

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE IBN KHALDOUN DE TIARET
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES**



Mémoire de fin d'études

en vue de l'obtention du diplôme de docteur veterinaire

THEME :

TRANSFERT EMBRYONNAIRE

CHEZ LA JUMENT

Présenté par:

BELALIA ZAKI AhmedCherif

Encadré par:

Dr Ayad MohameAmine

Année universitaire : 2018 – 2019

Remerciements

Je remercie dieu tout puissant qui m'a donnée santé, force et courage tout au long de ma vie,

Je remercie mon père qui a été la source de mon choix a ce métier et qui m'a fait hériter cet amour

Je remercie ma mère pour toutes ses nuits blanches à me chérir et à prendre soin de moi, pour toute sa patience et sa conviction, merci d'avoir cru en moi, merci pour toute ton énergie et ta force, « je t'aime maman »

Je remercie mon petit frère mon jumeau, je suis fier de toi petit je te souhaite mille bonheurs, croie en toi, travail persévère et réussit ; garde toujours le moral t'es vraiment une personne merveilleuse.

Je remercie toute ma famille qui m'a soutenu et qui m'a donnée la meilleure éducation et le meilleur cadre de vie pour les animaux, c'est un père fabuleux comme on rêverait d'en avoir « Merci papa ». Possible jusqu'à ce jour.

Je remercie l'ensemble de mes enseignants depuis l'école primaire jusqu'aujourd'hui et en particulier ceux de l'institut vétérinaire de Tiaret sans citer aucun nom ils ont été là pour moi et ont tout fait pour me donner la meilleure formation que je puisse avoir.

Je remercie mes amis et toutes les personnes que je connais, et tous ceux qui ont contribué à ma réussite je cite en nom :

Ahmed Rayane l'une des personnes modèle, autant pour son savoir que pour sa modestie, sa persévérance et son amour du travail m'ont beaucoup marqué et me marqueront tout au long de ma vie, ravi de porter en prénom celui de prophète et le tiens.

Mohamed Chikfiaoui oncle et parrain pour tous ses conseils et sa motivation il y est pour beaucoup dans ma réussite aujourd'hui.

Abdelkrim Mohamed Nasri j'estime que j'ai eu un grand honneur de connaître ce grand monsieur de la science et du cheval en particulier dans ma vie c'est à la fois mon maître et mon inspiration, je te remercie pour ta générosité et ton aide que dieu te préserve et préserve ta petite famille.

Said Benabdelmoumen et Madame Benabdelmoumen amis de la famille il m'ont vu grandir au fils des années ils tenaient a m'encadrer et a me montrer le chemin, je vous remercie du fond du cœur pour tout ce que vous avez fait pour moi.

Je remercie l'haras national de Chaouchaoua « Mon petit paradis sur terre » là où j'ai passé une grande partie de ma vie, je remercie le vétérinaire de l'haras Belmdjahed Mustapha et tous les employés de l'haras.

J'ai beaucoup appris avec vous et je suis ravi d'avoir été parmi vous étudiants.

À mon directeur de thèse

DR, Ayad Mohamed Amine

Institut des sciences vétérinaires Ibn Khaldoun

Je tiens à vous remercier infiniment de m'avoir fait confiance pour l'élaboration de ce travail. Vous m'avez prodigué tant de précieux conseils et directives, et ce malgré vos innombrables tâches, je vous suis très reconnaissant. J'ai été marqué et touché profondément par vos qualités humaines et personnelles, votre dynamisme et votre modestie qui n'ont d'égal que votre compétence professionnelle. Puisse ce travail être pour moi l'occasion de vous exprimer ma gratitude et mon dévouement.

Dédicaces

A mon cher papa Amar

Aucune dédicace ne saurait traduire la profondeur des sentiments d'affection, d'estime et de respect envers un être cher. Puisse ton existence, pleine de droiture, de franchise et de sagesse me servir d'exemple dans l'exercice de ma profession. Je vous remercie pour l'apprentissage de l'autonomie et de la liberté de choix que vous m'avez accordés. Trouve ici l'expression de tout mon amour. Ce modeste travail paraît bien dérisoire pour traduire mon amour envers un père si merveilleux.

À ma chère maman

Vous êtes un grand exemple de sacrifice et l'idéale mère de famille qui s'est dévouée continuellement. Vous m'avez entouré d'une grande affection et toujours étiez d'un grand support dans les moments les plus difficiles. Aujourd'hui à travers ce modeste travail, je vous témoigne une profonde et éternelle reconnaissance. Aujourd'hui, votre réussite s'exprime à travers moi, merci pour vos conseils très pertinents. Je vous remercie pour votre soutien inconditionnel et votre affection toujours renouvelée. Vous avez fait preuve de beaucoup de patience. Il en aura fallu pour boucler ces études de médecine. Il est temps de vous dire tout mon amour, toute ma tendresse et toute mon affection. Que ce travail soit un hommage aux énormes sacrifices que vous vous êtes imposés afin d'assurer mon bien être. Puisse ce jour être la récompense de tous vos efforts et l'exaucement de vos prières tant formulées.

À tous mes Ami(e)s

L'amitié c'est une main qui vous tient dans la douleur et le désarroi. C'est une oreille qui écoute tantôt votre peine tantôt votre joie. C'est un regard qui voit jusqu'au plus profond de votre âme sans jamais se faire juge. C'est un cœur qui s'ouvre sans jamais se fermer... comme un refuge. Qu'Allah bénisse notre amitié et la fleurisse à jamais.

Grand merci pour votre amitié : Morad, Hakîm, Younes, Adda, Fabrizy, Lamia.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Appareil génital d'une jument (BARONE 1978) Vue ventrale après étalement.....	02
Figure 2 : Sinus urogénital de la jument (BARONE 1978).	03
Figure 3 : Organes pelviennes vue latérale gauche disséqués en place (BARONE 1978)	04
Figure 4 : coupe transversale de l'abdomen d'une jument passant par la première vertèbre sacrée (sujet congelé debout vue crâniale de la coupe) (BARONE 1978).	07
Figure 5 : Ovaire et trompes utérines vue gauche	08
Figure 6 : Ovaires et trompes utérines gauche de la jument (BARONE1978).	09
Figure 7 : Coupe interne de l'ovaire d'une jument (BARONE 1978).	10
Figure 8 : Vue crâniale des organes pelviens de la jument, en place, après ablation des viscères abdominaux (BARONE 1978).....	12
Figure 9 : Deux méthodes de synchronisation des chaleurs d'après BRUYAS et Al (2013), PG : prostaglandine F2 alpha.....	21
Figure 10 : Schéma de la sonde de récolte d'embryons et du ballonnet de récolte (bo) au flacon muni de sa prise d'air.....	25
Figure 11 Sonde à ballonnet et prolongateur utilisés pour la récolte d'embryon équin, d'après SCIMDT et al.....	26
Figure 12 : Observation des embryons sous microscope	27.
Figure13 : Ovocyte non fécondée et dégénéré.	28
Figure 14 : Embryon au 7ème jour, blastocyste.	28
Figure15 : Structure histologique d'un embryon stade morula et blastocyste.	30

LISTE DES TABLEAUX

Tableau1 : Distribution des embryons en fonction des lavages siphonages	25
--	----

SOMMAIRE

Remerciements	
Dédicace	
Liste des figures	
Liste des tableaux	

INTRODUCTION	01
---------------------------	----

CHAPITRE I

ANATOMIE DE L'APPAREIL GENITAL FEMELLE

Anatomie de l'appareil génital de la jument :	02
1. Le sinus uro-génital :	03
2. Le vagin et l'utérus.....	04
3. Les ovaires :	10

CHAPITRE II

PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION

B. Rappels de physiologie de la reproduction de la jument	14
1. Saisonnalité	14
a. La saison anovulatoire	14
b. La saison ovulatoire	15
2. Evolution des événements hormonaux du cycle ovarien	16
a. Evolution au niveau hypophysaire	16
b. Evolution au niveau ovarien.....	16
3. La croissance folliculaire	17
4. L'ovulation	17

CHAPITRE III

TRANSFERT EMBRYONNAIRE

1) Définition	19
2) Historique	19
B. ASPECTS TECHNIQUES	19
1) Préparation des juments donneuses	19
a) Sélection et traitement des donneuses	19
b) Synchronisation	20
c) Suivi gynécologique	21
2) Préparation des juments receveuses	21

a) Sélection des receveuses	21
b) Synchronisation	22
3) Technique de récolte	22
a) Choix du jour de la récolte	22
b) Technique de récolte	24
a) Recherche de l'embryon	26
b) Evaluation de l'embryon	27
c) Traitement de l'embryon	28
5) Technique de transfert	29
a) Méthode chirurgicale	29
b) Méthode non chirurgicale ou cervicale	30
D. Indications et contraintes	31
1) Indications	31
2) Contraintes	31
a) Technique	32
b) Synchronisation donneuse-receveuse	32
CONCLUSION.....	33
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	34

Introduction

INTRODUCTION

Le transfert embryonnaire chez la jument est une pratique existant depuis les débuts des années 70 le 1^{er} ayant été réalisé au Japon. S'étant développé plus tard que chez les animaux de production cette technique est toujours restée assez confidentielle dans le domaine équin et n'a pas connu le développement exponentiel qu'elle a connu chez les animaux de production en général et les bovins en particulier. Ce retard de développement a été imputable à plusieurs paramètres : intérêt économique limité, réticence des stud-books face à cette technique. (SAUVIER CHARLOTTE, 2016)

Le transfert embryonnaire chez l'espèce équine a un rôle très important dans la conservation des races et l'amélioration génétiques de ces dernières, il permet l'entrée précoce des compétitrices en reproduction sans que celles-ci n'arrêtent les compétitions, et il permet d'avoir plusieurs produits issues des mêmes parents dans la même saison de monte, de plus il joue un rôle économique et commercial en effet il existe plusieurs sociétés dans les pays qui ont développé cette pratique qui se sont spécialisées dans la récolte et la conservation des embryons et leur commercialisation.

Pour l'Algérie il est très important d'encourager le transfert embryonnaire chez la jument à fin de protéger son patrimoine génétique et conserver les races locales (le barbe, l'arabe barbe et le pur- sang arabe) et développer d'autres races qui pourront être des races porteuses par excellence.

Dans notre présent travail on s'est intéressé au transfert embryonnaire chez la jument et ses différentes techniques qu'elle soit chirurgicales ou non chirurgicales.

Chapitre I

*ANATOMIE DE L'APPAREIL
GENITAL FEMELLE*

Anatomie de l'appareil génital de la jument :

A. Anatomie de l'appareil génital de la jument (BARONE, 1978) :

L'appareil génital de la femelle a pour rôle, d'une part l'élaboration des gamètes et des hormones sexuelles, et d'autre part d'être le siège de la fécondation, de la gestation et de la mise bas. L'appareil génital peut être divisé en trois grandes parties selon leur fonction (figure 1)

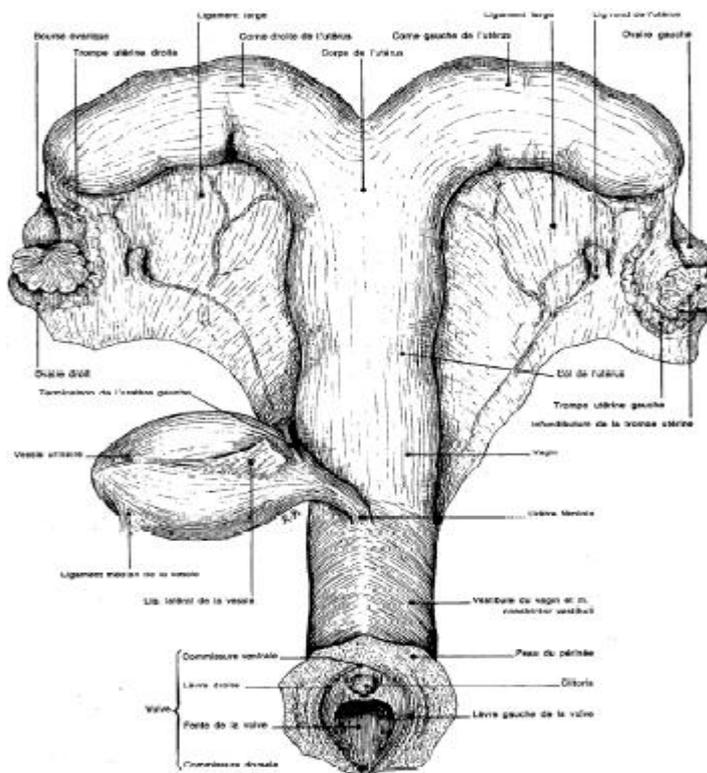


Figure1 :Appareil génital d'une jument (BARONE 1978) Vue ventrale après étalement.

- **la section glandulaire**, constituée par les ovaires qui produisent les ovocytes et différentes hormones.

- **la section tubulaire**, constituée par les voies génitales proprement dites, et qui présente trois étages : les trompes utérines captent les ovocytes et sont le siège de la fécondation ; l'utérus reçoit l'œuf fécondé, permet la mise en place du placenta puis le développement fœtal ; enfin le col de l'utérus et le vagin séparent le corps de l'utérus du sinus uro-génital, - **le sinus uro-génital**, est constitué du vestibule du vagin et de la vulve, qui permettent de recevoir le pénis de l'étalon lors de la saillie ainsi que le passage du nouveau-né lors de la mise bas.

2. *Le sinus uro-génital :*

La vulve est la partie la plus postérieure du tractus génital et occupe la partie ventrale du périnée. Les deux lèvres de la vulve délimitent la fente vulvaire médiane, et sont relativement minces. Leur peau est fine, très pigmentée et presque dépourvue de poils.

La commissure dorsale est étroite et aiguë tandis que la commissure ventrale, située 5 à 6 cm ventralement à l'arcade ischiatique est plus large et plus arrondie (figure 2).

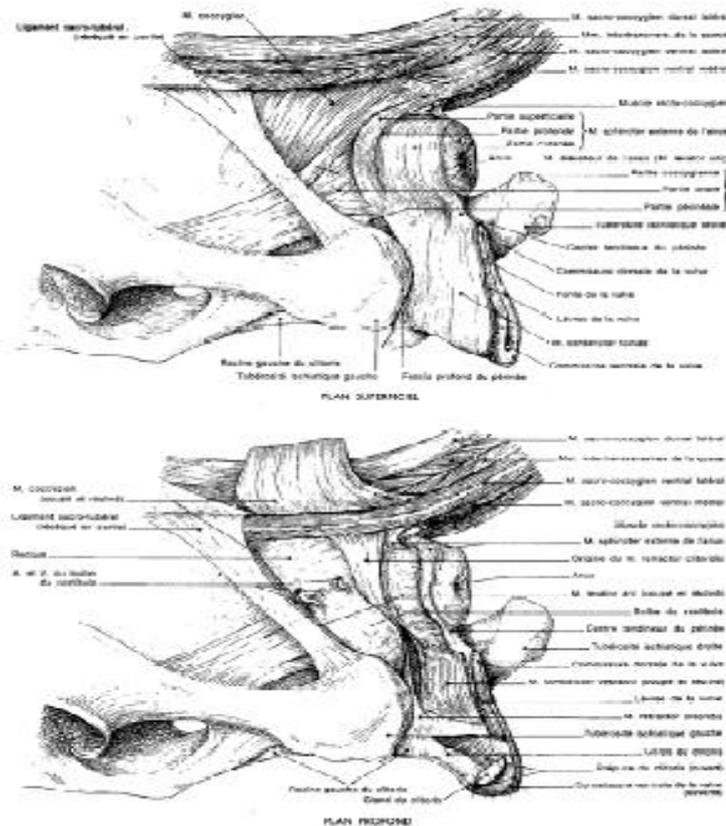


Figure 2 : Sinus urogénital de la jument (BARONE 1978).

Le clitoris mesure 7 à 9 cm de long, et son gland est visible dans la fosse clitoridienne, profonde de 1 à 2 cm, à la commissure ventrale des lèvres de la vulve.

Le vestibule du vagin est un conduit long de 10 à 15 cm, et haut de 4 à 6 cm à l'état de repos, incliné ventro-caudalement. Il est tapissé d'une muqueuse formant des plis longitudinaux peu élevés.

L'ostium externe de l'urètre s'abouche au plancher du vestibule à une douzaine de centimètres crânialement à la commissure ventrale de la vulve. Il a l'aspect d'une fente transversale et est très dilatable. Le vestibule du vagin possède à sa limite caudale un bulbe érectile pair, bien net et fort. Ce bulbe est haut de 5 à 6 cm, large de 3 cm, et épais d'un centimètre environ. Son extrémité dorsale est arrondie, relativement large. L'extrémité ventrale s'incurve en direction caudale pour rejoindre son homologue du côté opposé.

L'ensemble forme *l'anneau vestibulaire*, qui assure une fermeture assez efficace des voies génitales postérieures.

2. Le vagin et l'utérus

Le **vagin** s'étend du col de l'utérus à l'anneau vestibulaire. C'est un organe tubulaire de 20 à 25 cm de long en moyenne. Ses parois sont relativement minces et distensibles. En effet, le diamètre extérieur du vagin à l'état vacuitaire est de 3 à 5 cm dorso-ventralement, pour 6 à 9 cm transversalement, mais ses possibilités de dilatation ne sont limitées que par le squelette de la ceinture pelvienne qui l'entoure. L'extrémité crâniale du vagin vient s'insérer autour du col utérin en ménageant autour de la portion vaginale de celui-ci un cul-de-sac circulaire : le **fornix du vagin**, régulièrement annulaire, et de profondeur à peu près égale partout.

L'extrémité caudale, généralement plus étroite, est en relation avec le vestibule du vagin. Cette communication constitue **l'ostium du vagin**. Son pourtour est marqué par un vestige du tubercule sinual qui constitue **l'hymen**, cloison bien développée chez 80% des jeunes pouliches, et parfois même imperforée chez quelques-unes.

La plus grande partie du vagin est logée dans le conjonctif du bassin. Sa face dorsale répond au rectum par l'intermédiaire du mince **fascia recto-vaginal**. Sa face ventrale est en contact avec la vessie et l'urètre. Les uretères le croisent de part et d'autre au voisinage de l'entrée du bassin. Le tiers crânial du vagin est tapissé par le péritoine, qui s'enfonce entre le vagin et le rectum pour former le **cul-de-sac recto-génital**, et entre d'une part le vagin et l'utérus et d'autre part la vessie, pour former le **cul-de-sac vésico-génital**. Ces deux culs-de-sac sont complètement séparés l'un de l'autre par **l'insertion du ligament large** de part et d'autre du vagin. Le vagin est fixé crânialement par son insertion autour du col de l'utérus et par le péritoine. Caudalement il est relié par continuité à son **vestibule**, qui le solidarise à la vulve (figure 3).

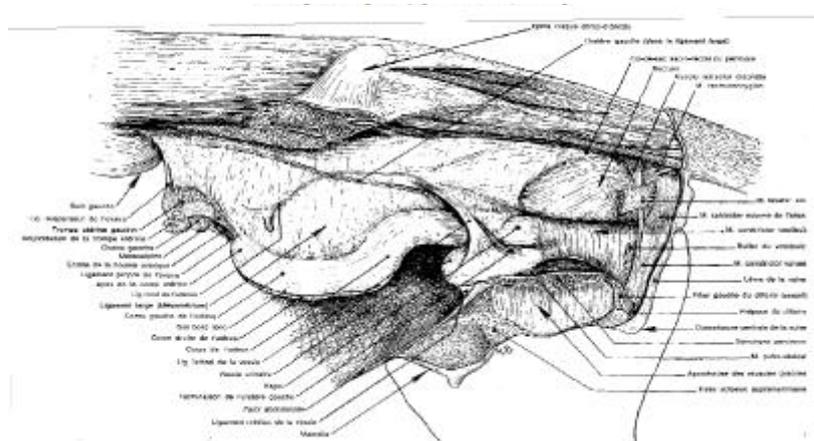


Figure 3 : Organes pelviennes vue latérale gauche disséqués en place (BARONE 1978)

Dans sa fixation interviennent également **les troncs vasculaires et nerveux** qui proviennent des parois du bassin, ainsi que le conjonctif **retropéritonéal**.

Le col de l'utérus est constitué par un très fort épaissement de la paroi du tractus génital entre le corps de l'utérus et le vagin, qui atteint 30 à 35 mm d'épaisseur. Il délimite le **canal cervical**, rectiligne, long de 5 à 8 cm, tapissé d'une muqueuse plissée longitudinalement. **L'ostium interne** du canal cervical forme un court infundibulum représentant l'isthme. **L'ostium externe** est porté au sommet d'une portion vaginale saillante de 3 à 4 cm et circonscrite par un **fornix** du vagin formant un cul de sac annulaire et régulier. Les plis épais, peu saillants et peu festonnés dans le canal cervical se réfléchissent sur le revers vaginal de cette saillie en se multipliant et se subdivisant tout en s'amincissant. Cet ensemble est couramment dénommé « **fleur épanouie** ».

La portion vaginale est brève et à peine plissée avant la puberté où l'ostium externe de l'utérus a l'aspect d'une fente transversale. A la puberté, l'ostium devient circulaire en même temps que sa bordure s'épaissit beaucoup et se plisse. La morphologie du col varie de façon remarquable au cours des cycles sexuels. Dans les périodes de repos, cet organe est dur, complètement fermé, de teinte pâle. Il commence à ramollir dans le proœstrus. Au moment de l'oestrus, il est devenu moins saillant, relâché et mou, et comme affaissé sur le plancher vaginal. On peut aisément y introduire un puis deux doigts en même temps que ces plis deviennent bas, noyés dans un mucus épais et abondant. Il est alors très coloré, congestionné et rougeâtre. Vers le moment de l'ovulation, il est très sensible et présente une alternance de contraction et de relâchements. Ces phénomènes rétrocedent rapidement dans le metœstrus : trois ou quatre jours après l'ovulation, le col, encore coloré et un peu épaissi, est déjà presque totalement fermé et beaucoup moins souple. Il a repris totalement ses caractères de repos au bout de 8 à 10 jours. Le col est en contact dorsalement avec le rectum et ventro-caudalement avec la vessie. Il n'est pas rare de retrouver des anses intestinales interposées, étant donnée la profondeur des **culs-de-sac péritonéaux** (figure 4). **L'utérus** est l'organe de gestation. C'est un viscère creux, pourvu d'une muqueuse riche en glandes et d'une musculature puissante. Il est appendu de chaque côté à la région lombaire par un **fort méso, le ligament large**. Chez la jument, l'utérus est de type **bicornual**: le corps est bien développé et a peu près aussi long que les cornes. La forme générale de l'utérus représente une sorte de **T ou de Y**. Il est long d'une quarantaine de centimètres, dont 5 à 8 pour le col, 14 à 24 pour le corps, et 12 à 20 pour

les cornes. Le corps est large de 6 à 8 cm et les cornes de 5 à 6 cm. L'organe isolé pèse en moyenne 800grammes.

Les cornes utérines sont cylindroïdes, un peu convexes ventralement (bord libre ou grande courbure) et concaves par leur **bord mésométrial** (ou petite courbure, donnant insertion au ligament large) qui est dorsal. Leur **sommet ou apex** est voisin de l'ovaire et reçoit la **trompe utérine**. Il est à peu près hémisphérique et très nettement délimité, ce qui donne en son milieu une implantation nette à la trompe utérine. La base des cornes délimite avec celle de la corne opposée un étroit **fundus** qui forme une limite précise au corps de l'utérus. Le corps de l'utérus est **cylindroïde**, nettement aplati dans le sens dorso-ventral, ce qui permet de lui reconnaître deux faces, deux bords, ainsi que deux extrémités. La face dorsale et la face ventrale sont lisses et convexes d'un côté à l'autre. Les bords, à droite et à gauche, donnent attache à la partie caudale du ligament large et prolongent ainsi le bord mésométrial des cornes. L'insertion du ligament large est plus proche de la face dorsale que de la face ventrale. L'extrémité caudale du corps de l'utérus se prolonge par le col de l'utérus.

Les rapports et la topographie de l'utérus sont surtout déterminés par la disposition de l'intestin et la situation haute des ovaires. Le col est placé entre le rectum et la partie crâniale de la vessie et seule la moitié caudale ou le tiers du corps utérin sont dans la cavité du bassin. Comme les culs de sac correspondants du péritoine sont profonds et atteignent le vagin, il n'est pas rare de trouver des anses jéjunales interposées entre ces parties de l'utérus et le rectum, ou la courbure pelvienne du gros côlon entre leur face ventrale et la vessie. **Les cornes utérines flottent** parmi les circonvolutions du jéjunum et du petit colon et entrent en contact avec la **base du caecum**. Souvent, les viscères intestinaux le plaquent contre la paroi lombaire ou la partie adjacente des flancs. **L'apex** de chacune des cornes utérines est situé au niveau de la **quatrième ou cinquième vertèbre lombaire**, 15 à 20 millimètres ventro-caudalement à l'ovaire correspondant (figures 4).

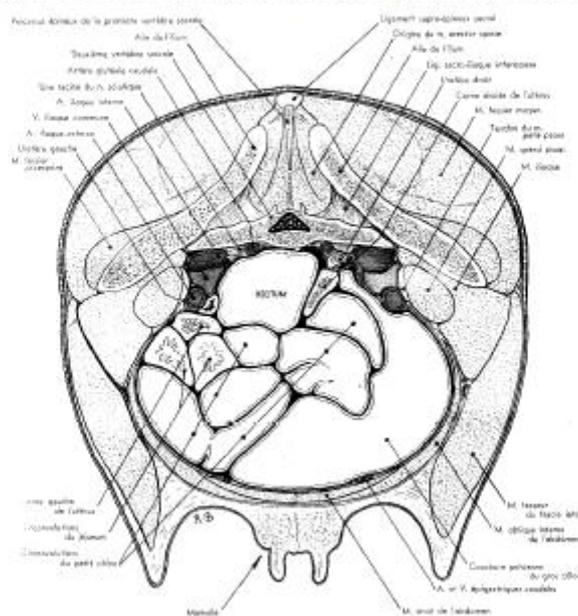


Figure 4 :coupe transversale de l'abdomen d'une jument passant par la première vertèbre sacrale (sujet congelé debout vue crâniale de la coupe) (BARONE 1978).

Chaque ligament large est long, inséré au voisinage du rein, en regard de la troisième vertèbre lombaire, jusqu'au fond du bassin, en convergeant caudalement vers le mésorectum. Il est riche en **faisceaux de fibres musculaires lisses**. Son bord ventral est assez régulièrement convexe et son insertion s'étend caudalement jusque sur le vagin. Son extrémité crâniale est presque **deux fois plus ample que l'extrémité caudale** ; sa bordure est nettement renforcée par le **ligament suspenseur de l'ovaire**. Le **ligament rond de l'utérus** est bien visible à la face latérale du ligament large. Il commence un peu dorsalement à l'apex de la corne, où il détache un appendice arrondi, plus ou moins long et flottant. Son étroit **mésos'efface** rapidement en direction caudale. L'extrémité caudale du ligament lui-même se perd dans le **conjonctif sous-péritonéal** au voisinage de l'anneau inguinal profond ; elle se continue dans certains sujets jusque dans l'espace inguinal (figure 5).

La trompe utérine ou **salpinx** est un conduit étroit qui reçoit les ovocytes libérés par l'ovaire, abrite la **fécondation** et assure le transfert du **zygote et des embryons** en cours de clivage puis de développement jusqu'à l'utérus (jusqu'au stade blastocyste). Chez la jument, ce conduit est long de 20 à 30 cm, mais étant pelotonné, ses flexuosités réduisent le trajet à une dizaine de cm. **Les trompes utérines** ont un diamètre de 5 à 9 mm au début de l'ampoule

3. Les ovaires :

Les ovaires représentent les glandes génitales de la femelle. Ils ont pour fonctions **l'ovogénèse** et la sécrétion **endocrine** par leur production d'hormones régulant l'activité génitale. Les ovaires ont une forme **de haricot**, mais leur taille et leur forme varient avec la race, l'âge des sujets, la saison et la période du cycle. Ils mesurent environ 7 cm sur 4 et pèsent en moyenne 60 grammes avec des variations de 20 à 170 grammes. La conformation de l'ovaire est caractéristique chez la jument : schématiquement, sur une coupe frontale, l'ovaire de la jument a une disposition particulière, **inverse de celle des autres espèces**. En effet, **la medulla** est externe et **le cortex** est interne et ne communique avec l'extérieur qu'au niveau de l'épithélium germinatif dans **la fosse d'ovulation** (figure 7).

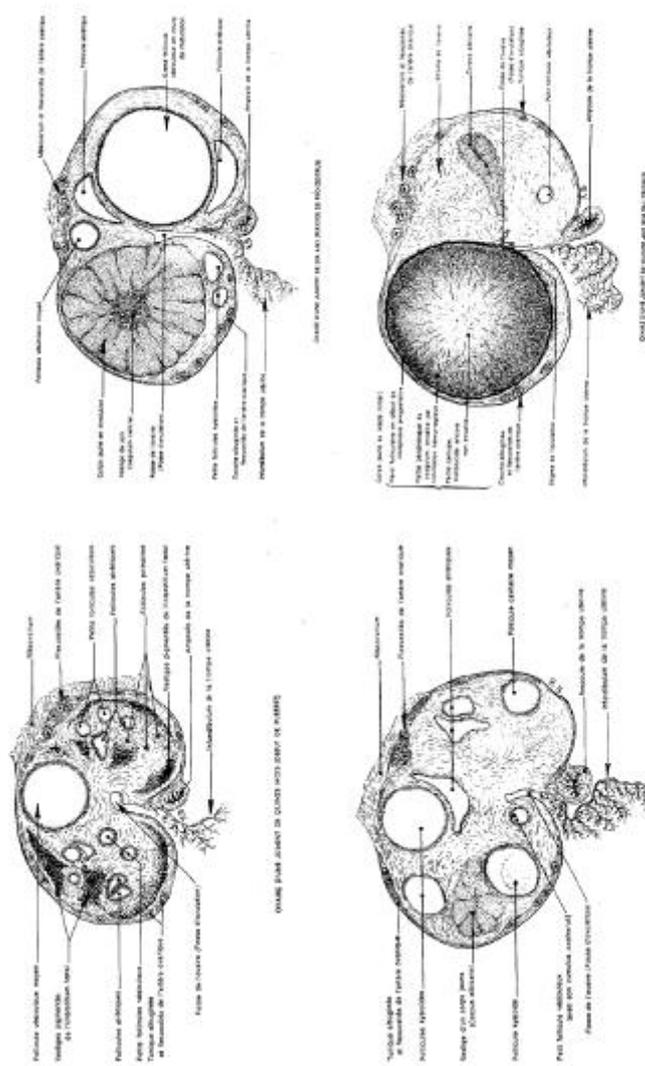


Figure 7 : Coupe interne de l'ovaire d'une jument(BARONE 1978).

La fosse d'ovulation forme une encoche profonde au niveau du bord libre, qui est

ventro-crânial. Elle est bordée par une ligne limitante nette et son bord crânial donne attache à une fimbria ovarica large et courte. A l'exception de cette fosse, toute la glande est couverte par le péritoine, qui la rend lisse et blanchâtre. Les extrémités sont arrondies et épaisses, incurvées de part et d'autre de la fosse. L'extrémité tubaire est crâniale, située nettement plus dorsalement et un peu plus latéralement que l'extrémité utérine. Le bord mésovarique, dorso-caudal, est régulièrement convexe, dépourvu de hile.

Les ovaires sont en général situés en regard de la quatrième ou cinquième vertèbre lombaire, à distance variable du pôle caudal des reins (5-15 cm) et à 1,5-2 cm de l'extrémité correspondante des cornes utérines. La pression des viscères digestifs les maintient en général contre la paroi lombaire ou à son voisinage, bien que le mésovarium soit haut d'une quinzaine de centimètres. Sur un animal de taille moyenne, la distance entre le périnée et les ovaires est de 50 à 60 cm, ce dont il convient de tenir compte lors de l'exploration rectale. L'ovaire droit est en rapport avec la base du caecum, parfois avec le duodénum, voire le jéjunum. Le gauche est mêlé aux circonvolutions de ce dernier et du petit colon, parfois en contact avec le colon dorsal gauche. Chacun présente en outre les rapports habituels avec la trompe utérine et les constituants de la **bourse ovarique**. Cette dernière est d'étendue variable, en fonction du développement du mésosalpinx. Chez certains sujets, elle peut être peu profonde et très largement ouverte. Plus souvent, le mésosalpinx tend à envelopper l'ovaire et cache la fosse d'ovulation, voire s'accroche aux extrémités de la glande.

L'ovaire est fixé par différentes structures. Le **mésovarium** suspend l'ovaire. Il constitue la partie la plus crâniale du ligament large, qui porte l'ensemble du tractus génital. Il est attaché au bord mésovarique de la glande, mais se prolonge jusqu'à la partie adjacente de l'utérus, de façon à présenter entre les deux organes un court bord libre occupé par le ligament propre de l'ovaire. Sa face médiale se continue sans démarcation avec le reste du ligament large. Sa face latérale donne insertion au mésosalpinx (figure 8).

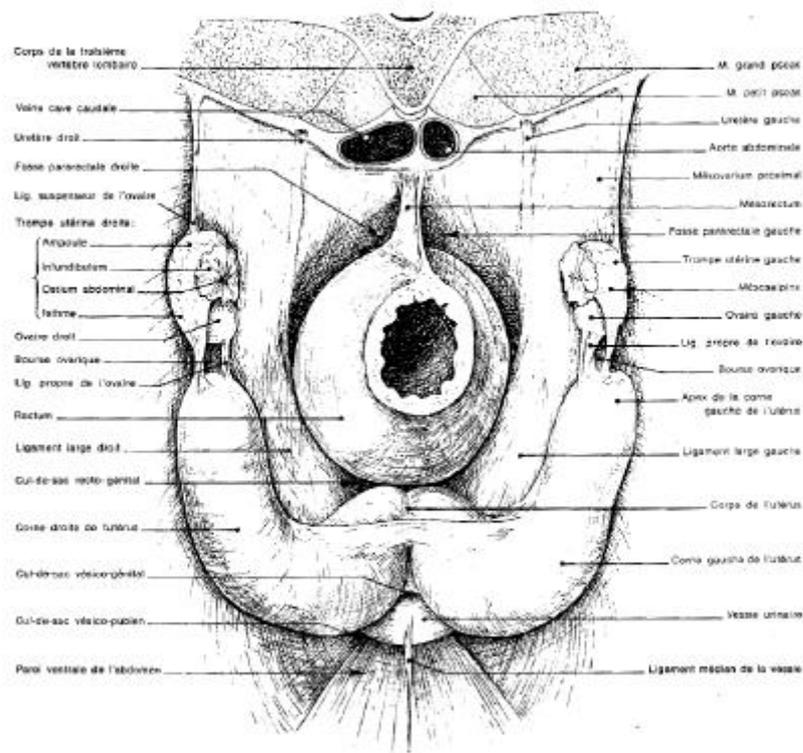


Figure 8 : Vue crâniale des organes pelviens de la jument, en place, après ablation des viscères abdominaux (BARONE 1978).

Le **ligament suspenseur** de l'ovaire occupe le bord crânial du mésovarium et se porte de la paroi lombaire, où il s'attache au voisinage du rein, à l'extrémité tubaire de l'ovaire.

Le **ligament propre** de l'ovaire (ligament utéro-ovarique), s'étend de l'extrémité utérine de l'ovaire à l'extrémité correspondante de la corne utérine. C'est la partie libre du bord distal du mésovarium, épaissie par un axe conjonctif dense, mêlé de fibres élastiques et musculaires lisses. Il est particulièrement épais et fort chez la jument.

La **fimbria ovarica** (ligament tubo-ovarique) est une des franges de l'infundibulum de la trompe utérine, que double le bord correspondant du mésosalpinx et qui s'attache à l'extrémité tubaire de l'ovaire.

La **bourse ovarique** est délimitée par le mésovarium et le mésosalpinx. Elle résulte en quelque sorte d'un dédoublement du ligament large en regard de l'ovaire.

La structure ovarienne est d'un type particulier. Un **stroma** dense soutient uniformément tous les autres éléments. Il est fortement fibreux sous le péritoine, c'est-à-dire sur toute la périphérie de l'organe sauf la fosse d'ovulation et l'épaisseur de cette albuginée

s'oppose à la déhiscence des follicules ailleurs que dans la fosse. La partie profonde de cette enveloppe loge les principaux vaisseaux. L'albuginée reste au contraire très mince et peu fibreuse au niveau de la fosse d'ovulation, où font défaut les gros vaisseaux.

La zone vasculaire, ou **medulla** est périphérique et très mince, à l'inverse des autres espèces.

Les follicules ovariens ont un devenir variable. Certains s'accroissent régulièrement jusqu'à maturation et déhiscence. Après libération de l'ovocyte, chacun d'eux donne naissance à un corps jaune, glande endocrine temporaire dont la sécrétion prépare le tractus génital à la gestation et se prolonge éventuellement pendant celle-ci. D'autres, beaucoup plus nombreux, interrompent plus ou moins tôt leur évolution et régressent.

Les follicules sont organisés comme dans les autres espèces, mais peuvent se rencontrer en tous les points de l'organe. Les follicules primordiaux et primaires, très nombreux la première année, évoluent et deviennent si rares et petits après la puberté qu'il est plus difficile de les observer. Les follicules secondaires qui ont l'aspect d'une vésicule sphérique remplie de liquide sont peu nombreux sur un même ovaire. Encore appelés follicules vésiculeux, ils sont composés d'un antrum folliculaire rempli de liquide folliculaire, d'une granulosa, d'un ovocyte primaire qui achève sa croissance, d'une thèque interne et d'une thèque externe.

A maturité, on parle de follicule mûr. Leur diamètre atteint 3 à 5 cm, leur taille moyenne étant de 45 mm au moment de l'ovulation [GINTHER, 1979], de sorte qu'ils s'appliquent d'une part contre l'albuginée des faces ou d'une extrémité, qu'ils déforment et soulèvent, et d'autre part contre la fosse d'ovulation de l'ovaire.

Chapitre II

*PHYSIOLOGIE DE LA
REPRODUCTION*

B. Rappels de physiologie de la reproduction de la jument

1. Saisonnalité

La jument est un animal **polyoestrien saisonnier** : dans l'hémisphère nord, l'activité sexuelle physiologique de la jument s'étend en moyenne de fin avril à octobre et diffère en cela de la saison administrative qui débute en février et s'arrête en juillet. Il existe une forte corrélation entre l'augmentation de la durée du jour et l'apparition des ovulations. La jument n'ovule pas toute l'année. Il existe une **saison ovulatoire** qui débute le jour de la première ovulation et se termine le jour de la dernière ovulation. Cette période varie d'un individu à l'autre et pour un même individu d'une année à l'autre. Dans de bonnes conditions d'entretien, on estime que 15-20% des juments conservent une activité cyclique toute l'année (BLANCHARD *et al.*, 2003). L'espace de temps pendant lequel il n'y a pas d'ovulation constitue la **saison anovulatoire ou anoestrus saisonnier**.

a. La saison anovulatoire

La saison anovulatoire s'étend de la dernière ovulation de l'année précédente jusqu'à la première ovulation de l'année suivante. Elle est caractérisée par l'absence d'ovulation, et précède la saison ovulatoire.

C'est une saison évolutive qui comprend trois périodes :

- une période d'inactivité ovarienne : **anoestrus profond**,
- une période de réveil ovarien : **anoestrus superficiel**,
- une période de transition vers la cyclicité : **oestrus prolongé ou hyperoestrus**.

Pendant l'**anoestrus profond** :

- Les ovaires sont petits avec des follicules inférieurs à 5 mm de diamètre.
- Le col est dur, ferme, facile à individualiser par palpation transrectale.
- L'utérus est atone, flasque, difficile à individualiser.
- Les niveaux de FSH et LH sont bas.

Pendant l'anoestrus superficiel

- Les ovaires sont plus actifs, avec des follicules de 5 à 30 mm.
- Le col est pale, dur, ferme, facile à individualiser par palpation transrectale. 28 - L'utérus est peu tonique, mais plus facile à individualiser.
- Les niveaux des FSH sont plus élevés, proches de ceux de la saison ovulatoire. Le niveau de LH est bas.

Pendant la phase de transition :

- La jument est en chaleur, de façon plus ou moins marquée. Cette chaleur peut durer 28 à 63 jours avant de se terminer par la première ovulation.
- Les ovaires sont actifs avec des follicules de 5 à 30 mm.
- Le col est plus ou moins rose, plus ou moins relâché, plus souple à la palpation.
- Le niveau de FSH est élevé. Le niveau de LH reste bas jusqu'au moment où son élévation va conduire à la première ovulation.

b. La saison ovulatoire

La saison ovulatoire va de la première à la dernière ovulation de l'année. Elle est rythmique et se caractérise par le **cycle oestral**.

La durée de l'**oestrus** est de 6 à 8 jours en moyenne. Elle peut varier selon les animaux de 3 à 12 jours.

L'**interoestrus** s'étend sur une période plus constante de 12 à 18 jours, avec une moyenne de 15 jours.

La somme des deux, correspondant au **cycle sexuel**, dure en moyenne de 21,5 jours, avec des variations de 18 à 25 (voire à 36) jours.

La durée de l'oestrus étant très variable, elle est peu fiable pour surveiller le retour des juments en chaleur. Ainsi, pour une même jument, l'oestrus ovulatoire est assez long en début de saison (avril-mai) ; il diminue progressivement et finit par se stabiliser en été et ré-augmente en automne. Il est donc préférable de prendre en compte la durée de l'interoestrus (beaucoup moins variable) plutôt que la durée totale du cycle. On cherchera donc les manifestations de l'oestrus 15 jours après la fin de l'oestrus précédent.

Pendant l'oestrus, à l'examen transrectal, l'utérus a une consistance flasque, le col de l'utérus est relâché et flasque.

Pendant l'interoestrus, l'utérus est tonique, et le col long, étroit et ferme (BLANCHARD *et al.*, 2003).

La jument revient en chaleur très rapidement après la mise-bas : entre 7 à 12 jours, ce qui constitue une particularité spécifique. Ces chaleurs durent environ 4 jours et leur fertilité est normale.

La programmation de cette chaleur provient de la levée de l'inhibition hypophysaire due à l'arrêt de la sécrétion de stéroïdes (oestrogènes, progestagènes) par l'unité foetoplacentaire. Il y a élévation des niveaux plasmatiques de FSH puis de LH dès le poulinage.

Après cette première chaleur, deux cas peuvent se présenter si la jument n'est pas gravide : il y a soit reprise de la cyclicité ; soit il y a absence de cyclicité, due à la présence d'un corps jaune persistant (dans le cas d'un poulinage tardif) ou due à l'inactivité ovarienne (anoestrus de lactation).

2. Evolution des évènements hormonaux du cycle ovarien

Pendant le cycle oestral, les évènements se déroulent schématiquement à deux niveaux : au niveau hypophysaire par la sécrétion des gonadotrophines FSH et LH, et au niveau ovarien par l'alternance d'organites sécrétant temporaires que sont le follicule (sécrétant des oestrogènes) et le corps jaune (sécrétant la progestérone).

a. Evolution au niveau hypophysaire

Le jour de l'ovulation est noté J0. Le taux circulant de LH s'élève dès le début de l'oestrus pour atteindre son sommet 24 à 36 heures après l'ovulation et revient à son minimum à J5.

En début de saison, la sécrétion de FSH prend une allure bimodale au cours du cycle oestral. Seul le deuxième pic subsiste en fin de saison. Le taux sanguin de FSH s'élève à partir du J0 jusqu'au J3-J4, passe par un minimum à J8 pour atteindre à nouveau un deuxième pic à J13.

b. Evolution au niveau ovarien

Au niveau ovarien, la croissance folliculaire s'accompagne d'une augmentation de production oestrogénique, tandis que la mise en place du corps jaune est associée à une prépondérance de la progestérone.

de J0 (jour de l'ovulation) à J5, on assiste à la mise en place du corps jaune, structure qui sécrète la progestérone,

de J5 à J13, le corps jaune est actif, et la sécrétion de progestérone atteint un plateau,³⁰ de J13 à J17, en l'absence de signal embryonnaire, l'utérus sécrète une prostaglandine : PGF_{2α} qui entraîne la lyse du corps jaune et la sécrétion de progestérone devient minimale en 48h.

à J17, c'est le début de l'oestrus ; le plus gros des follicules préovulatoires (qui se sont développés de J10 à J17 sous l'effet de la FSH) continue seul sa croissance et la sécrétion des oestrogènes, dont le niveau est maximum juste avant l'ovulation. Les autres follicules préovulatoires (recrutés entre J10 et J17 sous l'effet de la FSH) s'atréfient.

L'ovulation aura lieu grâce à l'élévation du taux de sécrétion de LH.

3. La croissance folliculaire

Chez la jument, la croissance folliculaire normale est linéaire. Le diamètre du follicule croît à la vitesse de 3 à 3,5 mm par jour. Ce diamètre reste à une valeur plateau pendant quelques jours puis décroît 2 fois moins vite, c'est à dire 1,5 mm par jour. On perçoit ainsi un follicule dégénératif deux fois plus longtemps que pendant sa croissance. Il faut savoir que la population folliculaire évolue par vagues où il y a simultanément croissance de follicules et décroissance de follicules atreétiques.

La palpation transrectale et l'échographie mettent en évidence, sur un ovaire d'une jument cyclée, un certain nombre de follicules de taille et de consistance variables, suivant le cycle, associés ou non à un corps jaune. Afin de déterminer le stade du cycle d'une jument, il est important de recenser le nombre et la taille des follicules, ainsi que leur évolution, lorsque l'on procède à l'examen de la jument en reproduction.

4. L'ovulation

C'est le moment de l'ovulation que, par déhiscence folliculaire, l'ovocyte va quitter le follicule pour être récupéré par le pavillon qui va le conduire vers la trompe utérine où aura lieu la fécondation.

Le follicule mesure en moyenne 40 à 45 mm au moment de l'ovulation (30-70 mm). Il est d'une importance capitale de bien diagnostiquer le moment de l'ovulation si on veut améliorer les chances de fécondation. En effet, l'ovocyte a une survie très brève, de 6 à 12

heures, et les spermatozoïdes survivent en moyenne 24 à 48 heures. Pour améliorer la fertilité par chaleur, le vétérinaire se doit d'essayer de prédire l'ovulation de façon à programmer l'insémination artificielle avant et le plus près possible de l'ovulation.

En conséquence, il est nécessaire de pratiquer des examens fréquents pendant l'oestrus, l'idéal étant des examens quotidiens, voire biquotidiens, comme cela est pratiqué lors d'utilisation de sperme congelé pour l'insémination artificielle.

Il est important de bien apprécier la taille et la consistance du follicule préovulatoire, ainsi que sa forme qui devient ovoïde pour 85% des follicules avant l'ovulation. Dans ce cadre, un examen échographique se révèle intéressant.

Chapitre III

TRANSFERT EMBRYONNAIRE

1) Définition

La transplantation embryonnaire est une méthode artificielle de reproduction consistant à prélever (récolter, collecter) un embryon issu d'une fécondation « in vivo » (après saillie ou insémination artificielle) sur une femelle appelée donneuse et à transplanter (ou transférer) cet embryon dans l'utérus d'une femelle appelée receveuse (ou porteuse). Il y poursuivra sa croissance et son développement jusqu'à la mise-bas. Cette même receveuse assurera également la lactation.

2) Historique

La transplantation embryonnaire a été utilisée la première fois chez la lapine en 1890 par l'anglais W. HEAPE. Les premiers travaux chez les équins ont été publiés en 1972 par OGURI et TSUTSUMI mais c'est seulement huit ans plus tard que ces mêmes auteurs annoncent le premier succès de transfert d'embryon chez la jument (80).

Parce qu'elle donnait de meilleurs résultats, la première méthode utilisée fut la technique chirurgicale. Les transferts s'effectuaient sous anesthésie générale par la ligne blanche puis par le flanc sous anesthésie locale et sur des juments debout. Parallèlement s'est développée une méthode non-chirurgicale ; l'embryon était alors déposé dans l'utérus par voie cervicale.

En France, les premiers essais de transfert par voie cervicale ont débuté en 1982 (70). Du matériel de transfert conçu pour les bovins a d'abord été utilisé puis un matériel plus spécifique à l'espèce équine a progressivement été mis au point pour permettre en 1985 de réaliser la première transplantation embryonnaire commerciale à l'INRA de Tours sur la jument Blandice de Monsieur ROCHEFORT. Depuis, plus de 500 poulains sont nés en France grâce à la transplantation embryonnaire (66).

B. ASPECTS TECHNIQUES

1) Préparation des juments donneuses

a) Sélection et traitement des donneuses

Il est préférable de connaître le passé reproducteur des juments donneuses et de réaliser au préalable un examen gynécologique complet (examen transrectal et échographique, prélèvement utérin en vue d'effectuer un examen cytologique et bactériologique, biopsie

utérine) (24) afin de pouvoir établir un pronostic et évaluer les chances de succès. Les juments considérées comme subfertiles (66) ou âgées (105) ont en effet un taux de récolte faible et des embryons de moins bonne qualité.

Il serait également intéressant de pouvoir obtenir comme chez les ruminants plusieurs embryons par collecte et d'augmenter alors la probabilité d'avoir au moins une gestation après transfert. Cependant les meilleurs résultats actuels ne permettent d'obtenir au moyen d'extrait pituitaire équin (EPE) que deux embryons en moyenne par jument à la suite de 3 ou 4 ovulations par cycle (105). Ces résultats sont en outre peu homogènes entre animaux et peu reproductibles d'une expérience à l'autre (11). Enfin, il n'existe pas d'EPE commercialisé et les autres substances testées sont encore moins actives (48).

Devant l'impossibilité de mettre en œuvre un traitement efficace de superovulation chez la jument, la seule solution est donc d'exploiter un maximum de cycles dans l'année. Un traitement photopériodique aboutissant à un éclaircissement de 15 à 16 heures par jour et appliqué à partir du 1^{er} décembre permet d'obtenir des juments prématurément cyclées en tout début de saison officielle de reproduction (15 février). Par la suite, une injection lutéolytique de prostaglandines F2 α le jour de la récolte permet de réduire l'interoeustrus, augmentant encore le nombre de cycles exploitables. Ainsi, une jument en bonne condition peut donner potentiellement 6 à 8 embryons par an (25).

b) Synchronisation

Par ailleurs, le transfert d'embryon ne peut se faire que chez une receveuse dont le cycle est synchrone avec celui de la donneuse. Aussi, la préparation de cette dernière doit comprendre un traitement de synchronisation. Deux types de protocoles sont actuellement utilisés (Figure 9). Le premier consiste en deux injections de prostaglandine ou d'un analogue de synthèse à 14-18 jours d'intervalle. Le second qui semble être le plus performant (15) consiste en un traitement mixte de progestatifs (allyltrenbolone) à raison de 40 mg par jour per os pendant 7 à 10 jours suivi d'une injection de prostaglandine ou d'un analogue le dernier jour du traitement. L'ovulation a lieu autour du 9^{ème} jour après la dernière injection avec une variabilité assez importante (Figure 2). On peut améliorer la précision du moment de l'ovulation par injection de 2500 UI d'hCG (human Chorionic Gonadotropin) par voie intraveineuse. Ceci permet d'induire l'ovulation dans les 24 à 48 heures si l'injection est faite en présence d'un follicule souple de diamètre supérieur ou égal à 35 mm.

c) Suivi gynécologique

Dès le début de l'œstrus, un suivi échographique quotidien est impératif afin de suivre la croissance du ou des follicules, de déterminer le moment de l'insémination ou de la saillie et de diagnostiquer le plus précisément possible la date d'ovulation pour programmer le jour de la récolte de l'embryon. Les meilleurs résultats sont obtenus après saillie naturelle ou insémination en sperme frais ou réfrigéré, la qualité de la semence étant réputée meilleure que celle du sperme congelé. En pratique, cette différence tend actuellement à disparaître (73).

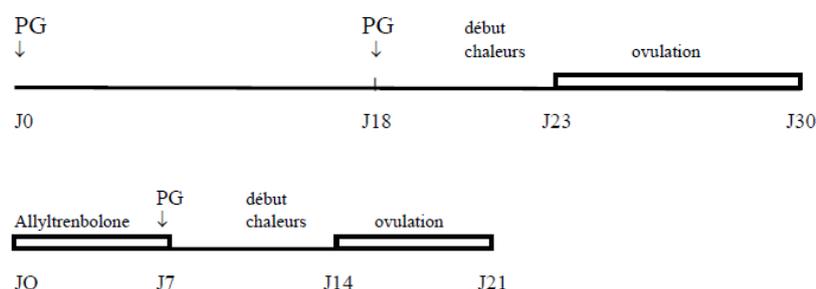


Figure 9: Deux méthodes de synchronisation des chaleurs d'après BRUYAS et Al (2013), PG : prostaglandine F2 alpha.

2) Préparation des juments receveuses

a) Sélection des receveuses

Une attention toute particulière doit être apportée à la sélection des juments receveuses. En effet, avant d'exprimer leurs qualités maternelles, elles devront assurer le développement de l'embryon puis du fœtus dans de bonnes conditions. Peu d'études se sont intéressées au gabarit idéal d'une receveuse ; il semble que son poids doive se situer entre 400 et 800 kg. De plus, la taille de l'utérus aurait une incidence sur la taille du poulain à la naissance. D'après LAGNEAUX (66), TISCHNER (1998) mentionne que l'effet de la receveuse sur le poulain est davantage dû à des facteurs gestationnels (irrigation sanguine, volume utérin) qu'à des effets postnataux (lactation par exemple). On évitera donc les races de type poney comme receveuses de juments de selle.

La qualité de l'appareil reproducteur est également très importante dans le choix d'une receveuse. Tous les auteurs s'accordent à dire que les juments présentant un défaut externe (conformation) ou interne (kystes utérins, adhérence de l'endomètre, tumeur ovarienne) de l'appareil reproducteur ne doivent pas être retenues comme receveuses (66, 105). En

pratique, on préférera donc utiliser de jeunes juments maidens (nullipares) ou des juments multipares ayant fait preuve de leurs qualités de reproductrices. Il est intéressant à ce titre de pratiquer de la même façon que pour les donneuses un examen gynécologique complet. Un bon tonus cervical et utérin, l'absence de cycles réguliers, l'installation systématique d'un corps jaune bien visible à la suite de chaque ovulation et une bonne imprégnation progestéronique sont autant de points positifs permettant d'obtenir un bon taux de gestation après transfert (75).

b) Synchronisation

Comme nous l'avons déjà mentionné, la synchronisation des ovulations de la donneuse et de la receveuse reste également un impératif à la réussite du transfert d'embryon. Il est classiquement admis que la receveuse doit ovuler entre 1 jour avant et jusqu'à 2 voire 3 jours après la donneuse. Au-delà de cet intervalle, les taux de gestation après transfert diminuent significativement (15, 24, 66, 92, 105). Un suivi échographique quotidien permet de déterminer la date d'ovulation. Les mêmes protocoles de synchronisation des chaleurs que les juments donneuses sont utilisés, avec une préférence là encore pour le traitement à base de progestatif par voie orale associé à une injection d'une substance lutéolytique.

3) Technique de récolte

Les récoltes, s'effectuant pendant plusieurs cycles consécutifs et sur des juments de valeurs, ne peuvent être que non chirurgicales. Elles consistent en un lavage-siphonnage de la cavité utérine.

a) Choix du jour de la récolte

Le choix du jour de la récolte repose sur la physiologie du développement embryonnaire pré-implantatoire : l'embryon doit être descendu dans les cornes ou le corps de l'utérus et il ne doit pas être à un stade de développement trop avancé au moment de la récolte.

Certaines expériences ont laissé supposer que l'embryon équin pouvait arriver dans l'utérus (après son transit intra tubaire) dès le cinquième jour après ovulation (52). Par contre, les taux de récolte sont assez faibles à cette date et des récoltes réalisées au septième, huitième et neuvième jour après l'ovulation donnent de meilleurs résultats qu'une récolte faite le sixième jour (104). Cependant, dans toutes ces études, le moment d'ovulation n'était

déterminé par échographie que de manière quotidienne, ce qui laissait une certaine imprécision quant à l'âge réel de l'embryon le jour de la collecte.

Il semble en fait que la totalité des embryons parvienne dans l'utérus entre la 144^{ème} heure (6 jours) et la 156^{ème} heure (6,5 jours) après l'ovulation. En effet, avec un contrôle échographique plus précis de l'heure de d'ovulation, BATTUT et al. (7) ont montré que le taux de collecte n'était pas différent entre des récoltes réalisées à la 156^{ème} heure (6,5 jours) et 168^{ème} heure (7 jours) post ovulation, alors qu'il était nul si la récolte était effectuée à la 144^{ème} heure (6 jours).

D'un point de vue pratique, il faudra donc laisser un temps suffisant à l'embryon pour qu'il parvienne dans l'utérus avant la récolte :

- soit en déterminant plus précisément la date d'ovulation par suivi bi ou quadri quotidien ce qui permet, en réalisant la récolte à 6,5 jours après constat de l'ovulation, d'obtenir des embryons âgés de 6,75+/-0,25 jours (suivi biquotidien) ou de 6,625+/-0,125 jours (suivi quadriquotidien) ce qui peut être nécessaire dans certaines conditions (congélation d'embryons, endométrite) (25).

- soit en récoltant plus tardivement à partir du 7^{ème} jour après constat de l'ovulation si le suivi échographique n'est que quotidien (âge de l'embryon = 7,5+/- 0,5 jours).

De plus, bien que la vésicule embryonnaire reste encore mobile dans l'utérus jusqu'au 16-17^{ème} jour de gestation, il ne semble pas souhaitable de transférer un embryon âgé de plus de 8 à 9 jours. Il existe malheureusement très peu d'études comparatives des taux de gestation après transfert en fonction de la taille et de l'âge des embryons. Dès 1982, SQUIRES et al. (103) avaient montré que le transfert d'embryons de 9 jours donnait significativement moins de gestations que celui d'embryons de 8 jours (4% contre 32%). Plus précisément, le taux de gestation après transfert est significativement plus faible lorsque la taille de l'embryon est plus importante (19, 62). Ceci peut s'expliquer par le fait qu'à partir du 6^{ème} jour l'embryon présente une augmentation très rapide de sa taille et qu'à partir du 7^{ème} jour se développe au sein de la masse cellulaire embryonnaire une cavité : le blastocœle. Or ces embryons plus âgés et leur blastocœle pourraient être plus fragiles et de manipulation plus délicate.

b) Technique de récolte

Après une désinfection soignée des aires pré-génitales et génitales externes, une sonde de récolte souple de diamètre interne de 8 mm, munie d'un ballonnet à son extrémité, est introduite par voie vaginale et cervicale dans la cavité utérine (Figures 10 et 11). Cette manipulation s'effectue le plus aseptiquement possible, l'opérateur étant muni de gants stériles et protégeant la sonde dans le creux de la main au cours de son trajet vaginal. Une fois la sonde en place, le ballonnet destiné à assurer la fixité de son extrémité dans la portion distale du corps utérin et l'étanchéité du dispositif est gonflé à l'aide de 50 à 60 ml d'air ou de milieu de collecte. Le liquide de collecte à 37°C est introduit par gravité dans la cavité utérine ; il est laissé en place pendant 3 à 5 minutes avant d'être siphonné par gravité et grâce aux contractions utérines.

Il est déconseillé de réaliser une tranquillisation de la femelle pour effectuer cette opération, car les sédatifs entraînent fréquemment un relâchement (ou une moindre contractilité) du myomètre à l'origine à la fois de vidanges utérines incomplètes et de perte d'étanchéité du col utérin autour de la sonde de collecte. Un massage de l'utérus par voie transrectale de l'utérus peut être pratiqué pour améliorer la répartition dans l'utérus du liquide de collecte et favoriser son retour lors du siphonage. D'autres auteurs préfèrent éviter de pratiquer ce massage transrectal afin de diminuer le risque de contamination et stimulent les contractions utérines en maintenant une main dans le vagin pendant toute la durée de la collecte (50).

Les liquides de collecte utilisés sont les mêmes que ceux employés pour la récolte des embryons de ruminants, à savoir du PBS (Phosphate Buffered Saline) modifié, enrichi de 2 à 4g/l d'albumine sérique ou de sérum sanguin à 1 ou 2 pour cent. La quantité de liquide employé à chaque lavage est de l'ordre de 1 litre et l'opération est renouvelée pour chaque récolte 2 ou 3 fois. Enfin, si aucun embryon n'a été collecté lors d'une première collecte, un nouveau lavage peut être pratiqué car si la moitié des embryons est collectée lors du 1^{er} rinçage, il est possible d'en récupérer au 4^{ème} voire au 5^{ème} rinçage utérin (Tableau I).

Nombre d'embryons récoltés au				
1 ^{er} lavage (p.cent)	2 ^{ème} lavage (p.cent)	3 ^{ème} lavage (p.cent)	4 ^{ème} lavage (p.cent)	5 ^{ème} lavage (p.cent)
20/58 (34)	20/58 (34)	13/58 (22)	4/58 (7)	1/58 (2)

Tableau I : Distribution des embryons collectés en fonction du numéro de lavage-siphonnage, d'après BRUYAS et LAGNEAUX (12)

Cela confirme qu'il est toujours possible de laisser un embryon dans l'utérus de la donneuse : il faudra donc dans un premier temps déterminer le nombre de lavages-siphonnages à effectuer en fonction de la valeur de la jument et dans un deuxième temps, après la dernière récolte, pratiquer une injection lutéolytique de prostaglandines pour éviter toute gestation éventuelle non désirée. Cette injection constitue en outre une excellente méthode de prévention des infections utérines pouvant faire suite aux collectes.

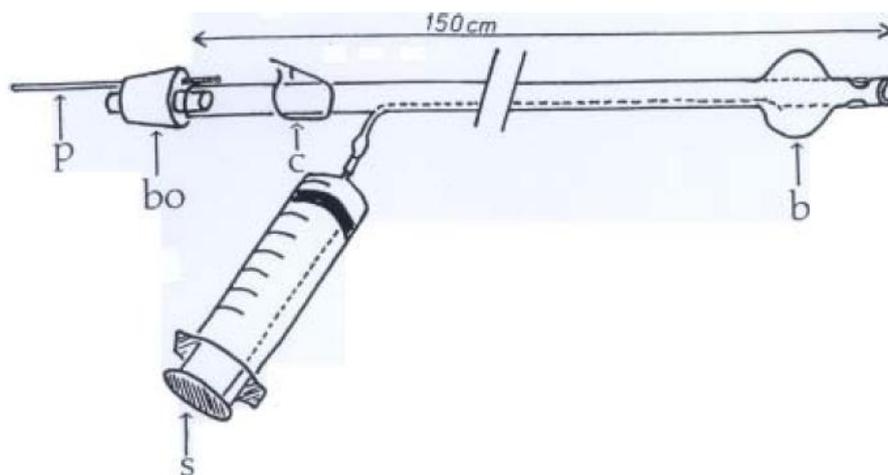


Figure 10 :schéma de la sonde de récolte d'embryons et du ballonnet de récolte (bo)au flacon muni de sa prise d'air (p).(c)dispositif pour clamer la sonde (b)ballonnet gonflé grâce a la seringue (s) d'après BRUYAS et LAGNEAUX.



Figure 11: Sonde à ballonnet et prolongateur utilisés pour la récolte d'embryon équin, d'après SCIMDT et al.

a) Recherche de l'embryon

Deux méthodes sont utilisées pour rechercher l'embryon dans le milieu de récolte :

- La première consiste à laisser décanter le liquide obtenu pendant 10 à 15 minutes à température ambiante (20 à 25°C). Ce temps de décantation permet à l'embryon plus dense de sédimenter au fond du flacon. Les 900 ml de liquide superficiel sont siphonnés pour ne garder que les derniers 100 ml.

- La deuxième solution consiste à filtrer immédiatement après récolte le liquide de collecte en utilisant un filtre d'une maille de 75 µm. Après filtration, il ne reste plus qu'une vingtaine de millilitres dans le filtre.

Le liquide de décantation ou restant après filtration ainsi que le liquide de rinçage du filtre (de même nature que le liquide de collecte) est versé dans une boîte de Pétri quadrillée et l'embryon est recherché au moyen d'une loupe binoculaire (grossissement x 40 à 80) (figure 5).

Les embryons sont repérés sur le fond de la boîte sous la forme d'une petite bille plus ou moins translucide avec une périphérie réfringente. Cette réfringence est due aux enveloppes acellulaires externes que sont la zone pellucide et la capsule (spécifique de l'embryon équin).

A 6 jours post ovulation, les embryons récoltés sont à la fin du stade morula ou au

début du stade blastocyste. Ils apparaissent relativement sombres, le blastocœle étant très peu développé, la zone pellucide est épaisse. Ils sont à peine plus gros qu'un ovocyte (130 à 250 μm de diamètre) mais la différenciation morphologique est aisée puisque l'ovocyte est très ellipsoïde, aplati sur l'une des faces et comporte un matériel cytoplasmique floconneux, hétérogène et sombre (Figure 12). Lors d'ovulation multiple, on ne retrouve d'ailleurs que très rarement un ovocyte accompagnant l'embryon dans le milieu de collecte. Au 7^{ème} jour, le blastocyste mesure 400 μm de diamètre en moyenne, la zone pellucide et la capsule sont fines, le blastocœle occupe la quasi totalité de la cavité embryonnaire (Figure 13). Ce dernier est entouré d'une assise monocellulaire, le trophoblaste (ébauche des annexes fœtales) ; le bouton embryonnaire (futur poulain) n'est qu'un amas de cellules indifférenciées refoulé par le blastocœle à un pôle de la vésicule (Figure 8). Au 8^{ème} et 9^{ème} jour, le blastocyste conserve la même morphologie générale mais son diamètre a augmenté (>1mm de diamètre) . Le large blastocœle le rend très translucide et la zone pellucide n'est plus visible (15).

b) Evaluation de l'embryon

Une fois identifié, une évaluation morphologique de l'embryon est établie selon une classification mise en place par McKINNON et SQUIRES (76). On attribue à chaque embryon une note de 1 à 5 en fonction de son aspect microscopique. Le stade 1 correspond à un embryon parfait alors que le stade 5 correspond à un embryon totalement dégénéré. Ceci permet d'éliminer les embryons de mauvaise qualité avec lesquels le taux de succès après transfert est fortement diminué (17% pour un embryon de stade 4) (25), et ainsi d'éviter de perdre un temps précieux dans la gestion de la donneuse en donnant une indication quant aux chances de succès du futur transfert. Ce système de notation est aussi utilisé pour évaluer une partie de la viabilité des embryons après congélation et décongélation.

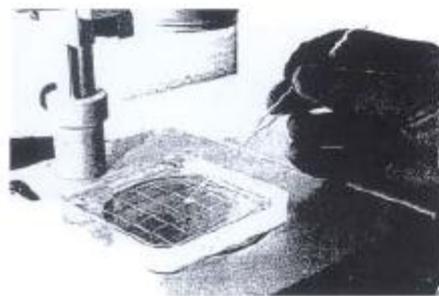


Figure 12 : Observation des embryons sous microscope .

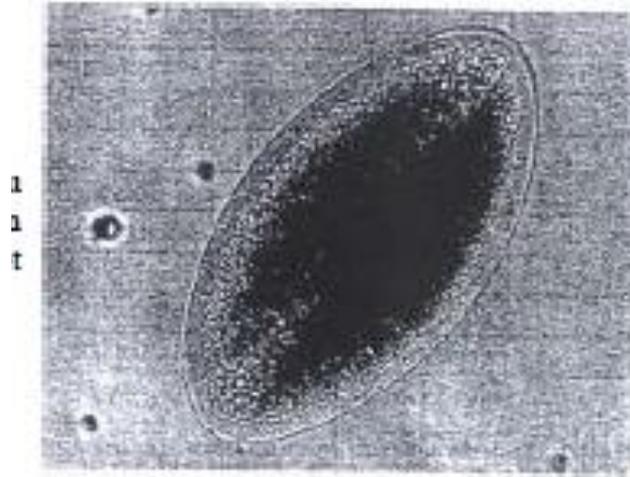


Figure 13 : Ovocyte non fécondée et dégénéré.

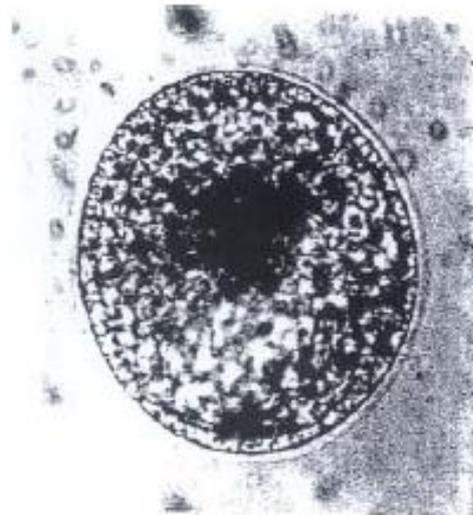


Figure 14 : Embryon au 7^{ème} jour, blastocyste.

c) Traitement de l'embryon

L'embryon est ensuite lavé dans des bains successifs de milieu stérile identique dans sa composition au milieu de collecte. Il est transporté d'un bain à l'autre grâce à des micropipettes stériles ce qui assure son rinçage et par la même une dilution successive des éventuels germes contaminants. Il paraît alors judicieux de réaliser un bon nombre de bains, c'est-à-dire une dizaine comme cela est préconisé pour les embryons bovins. L'embryon est ensuite aspiré avec une petite quantité de milieu de collecte dans une paillette stérile.

L'idéal est de réaliser toutes ces manipulations sous hotte à flux laminaire qui assure un environnement quasi stérile au niveau de la platine de la loupe et la paillasse de manipulation. D'autre part, la viabilité de l'embryon étant fortement diminuée après deux ou trois heures à 20°C dans le milieu de récolte, il est impératif de réaliser toutes ces opérations le plus rapidement possible (25).

5) Technique de transfert

Deux méthodes sont actuellement utilisées en fonction des conditions de transfert :

- une méthode chirurgicale par le flanc.
- une méthode non chirurgicale empruntant la voie vaginale et cervicale.

a) Méthode chirurgicale

Cette technique s'effectue sur jument debout, sous neuroleptoanalgésie. Une préparation chirurgicale du creux du flanc précède une anesthésie locale de la peau et des tissus plus profonds. Après incision cutanée, une dissection mousse des muscles abdominaux suivie d'une ponction du péritoine sont réalisées. La corne utérine est saisie et extériorisée dans sa partie proximale. Une incision ponctiforme de sa paroi permet le passage de la paillette montée au préalable sur une seringue de 1 ml. L'embryon est alors déposé dans la lumière utérine. La perforation utérine n'est refermée qu'avec une compression hémostatique de la paroi. Les plans musculaires, sous-cutanés et cutanés sont suturés. Des traitements anti-inflammatoire et antibiotique sont administrés pendant trois à cinq jours (25).

Cette méthode permet d'opérer dans des conditions strictement stériles et donc d'éviter toute contamination de la lumière utérine lors du dépôt de l'embryon. Elle semble donner de meilleurs résultats que la méthode non chirurgicale : IULANO et al. (62) ont obtenu un taux de gestation de 72% avec la méthode chirurgicale significativement différent des résultats obtenus avec la méthode cervicale (45%). Plus récemment, un récapitulatif de trois ans de transfert embryonnaire commercial à l'université du Colorado (19) permet de confirmer ces résultats (58% versus 39% au 50^{ème} jour de gestation). Elle nécessite cependant la mise en place d'une chirurgie techniquement plus lourde que la méthode cervicale.

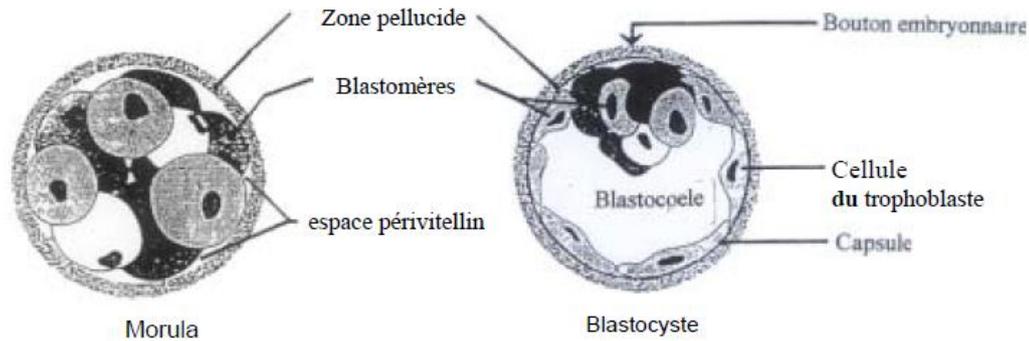


Figure15 : structure histologique d'un embryon stade morula et blastocyste.

b) Méthode non chirurgicale ou cervicale

On utilise un pistolet de transfert d'embryon stérile gainé (Type IMV¹, Figure 15). Il permet de limiter les contaminations apportées par le matériel de transfert en passant par le vagin et le cervix ; seule la partie recouverte stérile accède théoriquement au corps de l'utérus. Son ouverture latérale protège la paillette et l'embryon tout au long de leur progression vaginale et cervicale.

Le rectum de la receveuse est tout d'abord vidangé, la queue recouverte d'un gant long stérile est attachée en hauteur. La zone périnéale et vaginale est savonnée plusieurs fois avec un antiseptique et rincée. L'opérateur utilise lui aussi des gants stériles (Figure 16). Malgré toutes ces précautions, cette technique donne encore des résultats inconsistants : ils dépendent en fait de l'habitude et de l'habileté du technicien. Des infections par des germes non pathogènes ont notamment été décrites (71), ainsi qu'un relargage excessif de prostaglandine lors de la manipulation du col (64) pouvant entraîner l'expulsion de l'embryon. Cette technique est cependant facile à mettre en œuvre et est le plus souvent adoptée sur le terrain par des praticiens aguerris à la méthode de transplantation embryonnaire (25).

D. INDICATIONS ET CONTRAINTES

1) Indications

La transplantation embryonnaire présente, chez la jument, différents avantages et champs d'application spécifiques :

- Elle peut permettre d'augmenter, par transferts répétés, le nombre de produits nés par an d'une femelle élite.

- Un second aspect très attractif de ce procédé est la possibilité de gérer en parallèle la carrière sportive et la carrière reproductrice d'une jument. Il est envisageable en effet que, tout en poursuivant les compétitions, cette jument produise des embryons qui seront transplantés chez des receveuses.

- La transplantation embryonnaire peut également permettre d'obtenir des descendants chez des juments âgées et chez des juments présentant des lésions utérines, cervicales ou vaginales rendant impossible une gestation à terme ou une mise bas mais ne perturbant ni l'ovulation ni la fécondation. De même, des juments jeunes de trois, voire deux ans, d'excellentes origines peuvent produire des poulains sans qu'une gestation ne vienne perturber la fin de leur croissance. Cela permet ainsi de réduire de près de dix ans l'intervalle entre générations.

- Enfin certaines utilisations plus ponctuelles peuvent encore valoriser cette méthode : on peut obtenir un ou des produits de juments qui font l'objet de transactions commerciales. Ainsi un éleveur, avant de vendre une jument, pourra lui faire produire des embryons et ainsi avoir des poulains de cette jument alors qu'elle ne lui appartient plus. De même, une jument « en retard » dans sa saison de reproduction et donc poulinant tardivement pourra avoir un poulain l'année suivante par transfert et recommencer cette même année une saison de reproduction de façon plus précoce.

On voit bien ici l'intérêt que peut susciter une telle technique mais bien que certains propriétaires tiennent à tout prix à obtenir une descendance de leur propre jument, cette technique s'adresse donc avant tout à des animaux de haute valeur génétique ou commerciale. Et ceci d'autant plus qu'elle reste une méthode relativement coûteuse.

2) Contraintes

a) Technique

Outre l'équipement nécessaire pour sa mise en œuvre, la transplantation embryonnaire demande, comme nous l'avons vu, un suivi particulier des donneuses et des receveuses pour s'assurer d'un taux succès convenable. Devant l'absence de traitement de superovulation applicable, chaque embryon collecté devra faire également l'objet d'une attention toute particulière, ce qui demande là encore du temps et du personnel qualifié.

b) Synchronisation donneuse-receveuse

D'autre part, les techniques de synchronisation des chaleurs ont peu évolué depuis 15 ans et donnent des résultats largement imparfaits. Comme nous l'avons vu, l'ovulation se produit en moyenne autour du 9^{ème} jour après la fin du traitement mais elle peut survenir en fait dès le lendemain et jusqu'au 18^{ème} jour après l'injection de prostaglandine. Statistiquement, il faudrait 14 receveuses pour avoir 95% de chance d'en avoir une dont le cycle serait synchrone à 24 heures près avec celui de la donneuse (15).

En pratique, il convient cependant de synchroniser au minimum 2 receveuses potentielles par donneuse, afin d'espérer disposer d'au moins une jument synchrone dans la fourchette habituellement retenue (1 ovulation de la receveuse se produisant entre la veille et le 3^{ème} jour suivant celle de la donneuse). Cependant, comme le montre le tableau III, il faut souvent avoir recours à une induction d'ovulation (52%) et malgré cela, dans 22 pour cent des cas, il y a échec ou non réponse à la synchronisation (12).

La gestion des receveuses représente pour l'instant la contrainte la plus lourde d'une opération de transplantation embryonnaire. Les solutions à apporter à ce problème doivent permettre de diminuer le nombre de receveuses par donneuse, d'alléger le suivi gynécologique indispensable à la synchronisation ou éventuellement de supprimer

Complètement la nécessité de synchronisation. Ceci permettrait de diminuer le coût et d'augmenter l'efficacité de la transplantation embryonnaire équine.

Conclusion

Conclusion :

Le transfert embryonnaire est l'une des techniques nouvelles qui représente un grand intérêt scientifique et économique.

Il est temps pour l'Algérie de s'ouvrir sur les biotechnologies de reproduction et plus spécialement le transfert embryonnaire, mais pour cela il est primordial de :

Potentialiser les élevages en termes de méthodes d'élevages.

Trouvez des solutions pour maîtriser l'alimentation qui est l'une des causes majeures d'infertilité et d'infécondité en Algérie.

Modernisation de la reproduction et des techniques de la reproduction assistées (insémination artificielle, congélation de la semence...).

Modernisation des différentes méthodes d'élevage et assurer un bon suivi de la reproduction au sein de celle-ci.

Instaurer une banque génétique des lignées algériennes.

Autoriser cette pratique sous des conditions juridiques.

Références
bibliographiques

1. ALEXANDER S.L, IRVINE C.H.G. : Control of the onset of the breeding season in the mare and its artificial regulation by progesterone treatment. *J. Reprod. Fert*, 1991, Suppl.44, 307-318 2.
2. ALEXANDER S.L, IRVINE C.H.G. : FSH and LH ^a. In : McKINNON A.O., VOSS J.L. : *Equine Reproduction*. London : Lea & Febiger, 1993, 45-56 3.
3. ALLEN W.R. : Ovarian changes during early pregnancy in pony mares in relation to PMSG production. *J. Reprod. Fert.*, 1975, suppl.23, 425-428 4. ALLEN W.R. : Hormonal control of early pregnancy in the mare, *Veterinary Clinics of North America. Large animal practice*, 1980, 2, 291-302 5.
4. ALLEN W.R., STEWART F. : Equine chorionic gonadotropin. In : McKINNON A.O., VOSS J.L. : *Equine Reproduction*. London : Lea & Febiger, 1993, 81-96 6.
5. ALLEN W.R., SANDERSON M.W., GREENWOOD R.E.S., ELLIS D.R., CROWHURST J.S., SIMPSON D.J. et al. : Induction of ovulation in anústrus mares with a slow-release implant of a GnRH analogue (ICI 118 630). *J. Reprod. Fert*, 1987, Suppl.35, 469-478 7.
6. BATTUT I., COLCHEN S., FIENI F., TAINTURIER D., BRUYAS J.F. : Success rates when attempting to nonsurgically collect equine embryos at 144, 156 or 168 hours after ovulation. *Equine vet. J.*, 1998, suppl. 25, 60-62 8.
7. BERGFELT D.R., GINTHER O.J. : Delayed follicular development and ovulation following inhibition of FSH with equine follicular fluid in the mare. *Theriogenology*, 1985, 24, 99-108 9.
8. BERGFELT D.R., GINTHER O.J. : Relationships between circulating concentrations of FSH and follicular waves during early pregnancy in mares. *Equine Vet. Sci.*, 1992, 12, 274-279 10.
9. BERGFELT D.R., PIERSON R.A., GINTHER O.J. : Resurgence of the primary corpus luteum during pregnancy in the mare. *Anim. Reprod. Sci*, 1989, 21, 261-270 11.
10. BRIANT C. : La superovulation chez la jument. Point sur les techniques et dÈbouchÈs potentiels. In : *Comptes rendus de la 25ème journée d'étude du CEREOPA, Paris, 3 Mars 1999*. Paris : Institut du cheval, 1999, 69-75 12.
11. BRUYAS J.F., LAGNEAUX D. : Transplantation embryonnaire Èquine. *Rec. Méd. Vét.*, 1992, 168, 973- 991 13.
12. BRUYAS J.F., FIENI F., ALLAIRE F., TAINTURIER D. : MaÓtrise du cycle ústral de la jument. *Rec. Med. Vét.*, 1992, 168, 937-946 14.
13. BRUYAS J.F., MARTINS-FERREIRA C., FIENI F., TAINTURIER D. : The effect of propanediol on the morphology of fresh and frozen equine embryos. *Equine Vet. J.*, 1997, suppl. 25, 80-84 15.
14. BRUYAS J.F., BATTUT I., BENCHARIF D., TAINTURIER D. : Transfert díembryon chez la jument : approche pratique. *Bull. Soc. Vét. Prat. de France*, 1999, 83, 403-414 16.

15. BRUYAS J.F., BATTUT I., FIENI F., BENCHARIF D., TAINTURIER D. : CongÈlation de liembryon Èquin : bilan et perspectives. Bull. Soc. Vét. Prat. de France, 1999, 83, 549-573 17.
16. BURKARDT J. : Transition from anústrus in the mare and the effect of artificial lighting. J. Agric. Sci. Camb., 1947, 37, 64-68 87 18.
17. CARNEVALE E.M., HERMENET M.J., GINTHER O.J. : Age and pasture effects on vernal transition in mares. Theriogenology, 1997, 47, 1009-1018 19.
18. CARNEVALE E.M., RAMIREZ E.J., SQUIRES E.L., ALVERENGA M.A., VANDERWALL D.K., McCUE P.M. : Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. Theriogenology, 2000, 54, 965-979 20. DAELS P.F., DE MORAES J.J., STABENFELDT G.H., HUGUES J.P., LASLEY B.L. : The corpus luteum : source of ústrogen during early pregnancy in the mare. J. Reprod. Fert., 1991, suppl.44, 501-508 21.
19. DAVIS S.D., GRUBAUGH W.R., WEITHENAUER J. : Follicule integrity and serum estradiol 17 β patterns during sexual recrudescence in the mare. Biol. Reprod, 1987, 36, abstract 224 22. DAWSON F.L.M. : Recent advances in equine reproduction. Equine Vet. J., 1977, 9, 4-11 23. DRIANCOURT M.A., PRUNIER A., PALMER E., MARIANA J.C. : Seasonal effects on ovarian follicular development in pony mares. Reprod. Nutr. Develop., 1983, 23, 207-215 24.
20. EAST L.M., VAN SAUN R.J., VANDERWALL D.K. : Equine embryo transfer. Donor and recipient selection and preparation. Equine Practice, 1998, 20, 16-20 25.
21. EAST L.M., VAN SAUN R.J., VANDERWALL D.K. : Equine embryo transfer. Embryo recovery and transfer techniques. Equine Practice, 1999, 21, 8-12 26.
22. EVANS M.J., IRVINE C.H.G. : Measurement of equine Follicule Stimulating Hormone and Luteinizing Hormone response of anústrus mares to Gonadotropin Releasing Hormone. Biol. Reprod., 1976, 15, 477- 484 27.
23. EVANS M.J., IRVINE C.H.G. : Induction of follicular development and ovulation in seasonally acyclic mares using Gonadotropin Releasing Hormone and progesterone. J. Reprod. Fert., 1979, 79, 485-493 28.
24. FERREIRA J.C.P., MEIRA C., PAPA F.O., LANDIN-ALVARENGA F.C., ALVARENGA M.A., BURATINI J. et al. : Cryopreservation of equine embryos with glycerol plus sucrose and glycerol plus 1,2- propanediol. Equine Vet. J., 1997, suppl. 25, 88-93 29.
25. FITZGERALD B.P., DAVISON L.A. : Comparison of the effects of N-methyl-DL-aspartic acid on gonadotropin and prolactin secretion in anestrous mares and mares exhibiting estrous cycles during anestrus. Biol. Reprod., 1997, 57, 36-42 30.
26. FITZGERALD B.P., MCMANUS C.J. : Photoperiodic versus metabolic signals as determinants of seasonal anestrus in the mare, Biol. Reprod., 2000, 63, 335-340 31.

27. FITZGERALD B.P., I'ANSON H., LOY R.G., LEGAN S.J. : Evidence that changes in LH pulse frequency may regulate the seasonal modulation of LH secretion in ovariectomized mares. *J. Reprod. Fert.*, 1983, 69, 685-692 32.
28. FITZGERALD B.P., AFLECK K.J., BARROWS S.P., MURDOCH W.L., BARKER K.B., LOY R.G. : Changes in Luteinising Hormone pulse frequency and amplitude in intact mares during the transition into the breeding season. *J. Reprod. Fert.*, 1987, 79, 485-493 33.
29. FLEURY J.J., ALVARENGA M.A. : Effect of collection day on embryo recovery and pregnancy rates in a nonsurgical equine embryo transfer program. *Theriogenology*, 1999, 51, 261 34.
30. FREEDMAN L.J., GARCIA M.C., GINTHER O.J. : Influence of photoperiod and ovaries on seasonal reproductive activity in mares. *Biol. Reprod.*, 1979, 20, 567-574 88 35.
31. GARCIA M.C., GINTHER O.J. : Effects of ovariectomy and season on plasma Luteinizing Hormone in mares. *Endocrinology*, 1976, 98, 958-962 36.
32. GARCIA M.C., FREEDMAN L.J., GINTHER O.J. : Interaction of seasonal and ovarian factors in the regulation of LH and FSH secretion in the mare. *J. Reprod. Fert.*, 1979, Suppl.27, 103-111 37.
33. GARZA F., THOMPSON D.L., FRENCH D.D., WIEST J.J., St GEORGE R.L., ASHLEY K.B. et al. : Active immunization of intact mares against Gonadotropin Releasing Hormone : Differential effects on secretion of LH and FSH. *Biol. Reprod.*, 1986, 35, 347-352 38.
34. GINTHER O.J. : Occurrence of anestrus, estrus, diestrus and ovulation over a 12-month period in mares. *Am. J. Vet. Res.*, 1974, 35, 1173-1179 39.
35. GINTHER O.J. : Embryonic loss in mares : Nature of loss after experimental induction by ovariectomy or prostaglandin F₂α. *Theriogenology*, 1985, 24, 87-98 40.
36. GINTHER O.J. : Folliculogenesis during the transitional period and early ovulatory season in mares. *J. Reprod. Fert.*, 1990, 90, 311-320 41.
37. GINTHER O.J. : Reproductive biology of the mare : basic and applied aspects. 2nd ed., Grossplains (Wisconsin) : Equiservices, 1992, 642 p. 42.
38. GINTHER O.J., BERGFELT D. P. : Ultrasonic characterization of follicle waves in mares without maintaining identity of individual follicles. *J. Equine Vet. Sci.*, 1992, 12, 349-354 43.
39. GOUDET G., LECLERCQ L., BEZARD J., DUCHAMP G., GUILLAUME D., PALMER E. : Chorionic gonadotropin secretion is associated with an inhibition of follicular growth and an improvement in oocyte competence for in vitro maturation in the mare. *Biol. Reprod.*, 1998, 58, 760-768 44. GUILLAUME D. : Action de la photopériode sur la reproduction des Équidés. *Prod. Anim.*, 1996, 9, 61-69 45.
40. GUILLAUME D. : Effet de la saison, de l'éclairage artificiel et de la mélatonine sur le rythme annuel de reproduction de la jument. *Prod. Anim.*, 1999, 12, 332-334 46.

41. GUILLAUME D., DUCHAMP G., PALMER E. : 35 jours longs suffisent pour avancer et Établir la cyclicitÉ des juments aprÈs inactivitÈ hivernale. In : Comptes rendus de la 22ème journée d'étude du CEREOPA, Paris, 28 fÈvrier 1996. Paris : Institut du Cheval, 1996, 63-68 47.
42. HART P.J., SQUIRES E.L., IMELK J., NETT J.M. : Seasonal variation in hypothalamic content of GnRH, pituitary receptors for GnRH and pituitary content of Luteinizing Hormone and Follicle Stimulating Hormone in the mare. *Biol. Reprod.*, 1984, 30, 1055-1062 48.
43. HILL J., WESTHUSIN M., VARNER D.D. : Advances in large-animal reproduction : Updated techniques for artificial insemination and embryo transfer. *Veterinary Medicine*, 1998, 485-490 49.
44. HINES K.K., AFFLECK K.J., BARROWS S.P., MURDOCH W.L., FITZGERALD B.P., LOY R.G. : Follicle-stimulating hormone pulse amplitude decreases with the onset of the breeding season in the mare. *Biol. Reprod.*, 1991, 44, 516-521 50.
45. HINRICHS K. : A simple technique that may improve the rate of embryo recovery on uterine flushing in mares. *Theriogenology*, 1990, 33, 937-942 51.
46. HINRICHS K., KENNEY R.M. : Effect of timing of progesterone administration on pregnancy rate embryo transfer in ovariectomised mares. *J. Reprod. Fert.*, 1987, Suppl.35, 439-443 52.
47. HINRICHS K., RIERA F.L. : Effect of administration of prostaglandin F2 α on embryo recovery from the uterus on day 5 after ovulation in mares. *Am. J. Vet. Res.*, 1990, 51, 451-453 89 53.
48. HINRICHS K., SERTICH P.L., CUMMINGS M.R., KENNEY R.M. : Pregnancy in ovariectomised mares achieved by embryo transfer : A preliminary study. *Equine Vet. J.*, 1985, Suppl.3, 74-75 54. HINRICHS K., SERTICH P.L., KENNEY R.M. : Use of altrenogest to prepare ovariectomised mares as embryo transfert recipients. *Theriogenology*, 1986, 26 (4), 455-460 55.
49. HINRICHS K., SERTICH P.L., PALMER E., KENNEY R.M. : Establishment and maintenance of pregnancy after embryo tansfer in ovariectomised mares treated with progesterone. *J. Reprod. Fert.*, 1987, 80, 395-401 56.
50. HOCHI S., FUDJIMOTO T., BRAUN J., OGURI N. : Pregnancy following transfer of equine embryos cryopreserved by vitrification. *Theriogenology*, 1994, 42, 483-488 57.
51. HOFFERER S., LECOMPTE F., MAGALLON T., PALMER E., COMBARNOUS Y. : Induction of ovulation and superovulation in mares using equine LH and FSH separated by hydrophobic interaction chromatography. *J. Reprod. Fert.*, 1993, 98, 597-602 58. HOLTAN D.W., SQUIRES E.L., LAPIN D.R., GINTHER O.J. : Effect of ovariectomy on pregnancy in mares. *J. Reprod. Fert.*, 1979, suppl. 27, 457-463 59.

52. HUHTINEN M., LAGNEAUX D., KOSKINEN E., PALMER E. : The effects of sucrose in the thawing solution on the morphology and mobility of frozen equine embryos. *Equine Vet. J.*, 1997, suppl. 25, 94-97 60.
53. HYLAND J.H., WRIGHT P.J., CLARKE I.J., CARSON R.S., LANGSFORD D.A., JEFFCOTT L.B. : Infusion of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) induces ovulation and fertile ústrus in mares during seasonal anústrus. *J. Reprod. Fert.*, 1987, 35, 211-220 61.
54. IRVINE C.H.G., SUTTON P., TURNER J.E., MENNICK P.E. : Changes in plasma progesterone concentrations from days 17 to 42 of gestation in mares maintaining or losing pregnancy. *Equine Vet. J.*, 1990, 22, 104-106 62.
55. IULIANO M.F., SQUIRES E.L., COOK V.M. : Effect of age of equine embryos and method of transfer on pregnancy rate. *J. Anim. Sci.*, 1985, 60, 258-263 63. JOHNSON A.L. : Gonadotropin-releasing hormone treatment induces follicular growth and ovulation in seasonally anústrus mares. *Biol. Reprod.*, 1987, 36, 1199-1206 64.
56. KASK K., ODENSVIK K., KINDAHL H. : Prostaglandin F₂ α release associated with an embryo transfer procedure in the mare. *Equine Vet. J.*, 1997, 29, 286-289 65.
57. KING S.S., NEUMANN K.R., NEQUIN L.G., WEEDMAN B.J. : Time of onset and ovarian state prior to entry into winter anestrus. *J. Eq. Vet. Sci.*, 1993, 13, 512-515 66.
58. LAGNEAUX D. : Transfert díembryons-aspects techniques. In : *Compte rendu de la 25ème journée d'étude du CEREOPA, Paris, 3 Mars 1999.* Paris : Institut du cheval, 1999, 61-67 67.
59. LAGNEAUX D., PALMER E. : Are pony and larger mares similar as recipients for non-surgical transfer of day 7 embryos ? *Equine Vet. J.*, 1989, suppl. 8, 64-67 68.
60. LAGNEAUX D., PALMER E. : Establishment and maintenance of pregnancy after embryo transfer in anústrus recipient mares. *J. Reprod. Fert.*, 1991, Abstracts series 8, 22 69. LAGNEAUX D., PALMER E. : Embryo transfer in anústrus recipient mares : attempts to reduce altrenogest administration period by treatment with pituitary extract. *Equine Vet. J.*, 1993, Suppl.15, 107- 110 90 70.
61. LAGNEAUX D., DUCHAMPS G., PALMER E. : La transplantation embryonnaire chez la jument. In : *Compte rendu de la 14ème journée d'étude du CEREOPA, Paris, 9 Mars 1988.* Paris : Institut du Cheval, 1988, 163-181 71.
62. LAGNEAUX D., TAINTURIER D., PALMER E. : Luteolysis and bacterial contamination associated with unsuccessful cervical embryo tranfer in the mare. *Theriogenology*, 1988, 29, 285 72.
63. LAGNEAUX D., DUCHAMP G., BRUNEAU B., POMMARICI A.M., RISCO F., PELTIER M. et al. : Le transport díembryons Èquins rÈfrigÈrÈs : mise en place et premier bilan. In : *Compte rendu de la 26ème journée d'étude du CEREOPA, Paris, 1 Mars 2000.* Paris : Les Haras Nationaux, 2000, 131-135 73.

64. MAGISTRINI M. : L'insémination artificielle Équine : des technologies à géométrie variable. In : Compte rendu de la 25ème journée d'étude du CEREOPA, Paris, 3 mars 1999. Paris : Institut du Cheval, 1999, 117- 128 74.
65. MARTIN J.L, SALTIEL A., EVANS J.W. : Progesterone synthesis by different types of corpora lutea during the first 198 days of pregnancy. *Equine Vet. Sci.*, 1989, 9, 84-87 75.
66. McCUE P.M., VANDERWALL D.K., KEITH S.L., SQUIRES E.L. : Equine embryo transfert : influence of endogenous progesterone concentration in recipients on pregnancy outcome. *Theriogenology*, 1999, 51, 267 76.
67. McKINNON A.O., SQUIRES E.L. : Morphologic assesment of the equine embryo. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1988, 192, 401-406 77.
68. McKINNON A.O., SQUIRES E.L., CARNEVALE E.M., HERMENET M.J. : Ovariectomised steroidtreated mares as embryo transfer recipients and as a model to study the role of progestins in pregnancy maintenance. *Theriogenology*, 1988, 29, 1055-1063 78.
69. NEQUIN L.G., KING S.S., JOHNSON A.L, GOW G.M., FERREIRA-DIAS G.M. : Prolactin may play a role in stimulating the equine ovary during the spring reproductive transition. *J. Equine Reprod. Sci.*, 1993, 13, 631-635 79.
70. NEWCOMBE J.R. : The incidence of ovulation during the luteal phase from day 4 to day 20 in pregnant and non pregnant mares. *J. Equine Vet. Sci.*, 1997, 17, 120-122 80.
71. OGURY N., TSUTSUMI Y. : Non surgical transfert in equine embryos. *Arch. embryology*, 1980, 5, 108- 110 81.
72. OXENDER W.D., NODEN P.A., HAFS H.D. : Estrus, ovulation and serum progesterone, estradiol and Luteinizing Hormone concentrations in mares after an increased photoperiod during winter. *Am. J. Vet. Res.*, 1977, 38, 203-207 82.
73. PALMER E. : Control of the estrus cycle of the mare. *J. Reprod. Fert.*, 1978, 54, 495-505 83.
74. PALMER E. : Controle de l'activité ovarienne des juments : résultats récents. In : Compte rendu de la 12ème journée d'étude du CEREOPA, Paris, 12 mars 1986. Paris : Institut du Cheval, 1986, 79-101 84.
75. PALMER E., DRIANCOURT M.A., ORTAVANT R. : Photoperiodic stimulating of the mare during winter anestrous. *J. Reprod. Fert.*, 1982, suppl. 32, 275-282 85.
76. PALMER E., BOUR B., CHEVALIER F. : Pharmacological control of reproductive mechanisms in the equine female. In : RUCKESBUSCH Y., TOUTAIN P.L., KORITZ G.D. : *Veterinary pharmacology and toxicology*. Lancaster (England) : MTP Press Limited, 1983, 381-394 86.
77. PALMER E., HAJMELI G., DUCHAMP G. : Gonadotropin treatments increase ovulation rate but not embryo production from mares. *Equine Vet. J.*, 1993, suppl. 15, 99-102 91 87.
- PARRY-WEEKS L.C., HOLTAN D.W. : Effect of altrenogest on pregnancy maintenance in unsynchronized equine embryo recipients. *J.Reprod. Fert.*, 1987, suppl. 35, 433-438 88.

- PASHEN A.L. : Short-term storage and survival of horse embryos after refrigeration at 4°C. *J. Reprod. Fert.*, 1987, suppl. 35, 697-698 89.
78. POOL K.F., WILSON J.M., WEBB G.W., KRAEMER D.C., POTTER G.D., EVANS J.W. : Exogenous hormone regimens to utilize successfully mares in diústrus (days 2-14 after ovulation) as embryo transfer recipients. *J.Reprod. Fert.*, 1987, suppl. 35, 429-432 90.
79. POOL-ANDERSON K., WILSON J.M., WEBB J.W., KRAEMER D.C., POTTER G.D., EVANS J.W. : Estradiol and progesterone concentrations resulting from the administration of an exogenous hormone regimen in diestrous embryo transfer recipients. *Equine Vet. Sci.*, 1988, 8, 125-129 91.
80. SAUMANDE J., TAMBOURA D., CHUPIN D. : Changes in milk and plasma concentrations of progesterone in cows after treatment to induce superovulation and their relationships with number of ovulations and of embryos collected. *Theriogenology*, 1985, 23, 749-754 92.
81. SCHMIDT A.R., THAYER J., CARLETON C.L. : Stored, cooled embryos : A successful alternative to immediate embryo transfer. *Veterinary Medicine*, 1995, 90, 381-386 93.
82. SHARP D.C., GRUBAUGH W. : Use of push-pull perfusion techniques in studies of gonadotrophinreleasing hormone secretion in mares. *J. Reprod. Fert.*, 1987, suppl.35, 289-296 94.
83. SHARP D.C., GRUBAUGH W.R., WEITHENAUER J., SHEERIN P. : Exposure to long photoperiod results in increased GnRH secretion in anústrus pony mares. *Biol. Reprod.*, 1988, 38, 147 95.
84. SHARP D.C., GRUBAUCH W.R., WEITHENAUER J., DAVIS S.D., WILCOX C.J. : Effects of steroid administration on pituitary Luteinizing Hormone and Follicle Stimulating Hormone in ovariectomized pony mares in the early spring : pituitary responsiveness to gonatropin releasing hormone and pituitary gonadotropin content. *Biol. Reprod.*, 1991, 44, 983-990 96.
85. SHIDELER R.K., SQUIRES E.L., VOSS J.L., EIKENBERRY D.J., PICKETT B.W. : Progestagen therapy of ovariectomized pregnant mares. *J. Reprod. Fert.*, 1982, suppl. 32, 459-464 97. SILVIA P.J., SQUIRES E.L., NETT T.M. : Changes in the hypothalamic-hypophyseal axis of mares associated with seasonal reproductive recrudescence. *Biol. Reprod.*, 1986, 35, 897-905 98.
86. SILVIA P.J., SQUIRES E.L., NETT T.M. : Pituitary responsiveness of mares challenged with GnRH at various stages of the transition into the breeding season. *J. Anim. Sci.*, 1987, 64, 790-796 99. SQUIRES E.L. : Endocrinology of pregnancy. In : MCKINNON A.O., VOSS J.L. : *Equine Reproduction*. London : Lea & Febiger, 1993, 495-500 100. SQUIRES E.L., DOUGLAS R.H., STEFFENHAGEN W.P., GINTHER O.J. : Ovarian changes during the estrous cycle and pregnancy in mares. *J. Anim. Sci.*, 1974, 38, 330-338 101.

87. SQUIRES E.L., WENTWORTH B.C., GINTHER O.J. : Progesterone concentrations in blood of mares during the estrous cycle, pregnancy and after hysterectomy. *J. Anim. Sci.*, 1974, 39, 759-767 102.
88. SQUIRES E.L., STEVENS W.B., PICKETT B.W., NETT T.M. : Role of Pregnant Mare Serum Gonadotropin in luteal function mares. *Am. J. Vet. Res.*, 1979, 40, 889-891 103.
89. SQUIRES E.L., IMEL K.J., IULIANO M.F., SCHIDELER R.K. : Factors affecting reproductive efficiency in an equine embryo transfer program. *J. Reprod. Fert.*, 1982, suppl.32, 409-414 104. SQUIRES E.L., GARCIA R.H., GINTHER O.J. : Factors affecting success of equine embryo transfer. *Equine Vet. J.*, 1985, suppl. 3, 92-95 92 105.
90. SQUIRES E.L., McCUE P.M., VANDERWALL D.K. : The current status of equine embryo transfer. *Theriogenology*, 1999, 51, 91-104 106. TERQUI M., PALMER E. : Progesterone pattern during early pregnancy in the mare. *J. Reprod. Fert.*, 1979, suppl. 27, 441-446 107.
91. TURNER J.E., IRVINE C.H.G. : The effect of various gonatrophin-releasing hormone regimens on gonadotrophins, follicular growth and ovulation in deeply anestrous mares. *J. Reprod. Fert.*, 1992, Suppl.44, 213-225 108. TURNER D.D., GARCIA M.C., GINTHER O.J. : Follicular and gonadotropin changes throughout the year in pony mares. *Am. J. Vet. Res.*, 1979, 40 : 694-700 109.
92. TURNER D.D., GARCIA M.C., WEBEL S.K., GINTHER O.J. : Influence of follicular size on the response of mares to allyl trenbolone given before the onset of the ovulatory season. *Theriogenology*, 1981, 16, 73-84 110.
93. VOLLER B.E., PARRY-WEEKS L.C., HOLTAN D.W. : The effect of regu-mate, a synthetic progestin, on early pregnancy maintenance, conceptus growth, and corpora lutea development in pregnant pony mares. *Equine Vet. Sci.*, 1991, 11, 46-50 111. YOUNG C., SQUIRES E.L., SEIDEL G.E. : Effects of three methods of cryopreservation on survival of large equine blastocysts. *Theriogenology*, 1997, 47, 395