout d'abord, que de telles études de haut niveau n'existent pas non plus pour la majorité des techniques mises en œuvre au quotidien dans tous les laboratoires de FIV, en particulier l'évaluation morphologique conventionnelle de la qualité embryonnaire. Par ailleurs, si les études randomisées de grande ampleur prenant le taux de naissances comme point final restent le *gold standard* en recherche clinique, leur financement et leur organisation pratique et réglementaire présentent de nombreux obstacles. De plus, leurs critères d'inclusion peuvent aboutir à des conclusions qui ne concernent qu'une partie de la population infertile et pas la population « tout venant ». Par ailleurs, le choix des points de mesure conditionne la pertinence de ces études randomisées. La littérature sur le *time-lapse* contient par exemple des études randomisées bien construites mais prenant des points de mesure très discutables d'un point de vue clinique [13]. A contrario, la première étude clinique randomisée sur l'intérêt du *time-lapse* a été exagérément critiquée, sans raison évidente d'un point de vue méthodologique [16]. Plusieurs méta-analyses ont tenté de synthétiser les données issues de ces études randomisées, mais avec des résultats contradictoires [20, 22]. L'hétérogénéité des études incluses dans ces méta-analyses limite pour l'instant la pertinence de leurs conclusions. En parallèle, les études de cohorte bien menées peuvent générer des données de qualité, sous réserve de connaître les biais inhérents à ce type d'étude.

Dans ce contexte, on peut s'interroger, éthiquement parlant, sur la décision de limiter le recours au *time-lapse* à la recherche clinique, au titre qu'aucune étude randomisée ne conclut formellement à son intérêt, alors que, dans le même temps, de nombreuses études de cohorte semblent indiquer les bénéfices potentiels de cette technologie.

## Perspectives du *time-lapse*

### Automatisation de l'analyse morphocinétique

Bien que la technologie *time-lapse* permette une lecture et une annotation continue du développement embryonnaire préimplantatoire, ces dernières sont actuellement toujours réalisées de façon manuelle, et nécessitent l'intervention d'un personnel formé. Au-delà du temps nécessaire à cette annotation manuelle, un risque théorique de variabilité intra- et interopérateur existe, même si plusieurs études ont démontré que cette variabilité était très limitée et bien inférieure à celle observée en évaluation morphologique conventionnelle [35, 36].

L'automatisation ou la semi-automatisation de la détection des événements du développement permettrait

une standardisation des annotations embryonnaires ainsi qu'une plus grande précision, et faciliterait l'exploitation de bases de données multicentriques. Plusieurs outils allant dans ce sens et utilisant des approches complémentaires sont en cours de développement. Une étude pilote sur un nombre restreint d'embryons a montré une corrélation entre les variations des niveaux de gris au sein de l'image provenant du système *time-lapse* et la détection des événements morphocinétiques [37]. Notre équipe a confirmé l'intérêt de cette approche et amélioré sa performance, grâce à la détection de l'amincissement de la zone pellucide, offrant ainsi une meilleure annotation au stade blastocyste [38].

Des systèmes commerciaux d'annotation partiellement automatisée existent. Un premier dispositif utilisant une détection automatique des stades deux, trois et quatre cellules (Eeva<sup>®</sup> test, Merck Serono) et couplé à la morphologie conventionnelle a été mis sur le marché il y a quelques années. Cependant, ce système, dans sa première version, n'a pas fait la preuve de sa supériorité sur les stratégies plus classiques de sélection embryonnaire [39]. Une évolution de cet algorithme (Eeva<sup>®</sup> Xtend algorithm, Merck Serono) associée à un système *time-lapse* plus complet devrait être plus performante, sous réserve de sa validation clinique. Un outil d'aide à l'annotation a également été mis au point par Vitrolife<sup>®</sup> (Embryoscope Guided Annotation<sup>®</sup>), mais il consiste à repérer les périodes d'intérêt avec activité cellulaire, pas à faire l'annotation de façon autonome.

D'autres stratégies, utilisant les outils d'intelligence artificielle, sont actuellement en cours de développement et offrent des perspectives prometteuses d'annotation automatique du développement, mais aussi d'évaluation automatisée de la morphologie embryonnaire [40].

### Associations de la morphocinétique avec d'autres marqueurs de qualité embryonnaire

L'amélioration de l'évaluation de la qualité embryonnaire passera certainement par l'association de marqueurs d'origine différente : cinétique de développement, morphologie, protéomique et métabolomique du milieu de culture [41]. Alors que de nombreuses équipes explorent cette stratégie combinée, très peu d'études sont disponibles à ce jour. Une étude pilote a montré que la combinaison de paramètres morphocinétiques embryonnaires et du dosage de l'IL-6 dans le milieu de culture au stade blastocyste au sein d'un même algorithme décisionnel était prédictive des chances d'implantation [42]. L'incorporation de systèmes de microfluidique permettant la réalisation de dosages en continu dans les milieux de culture pourraient représenter l'avenir des systèmes *time-lapse* sous forme de plateforme « tout en un » [43].

## Recherche fondamentale

Les systèmes *time-lapse* offrent la possibilité d'observer et de décrire de façon précise et objective tous les événements du développement embryonnaire préimplantatoire *in vitro* [44], mais aussi des mécanismes bien plus précis tels que l'organisation de la chromatine ovocytaire [45] ou l'expression de marqueurs spécifiques de lignées cellulaires [46], lorsqu'ils sont associés à d'autres technologies d'imagerie. L'identification de marqueurs protéiques pertinents grâce à l'exploration du transcriptome et du protéome embryonnaire à différents stades de développement pourra permettre à l'avenir le développement d'outils d'imagerie non invasive intégrés aux systèmes *time-lapse* [47].

## Outil de formation et d'évaluation

L'utilisation des grilles de consensus pour l'annotation des paramètres morphocinétiques [7] permet l'harmonisation des pratiques et contribue à réduire fortement la variabilité intra- et interopérateur dans l'évaluation de la morphologie embryonnaire [36]. Ces systèmes représentent donc un outil de formation, d'habilitation et de suivi des compétences des opérateurs tout à fait adapté pour la mise en place et le maintien d'une politique qualité rigoureuse.

**Liens d'intérêt :** Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt en rapport avec cet article.

## Références

1. ALPHA scientists in reproductive medicine; ESHRE special interest group embryology. . The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Hum Reprod* 2011 ; 26 : 1270-83.
2. Swain JE, Carrell D, Cobo A, Meseguer M, Rubio C, Smith GD. Optimizing the culture environment and embryo manipulation to help maintain embryo developmental potential. *Fertil Steril* 2016 ; 105 (3):571-87.
3. Wale PL, Gardner DK. The effects of chemical and physical factors on mammalian embryo culture and their importance for the practice of assisted human reproduction. *Hum Reprod Update* 2016 ; 22 : 2-22.
4. Payne D, Flaherty SP, Barry MF, Matthews CD. Preliminary observations on polar body extrusion and pronuclear formation in human oocytes using *time-lapse* video cinematography. *Hum Reprod* 1997 ; 12 : 532-41.
5. Mio Y, Maeda K. *Time-lapse* cinematography of dynamic changes occurring during *in vitro* development of human embryos. *Am J Obstet Gynecol* 2008 ; 199 : 660.
6. Meseguer M1, Herrero J, Tejera A, Hilligsøe KM, Ramsing NB, Remohí J. The use of morphokinetics as a predictor of embryo implantation. *Hum Reprod* 2011 ; 26 : 2658-71.
7. Ciray HN, Campbell A, Agerholm IE, et al. Proposed guidelines on the nomenclature and annotation of dynamic human embryo

monitoring by a *time-lapse* user group. *Hum Reprod* 2014 ; 29 : 2650-60.

8. Pribenszky C, Mátyás S, Kovács P, Losonczi E, Zádori J, Vajta G. Pregnancy achieved by transfer of a single blastocyst selected by *time-lapse* monitoring. *Reprod Biomed Online* 2010 ; 21 : 533-6.

9. Kirkegaard K, Hindkjaer JJ, Grondahl ML, Kesmodel US, Ingerslev HJ. A randomized clinical trial comparing embryo culture in a conventional incubator with a *time-lapse* incubator. *J Assist Reprod Genet* 2012 ; 6 : 565-72.

10. Kahraman S, Cetinkaya M, Pirkevi C, Yelke H, Kumtepe Y. Comparison of blastocyst development and cycle outcome in patients with eSET using either conventional or *time-lapse* incubators. A prospective study of good prognosis patients. *J Reprod Stem Cell Biotech* 2013 ; 3 : 55-61.

11. Kovacs P, Matyas SZ, Forgacs V, et al. Can a composite score based on *time-lapse* observation aid embryo selection for single embryo transfer; an interim report. *Hum Reprod* 2013 ; 28(Suppl 1):169.

12. Insua MF, Cobo A, Larreategui Z, Ferrando M, Remohi J, Meseguer M. Obstetric and perinatal outcomes of singleton newborns using *time-lapse* monitoring. *Fertil Steril* 2015 ; 104 : e212-3.

13. Park H, Bergh C, Selleskog U, Thurin-Kjellberg A, Lundin K. No benefit of culturing embryos in a closed system compared with a conventional incubator in terms of number of good quality embryos: results from an RCT. *Hum Reprod* 2015 ; 30 : 268-75.

14. Goodman LR, Goldberg J, Falcone T, Austin C, Desai N. Does the addition of *time-lapse* morphokinetics in the selection of embryos for transfer improve pregnancy rates? A randomized controlled trial. *Fertil Steril* 2016 ; 105 : 275-85.

15. Kaser DJ, Bormann CL, Missmer SA, Farland LV, Ginsburg ES, Racowsky C. A pilot randomized controlled trial of Day 3 single embryo transfer with adjunctive *time-lapse* selection versus Day 5 single embryo transfer with or without adjunctive *time-lapse* selection. *Hum Reprod* 2017 ; 32 : 1598-603.

16. Rubio I, Galán A, Larreategui Z, et al. Clinical validation of embryo culture and selection by morphokinetic analysis: a randomized, controlled trial of the EmbryoScope. *Fertil Steril* 2014 ; 102 : 1287-94.

17. Siristatidis C, Komitopoulou MA, Makris A, et al. Morphokinetic parameters of early embryo development via *time-lapse* monitoring and their effect on embryo selection and ICSI outcomes: a prospective cohort study. *J Assist Reprod Genet* 2015 ; 32 : 563-70.

18. Alhelou Y, Mat Adenan NA, Ali J. Embryo culture conditions are significantly improved during uninterrupted incubation: a randomized controlled trial. *Reprod Biol* 2018 ; 18 : 40-5.

19. Kovacs P, Matyas S, Forgacs V, Sajgo A, Molnar L, Pribenszky C. Non-invasive embryo evaluation and selection using *time-lapse* monitoring: results of a randomized controlled study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2019 ; 233 : 58-63.

20. Armstrong S, Bhide P, Jordan V, Pacey A, Farquhar C. *Time-lapse* systems for embryo incubation and assessment in assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev* 2018 ; 5 : CD011320.

21. Chen M, Wei S, Hu J, Yuan J, Liu F. Does *time-lapse* imaging have favorable results for embryo incubation and selection compared with

conventional methods in clinical *in vitro* fertilization? A meta-analysis and systematic review of randomized controlled trials. *PLoS One* 2017 ; 12 : e0178720.

22. Pribenszky C, Nilselid AM, Montag M. *Time-lapse* culture with morphokinetic embryo selection improves pregnancy and live birth chances and reduces early pregnancy loss: a meta-analysis. *Reprod Biomed Online* 2017 ; 35 : 511-20.

23. Kaser DJ, Racowsky C. Clinical outcomes following selection of human preimplantation embryos with timelapse monitoring: a systematic review. *Hum Reprod Update* 2014 ; 20 : 617-31.

24. Polanski LT, Coelho Neto MA, Nastri CO, et al. *Time-lapse* embryo imaging for improving reproductive outcomes: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014 ; 44 : 394-401.

25. Kovacs P, Matyas S, Forgacs V, Sajgo A, Molnar L, Pribenszky C. Embryo selection by *Time-lapse* monitoring for single embryo transfer ('SET'). [clinicaltrials.gov, 2017](https://clinicaltrials.gov/2017); [ClinicalTrials.gov Identifier : NCT01694641](https://clinicaltrials.gov/Identifier/NCT01694641).

26. Matyas SZ, Kovacs P, Forgacs V, Sajgo A, Pribenszky CS. Selection of single blastocyst for transfer using *time-lapse* monitoring during *in vitro* fertilization in good prognosis patients: a randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2015 ; 30 : 119.

27. Wu YG, Lazzaroni-Tealdi E, Wang Q, et al. Different effectiveness of closed embryo culture system with *time-lapse* imaging (EmbryoScope™) in comparison to standard manual embryology in good and poor prognosis patients: a prospectively randomized pilot study. *Reprod Biol Endocrinol* 2016 ; 14 : 49.

28. Yang L, Kong X, Zhang S, et al. Single embryo transfer on cleavage-stage(D3) using timelapse selection vs. on blastocyst(D5) using traditional morphological selection in patients with good prognosis: a prospective randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2017 ; 32(Suppl 1):i102-3.

29. Boueilh T, Reignier A, Barriere P, Freour T. *Time-lapse* imaging systems in IVF laboratories: a French national survey. *J Assist Reprod Genet* 2018 ; 35 : 2181-6.

30. Paulson RJ, Reichman DE, Zaninovic N, Goodman LR, Racowsky C. *Time-lapse* imaging: clearly useful to both laboratory personnel and patient outcomes versus just because we can doesn't mean we should. *Fertil Steril* 2018 ; 109 : 584-91.

31. Storr A, Venetis C, Cooke S, Kilani S, Ledger W. *Time-lapse* algorithms and morphological selection of day-5 embryos for transfer: a preclinical validation study. *Fertil Steril* 2018 ; 109 : 276-83.

32. Fréour T, Le Fleuter N, Lammers J, Spingart C, Reignier A, Barrière P. External validation of a *time-lapse* prediction model. *Fertil Steril* 2015 ; 103 : 917-22.

33. Petersen BM, Boel M, Montag M, Gardner DK. Development of a generally applicable morphokinetic algorithm capable of predicting the implantation potential of embryos transferred on Day 3. *Hum Reprod* 2016 ; 31 : 2231-44.

34. Kirkegaard K, Sundvall L, Erlandsen M, Hindkjær JJ, Knudsen UB, Ingerslev HJ. Timing of human preimplantation embryonic development is confounded by embryo origin. *Hum Reprod* 2016 ; 31 : 324-31.

35. Sundvall L, Ingerslev HJ, Breth Knudsen U, Kirkegaard K. Inter- and intra-observer variability of *time-lapse* annotations. *Hum Reprod* 2013 ; 28 : 3215-21.

- 
36. Martínez-Granados L, Serrano M, González-Utor A, et al. Inter-laboratory agreement on embryo classification and clinical decision: conventional morphological assessment vs. *time-lapse*. *PLoS One* 2017 ; 12 : e0183328.
37. Mölder A, Drury S, Costen N, Hartshorne GM, Czanner S. Semiautomated analysis of embryoscope images: using localized variance of image intensity to detect embryo developmental stages. *Cytom Part J Int Soc Anal Cytol* 2015 ; 87 : 119-28.
38. Feyeux M, Reignier A, Mocaer M, et al. Development of a robust automated tool for the annotation of embryo morphokinetic parameters. *BioRxiv* 2018 ; 445288.
39. Kieslinger DC, De Gheselle S, Lambalk CB, et al. Embryo selection using *time-lapse* analysis (Early Embryo Viability Assessment) in conjunction with standard morphology: a prospective two-center pilot study. *Hum Reprod* 2016 ; 31 : 2450-7.
40. Gouveia Nogueira MF, Bertogna Guilherme V, Pronunciate M, Dos Santos PH, Lima Bezerra da Silva D, Rocha JC. Artificial intelligence-based grading quality of bovine blastocyst digital images: direct capture with juxtaposed lenses of smartphone camera and stereomicroscope ocular lens. *Sensors* 2018 ; 18 : 35.
41. Gardner DK, Meseguer M, Rubio C, Treff NR. Diagnosis of human preimplantation embryo viability. *Hum Reprod Update* 2015 ; 21 : 727-47.
42. Dominguez F, Meseguer M, Aparicio-Ruiz B, Piqueras P, Quiñonero A, Simón C. New strategy for diagnosing embryo implantation potential by combining proteomics and *time-lapse* technologies. *Fertil Steril* 2015 ; 104 : 908-14.
43. Meseguer M, Kruhne U, Laursen S. Full in vitro fertilization laboratory mechanization: toward robotic assisted reproduction? *Fertil Steril* 2012 ; 97 : 1277-86.
44. Coticchio G, Mignini Renzini M, Novara PV, et al. Focused *time-lapse* analysis reveals novel aspects of human fertilization and suggests new parameters of embryo viability. *Hum Reprod* 2018 ; 33 : 23-31.
45. Belli M, Vigone G, Merico V, Redi CA, Garagna S, Zuccotti M. *Time-lapse* dynamics of the mouse oocyte chromatin organisation during meiotic resumption. *BioMed Res Int* 2014 ; 2014 : 207357.
46. Deglincerti A, Croft GF, Pietila LN, Zernicka-Goetz M, Siggia ED, Brivanlou AH. Self-organization of the *in vitro* attached human embryo. *Nature* 2016 ; 533 : 251-4.
47. Sanchez T, Wang T, Pedro MV, et al. Metabolic imaging with the use of fluorescence lifetime imaging microscopy (FLIM) accurately detects mitochondrial dysfunction in mouse oocytes. *Fertil Steril* 2018 ; 110 : 1387-97.