

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE Ibn Khaldoun DE TIARET
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES
DEPARTEMENT DE SANTE ANIMALE

PROJET DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME
DE DOCTEUR VETERINAIRE

Sous le thème

L'INSEMINATION ARTIFICIELLE CHEZ LA JUMENT

PRESENTE PAR :

MR HASSANI MOHAMED RADHOUANE

ENCADRE PAR:

DR. AYAD MOHAMED AMINE



Année universitaire
2013/2014

Sommaire

| | |
|---|-----------|
| -Sommaire | 1 |
| -Liste des figures | 4 |
| -Liste des tableaux | 5 |
| -Remerciement | 6 |
| -Dédicace..... | 7 |
| | |
| -I- Historique de l'IA :..... | 8 |
| INTRODUCTION..... | 9 |
| -II- Rappel de l'anatomie et de la physiologie sexuelle chez la jument : | 11 |
| 1. Physiologie sexuelle | 11 |
| 1.1 . Généralités :..... | 11 |
| 1.2 . Les différentes phases du cycle oestral | 12 |
| a-Le pro-oestrus (2 jours)..... | 12 |
| b-L'oestrus dure 6 jours en moyenne..... | 12 |
| c-Le metoestrus ou posteoestrus..... | 13 |
| d-Le dioestrus..... | 13 |
| 1.3. Le cycle hormonal : nature et mode d'action des différentes hormones intervenant dans le cycle sexuel..... | 14 |
| 1.3.1. Nature des hormones mises en jeu et principaux rôles | 14 |
| 1.3.1.1. GnRH : Gonadotropin Releasing Hormone..... | 14 |
| 1.3.1.2. FSH : Follicle Stimulating Hormon..... | 14 |
| 1.3.1.3 . LH : Luteinising Hormone..... | 15 |
| 1.3.1.4. La progestérone..... | 15 |
| 1.3.1.5 . Les prostaglandines PGF2 α | 16 |
| 1.3.1.6.Les oestrogènes | 17 |
| 1.3.2.Profils endocriniens au cours du cycle oestral | 18 |
| 1.3.2.1. Oestrus | 18 |
| 1.3.2.2.Dioestrus..... | 19 |
| III -Généralités sur l'insémination artificielle chez la jument..... | 20 |
| 1 -Intérêt de l'insémination artificielle..... | 23 |
| 2-Diffusion du progrès génétique | 23 |
| 2.1.Prélèvement de l'étalon..... | 24 |
| 2.2. Conditionnement de la semence..... | 25 |
| 2.3. Insémination de la poulinière..... | 25 |
| 3 -Amélioration des fécondations | 26 |
| IV - ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE..... | 27 |
| 1-Anatomie, physiologie et reproduction de la jument | 27 |
| 1.2Anatomie de l'appareil reproducteur | 28 |
| | |
| 1.1 Appareil génital externe : la région vulvo-périnéale..... | 30 |
| 2.1.2 . Tractus génital : vestibule, vagin et col..... | 30 |
| 2.1.2.1 . Portion uro-génitale :..... | 30 |
| 3.1.2.2 . Vue de face (caudale) | 30 |
| 3.1.2.3. Vue de profil | 31 |
| 4.1.2.4 . Rapports anatomiques | 31 |
| 1.3. Portion tubulaire :..... | 31 |
| 1.3.1 . Vagin | 31 |

L'insémination artificielle chez la jument

| | |
|---|-----------|
| 1.3.2. Col de l'utérus | 32 |
| 1.3.3. Corps utérin et cornes | 32 |
| 1.4. L'isthme : | 33 |
| 1.4.1. L'ampoule : | 33 |
| 1.4.2 Le pavillon ou infundibulum : | 33 |
| 1.5. Ovaires | 34 |
| - V- Variations physiologiques au cours du cycle..... | 37 |
| 1 . Manifestations comportementales : | 38 |
| 1.1 Modifications anatomiques du tractus génital : | 38 |
| 2.1. Examen au spéculum : | 38 |
| 2.1.1. Œstrus : | 38 |
| 2.1.2. Dioestrus : | 39 |
| 2.1.3. Période de transition : | 39 |
| 3. Palpation transrectale : | 39 |
| 4. Utérus : | 40 |
| 5. Cycle de l'oestrus | 41 |
| 5.1. Oestrus : | 41 |
| 5.2. Dioestrus : | 41 |
| 5.3. Anoestrus saisonnier et période de transition : | 41 |
| 6. Ovaires : | 41 |
| 6.1. Oestrus : | 42 |
| 6.2. Metroestrus : | 43 |
| 6.3. Dioestrus : | 43 |
| 6.4. Anoestrus : | 43 |
| 6.5. Période de transition : | 43 |
| 7. Examen échographique : | 44 |
| 7.1. Echographie de l'utérus : | 44 |
| 7.1.1. Œstrus : | 45 |
| 7.2.1. Dioestrus : | 45 |
| 7.2.3. Anoestrus saisonnier : | 45 |
| 7.2.4. Période de transition : | 46 |
| 8. Echographie des ovaires : | 46 |
| 8.1. Oestrus ou phase folliculaire | 46 |
| 8.2. Dioestrus ou phase lutéale | 48 |
| VI- Suivi des juments..... | 49 |
| 1. Synchronisation | 50 |
| 1.1. Principe | 50 |
| 1.2. Définitions | 50 |
| 1.3. Organisation | 51 |
| 1.4. Produits utilisés | 51 |
| 1.5. Utilisation des hormones dans la synchronisation des chaleurs | 52 |
| 2. Synchronisation du 1er cycle | 53 |
| 3. Gestion des cycles retour | 54 |
| 3.1. Gestion des juments suitées dans les programmes de synchronisation | 54 |
| 3.1.1. Exemple de calendrier | 55 |
| 3.1.2. Cas particulier des juments suitées : 3 solutions | 55 |
| 4. Traitement de synchronisation dans le cadre du transfert d'embryon | 56 |

L'insémination artificielle chez la jument

| | |
|--|-----------|
| 5. Degré de synchronisation entre le stade physiologique de la Donneuse et de la Receveuse dans le cadre d'un transfert d'embryon frais :..... | 56 |
| 5.1. Exemple de synchronisation des ovulations de la donneuse et de receveuses dans le cadre du transfert d'embryon en frais :..... | 57 |
| 6 – Insémination..... | 58 |
| -VII- La technique d'insémination artificielle..... | 59 |
| 1.L'insémination artificielle se décline selon 3 variantes... .. | 59 |
| a-- insémination en sperme frais (IAF):..... | 59 |
| -b- insémination en sperme réfrigéré (IAR):..... | 59 |
| -c- insémination en sperme congelé (IAC):..... | 59 |
| 2. Technique..... | 59 |
| 3. Inconvénients de la conservation..... | 59 |
| 4. Préparation de la semence..... | 60 |
| 4.1. Caractéristiques du sperme..... | 60 |
| 4.1.1. Dilut | 62 |
| 4.1.2. Méthodes de dilution..... | 62 |
| 4.1.3.Les dilués..... | 63 |
| 4.1.4. Conservation de la semence..... | 66 |
| 4.1.4.1.Température..... | 66 |
| 4.1.4.2.Vitesse de refroidissement..... | 67 |
| 5. Evaluation de la qualité de la semence réfrigérée..... | 68 |
| 5.1.Conséquences de la conservation..... | 68 |
| 5.2.Méthodes d'évaluation de la semence..... | 70 |
| 5.2.1. Test de réactivité des membranes..... | 71 |
| 5.2.2.Test de réactivité des acrosomes..... | 71 |
| 6.Types d'insémination artificielle..... | 72 |
| 6.1.Conventionnelle..... | 72 |
| 6.2.- Vidéoendoscopie:..... | 72 |
| 6.3.- Catheter flexible guidé par voie rectale:..... | 72 |
| 7. Préparation de la jument..... | 73 |
| 7.1.Lavage de la jument..... | 73 |
| 7.1.1.A la douchette..... | 73 |
| 7.1.2.Au seau..... | 74 |
| 7.1.3.Séchage..... | 74 |
| 7.2.Préparation du cathéter..... | 75 |
| 7.2.1.Dose en tube..... | 75 |
| 7.2.2.Dose en seringue..... | 76 |
| 7.2.3.La dose est prête..... | 76 |
| 8.La maîtrise des cycles sexuels..... | 78 |
| 8.1. Synthèse sur les horaires et intervalles..... | 79 |
| 8.1.1.Exemples d'horaires :..... | 79 |
| 9. Diagnostic de gestation..... | 79 |
| Bibliographie | 80 |
| Résumé..... | 84 |

Liste des figures

| | | |
|-------------------------|---|----|
| <u>Figure 1</u> | anatomie de l'appareil reproducteur..... | 29 |
| <u>Figure 2</u> | Vue frontale de l'appareil génital de la jument..... | 35 |
| <u>Figure 3.</u> | Appareil génital de jument : vue ventrale après isolement et étalement | 36 |
| <u>Figure 4.</u> | Utérus..... | 40 |
| <u>Figure 5</u> | Lavage de la jument..... | 73 |
| <u>Figure 6</u> | Séchage..... | 74 |
| <u>Figure 7</u> | Dose en seringue..... | 76 |
| <u>Figure 8</u> | La dose est prête..... | 77 |

Liste des tableaux

| | |
|--------------------------------------|--|
| <u>Tableau 1</u> | Utilisation des hormones dans la synchronisation des chaleurs...52 |
| <u>Tableau 2</u> | Principe de la synchronisation des chaleurs.....53 |
| <u>Tableau 3.</u> | Exemple de calendrier.....55 |
| <u>Tableau 4</u> | Exemple de synchronisation des ovulations.....57 |
| <u>Tableau 5</u> Nationaux | Caractéristiques séminales de 222 étalons de sang des Haras.....60 |
| <u>Tableau 6.</u> | Composition du Kenney (pour 1l).....64 |
| <u>Tableau 7.</u> | Composition de l'INRA96 (IMV, L'Aigle, France) pour 1l.....64 |
| <u>Tableau 8.</u> | Composition du Tyroïde modifié (pour 0,1l).....65 |

Remerciement

Je remercie Allah de m'avoir donné le courage, la patience et pardessus de tout la sante de mener à réaliser ce modeste travail. Bien sûr je tiens avant tout à remercier mon encadreur " Dr. Ayad Mohamed Amine", pour leur disponibilité, leur encouragement et leur conseil.

Mes remerciements vont également vers tous ceux qui m'ont permis de mener à bien mon travail: les collègues de l'institut vétérinaire et mes amis

Enfin, j'exprime toute ma reconnaissance envers mes proches, qui ont eu la tâche ardue de me supporter pendant ces 5 années parfois entrecoupées de moments difficiles ! Mes parents, pour leur soutien logistique et moral continu, je leur suis infiniment redevable. Ma famille: pour leur aide inestimable : sans eux mon travail aurait été beaucoup plus difficile.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail de fin d'étude :

A ma Mère Oum El Kheir qui a veillé mes nuits, qui m'a tant soutenue avec ses prières, qui m'a toujours encouragé et qui a tout fait pour m'avoir un jour réussir.

A mon Père, Hadj Moulaï qui a sacrifié sa jeunesse et qui n'a jamais su dire non pour subvenir à mes besoins, au cours de mes études et ma formation.

A mes Frères, Toufik, et Abdelkader

A Mes très chères sœurs Maroua, Nadjla et Aïcha

Ma famille «Berouibeh » Dakka, Rabiaa, Ilyes, Zizou et Mebarka

En fin je dédié ce modeste travail à ma promotion.

Hassani Mohamed

-I- Historique de l'IA :

L'IA a été utilisé au 14ème siècle chez la jument par les arabes et ce grâce à ABOU BAKR ELNACIRI, mais c'est seulement à la fin du 18ème siècle que les premières inséminations des mammifères ont été rapportées. C'est LAZZARO SPALLANZANI, un prêtre scientifique Italien, qui en Europe, en 1780, a découvert et décrit la fécondation d'ovule par les spermatozoïdes et qui fut le premier à réaliser une IA. Il injecta du sperme dans le vagin d'une chienne en chaleur, laquelle accoucha de 3 chiots 62 jours plus tard.

Un siècle après, Albrecht, MILLAISET et REPIQUET reproduisirent la même méthode.

La technique a été perfectionnée par des vétérinaires et des scientifiques, et commencée à être utilisée couramment à partir des années 1940. La mise au point, au début du 20ème siècle, du vagin artificiel et en 1952 de la congélation du sperme par Poldge et Rowson, a permis à l'IA de prendre son réel essor.

En 1964, un français, Cassou, créa la paillette de semence congelée qui sera exportée dans le monde entier.

INTRODUCTION

Autrefois, la seule technique de reproduction utilisée dans l'espèce équine était la monte naturelle. Aujourd'hui, il faut tenir compte :

- du milieu professionnel qui entoure l'activité équine, pour qui le cheval est synonyme de métiers (éleveurs, cavaliers, techniciens...),
- des enjeux économiques que l'élevage implique (le prix des saillies pouvant dépasser les 15 000 €, 2 à 3 années d'entretien sont nécessaires avant que l'animal puisse démontrer ses capacités et trouver un acquéreur...),
- de la dispersion des juments et des étalons chez les éleveurs sur tout le territoire national, ainsi qu'à l'étranger.

La semence des étalons à haute valeur génétique, due à leur valeur sportive ou à leur appartenance à certaines races menacées, doit pouvoir être diffusée aux éleveurs pendant la période de monte, qui s'étend de février à juillet. De plus, certains étalons poursuivent leur carrière sportive pendant la saison de monte. Par conséquent, la reproduction équine se caractérise par des mouvements importants d'animaux ou de semences. Il a donc été nécessaire de moderniser les techniques de reproduction en utilisant tout d'abord l'insémination artificielle en semence fraîche, puis en se tournant vers des méthodes de conservation plus longues (réfrigération, congélation) de la semence, de façon à laisser entière liberté de mouvement aux reproducteurs. A l'heure actuelle, pour les haras Nationaux, le transport de la semence non congelée se fait surtout à 4°C dans des véhicules équipés de systèmes de refroidissement actif. Des transports ponctuels sont cependant effectués grâce à des boîtes contenant un système de refroidissement passif, permettant de maintenir une température basse, sans passer en dessous de 0°C, en théorie. Ces boîtes présentent cependant l'inconvénient d'être sensibles à la température extérieure.

Les étalons sont très inégaux dans l'aptitude de leur semence à résister à la conservation. Aujourd'hui encore, la qualité d'un éjaculat est estimée le plus fréquemment par la mesure de la mobilité des spermatozoïdes. Toutefois, la corrélation qui existe entre ce critère et la

fertilité reste insuffisante pour satisfaire à la fois les besoins de la recherche et les centres d'insémination.

L'objectif de ce travail est donc d'étudier **la qualité** du sperme conservé dans des boîtes de transport soumises à **différentes températures de stockage** au travers de deux expérimentations : l'une mesurant **la fertilité** des doses et l'autre étudiant différentes caractéristiques *in vitro* du sperme conservé (plus précises que la mobilité des spermatozoïdes) afin d'obtenir éventuellement une corrélation entre la fertilité et ces paramètres.

L'étude bibliographique expose essentiellement les aspects techniques de l'insémination artificielle (IA), les modalités de préparation et de conservation de la semence, ainsi que les différents tests utilisés pour juger de la qualité des spermatozoïdes. L'étude expérimentale est divisée en 3 parties : la première présente les différents protocoles mis en place, la deuxième les résultats obtenus et la troisième les réflexions que nous ont inspirées ces résultats.

-II- Rappel de l'anatomie et de la physiologie sexuelle chez la jument :

La connaissance parfaite de la cyclicité de la femelle ainsi que de la conformation de l'appareil génital sont deux prérequis indispensables à la réalisation d'inséminations artificielles

1. Physiologie sexuelle :

1.1 . Généralités :

La jument présente un cycle polyoestrien saisonnier à jours longs. La cyclicité dépend donc de la photopériode et la plupart des juments ont des chaleurs d'avril à octobre. La saison de monte officielle a lieu du 15 février au 15 juillet. Cependant, il est possible, avec une bonne alimentation et des animaux abrités des variations climatiques, d'obtenir une cyclicité annuelle ; on peut éventuellement y ajouter un éclairage artificiel en période de jours courts.

La puberté survient entre 12 et 24 mois, à 18 mois en moyenne, avec des variations en fonction de l'alimentation et du mois de naissance : les femelles nées tard dans la saison ou en sous-nutrition présentent des chaleurs plus tardives. De même, un entraînement intensif et/ou l'administration de stéroïdes anabolisants peuvent retarder l'apparition des premières chaleurs. Il existe un anoestrus hivernal chez toutes les pouliches de 1 à 2 ans, de même pour celles qui prennent 3 ans à l'hiver. De plus, les juments ayant pouliné tard (en juillet-août) présentent souvent un anoestrus plus long. Enfin, chez les chevaux de trait, les poneys, les juments âgées ou si le poulinage est tôt dans la saison, l'anoestrus est également plus marqué, parfois même jusqu'à ne pas avoir de cycle au printemps suivant . Nous allons présenter dans cette partie les différentes phases du cycle oestral et les signes associés, les variations physiologiques des ovaires et enfin les modifications hormonales observées.

1.2 . Les différentes phases du cycle oestral :

Un cycle est la période comprise entre deux ovulations successives. Durant chaque cycle, les follicules contenus dans les ovaires subissent une phase de croissance ; lorsque l'un d'entre eux est mûr, il y a ovulation. Chez la jument, cette période dure en moyenne 21 jours (+/- 2 jours), et peut être divisée théoriquement en quatre phases :

a- Le pro-oestrus (2 jours) : c'est la période de croissance et de maturation folliculaire. La phase folliculaire est la période de croissance des follicules qui se termine par l'ovulation spontanée de l'un d'entre eux et l'atrésie de tous les autres.

Cette croissance folliculaire est généralement divisée en trois phases :

Recrutement : c'est l'entrée en croissance terminale de 3 à 5 follicules de 5 à 15 mm de diamètre pendant le dioestrus, sous la dépendance des hormones gonadotropes.

Sélection : c'est le phénomène par lequel un seul follicule, parmi ceux mesurant 20 à 30 mm de diamètre, est « sélectionné » pour poursuivre sa croissance. Il se produit au début de l'oestrus (environ 15 jours post-ovulation précédente soit J15).

Dominance : le follicule précédemment sélectionné achève sa croissance et contrôle dans un même temps celle des autres follicules, puis provoque leur atrésie, sous le jeu d'influences hormonales. Sous l'action de FSH et LH, le follicule dominant deviendra le follicule ovulatoire.

b- L'oestrus dure 6 jours en moyenne: c'est la période d'acceptation du mâle, pendant laquelle la jument montre des signes caractéristiques. La durée de l'oestrus varie de façon importante en fonction des conditions climatiques et d'entretien de la jument, surtout en début et fin de saison sexuelle. La période d'acceptation de l'étalon est ainsi plus longue au printemps, lors des premiers cycles. Elle raccourcit progressivement pour être minimale en août (4 à 5 jours) et ré-augmente jusqu'à atteindre 7 à 9 jours en octobre.

L'ovulation, quant à elle, survient dans les dernières 48h des chaleurs, avec une grande variabilité selon les juments cependant. Cette ovulation se produit en moyenne 24h (0 à 48h en pratique) avant la fin des chaleurs, soit autour du cinquième jour de l'oestrus. Mais il peut exister une disjonction importante entre les chaleurs et l'ovulation, les deux

L'insémination artificielle chez la jument

phénomènes n'étant pas forcément liés : ainsi, on constate entre 96 et 100% de chaleurs ovulatoires en été, contre 20% seulement en hiver. Il existe aussi des ovulations non précédées d'oestrus, fréquentes en juillet-août, ou encore des ovulations multiples (25% des cas), surtout en mars.

c- Le *metoestrus* ou *postoestrus* (5 jours) est la phase d'élaboration du corps jaune.

d- Le *dioestrus* (9-10 jours): c'est la durée de persistance d'activité du corps jaune, qui se traduit par un refus du mâle. Ces deux dernières phases constituent l'interoestrus, qui est donc l'intervalle qui sépare deux cycles successifs. Chez la jument non gestante, il dure 14 à 15 jours : le retour en chaleurs a presque toujours lieu 15 jours après l'ovulation. La variabilité de durée du cycle est donc essentiellement due à celle de l'oestrus. Un allongement ou raccourcissement de l'interoestrus, en dehors d'une intervention du vétérinaire, doit donc faire suspecter une anomalie.

Après chaque cycle, il y a reprise d'un autre cycle, ou anoestrus saisonnier selon la période de l'année. Le passage à l'inverse de cet anoestrus à une période d'activité ovarienne régulière est appelé transition vernale. Chez les femelles pubères, elle a lieu en fin d'hiver ou en début de printemps, de façon variable selon les animaux et la gestion zootechnique que l'on en fait. Cette période de transition correspond à une activité folliculaire, variable, avec de nombreux follicules, dont certains atteignent la taille ovulatoire avant de devenir atrétiques.

En outre, après une mise-bas, l'activité ovarienne persiste et un retour en chaleurs est observé 5 à 12 jours post-partum en moyenne, pour une durée de 4 jours. L'insémination est donc tout à fait possible, mais la fertilité est moindre . En réalité, ceci se vérifie lorsque l'insémination a lieu avant le dixième jour suivant le poulinage car l'involution utérine n'est alors pas complète. Passés ces 10 jours, les taux de réussite obtenus sont identiques. Les différentes phases qui se succèdent lors de chaque cycle se traduisent par des modifications comportementales chez la jument, sous l'action de facteurs hormonaux.

1.3. Le cycle hormonal : nature et mode d'action des différentes hormones intervenant dans le cycle sexuel

Le cycle sexuel est sous le contrôle de 6 hormones majeures : la GnRH, la FSH, la LH, la progestérone, les prostaglandines, et les oestrogènes. Leur sécrétion est contrôlée au niveau central par l'axe hypothalamo-hypophysaire tandis que leur action est concentrée sur cette même structure (rétrocontrôle), ainsi que sur l'utérus et/ou les ovaires. Après une brève présentation de ces molécules, nous allons nous intéresser à leur sécrétion et à leur mode d'action, à l'origine des variations physiologiques observées

1.3.1. Nature des hormones mises en jeu et principaux rôles :

1.3.1.1. GnRH : Gonadotropin Releasing Hormone

Elle est sécrétée par l'hypothalamus, sous le contrôle de facteurs externes, tels que la photopériode ou l'activité physique, ou de facteurs psychiques. L'ensemble de ces stimuli est centralisé par des neurones hypothalamiques spécialisés, qui agissent sur des neurones neuro-sécrétoires, à l'origine de la libération de GnRH. Ainsi, le contrôle est également permis par des neuromédiateurs (dopamine, noradrénaline...). Celle-ci est ensuite transportée par voie axoplasmique jusqu'aux noyaux paraventriculaires et arqués de l'éminence médiane, puis elle passe dans le système porte. Elle gagne ainsi

L'antéhypophyse où elle provoque la libération de FSH et LH. La sécrétion de GnRH est pulsatile, avec des pulses d'amplitude, de durée et de fréquence variables : une faible pulsatilité favorise la libération de FSH, alors qu'une fréquence plus élevée agit sur le relargage de LH.

1.3.1.2. FSH : Follicle Stimulating Hormone

Cette gonadotrophine est libérée par l'antéhypophyse (glande pituitaire antérieure) dans la circulation sanguine, selon deux modes :

- une sécrétion de base dite « tonique », à caractère pulsatile et de faible fréquence
- une sécrétion cyclique, également pulsatile mais à fréquence élevée

La FSH agit au niveau des ovaires, où elle stimule les structures germinales et la méiose, la synthèse de protéines transporteuses, et l'aromatase qui permet de synthétiser les

L'insémination artificielle chez la jument

oestrogènes. Elle a donc un effet globalement stimulant sur la folliculogénèse, et intervient dans les processus de recrutement, de sélection et de dominance. Arrivés à une certaine taille, les plus gros follicules produisent une substance qui inhiberait la sécrétion de FSH : l'inhibine.

1.3.1.3 . LH : Luteinising Hormone

Comme pour la FSH, sa sécrétion est bimodale. Ces deux hormones gonadotropes ont des concentrations qui évoluent en opposition de phase, à

l'exception de la courte période pré-ovulatoire où elles augmentent toutes les deux. Cette sécrétion est régulée à la fois par la GnRH et par les stéroïdes, de manière différente. En effet, la pulsativité n'est pas spontanée.

La LH agit au niveau des ovaires, où elle stimule les cellules de la thèque interne et provoque ainsi la libération d'androgènes. Elle joue également un rôle stimulant sur la croissance folliculaire, et provoque l'ovulation s'il y a eu « imprégnation » de l'ovaire par la FSH auparavant. Elle permet la formation du CJ, son maintien, et la sécrétion précoce de progestérone, 12h post-ovulation.

1.3.1.4. La progestérone :

Cette hormone stéroïdienne est libérée par le corps hémorragique et par le CJ actif. Elle est sécrétée à 80% par les grandes cellules lutéales dérivées de la granulosa, et à 20% par les petites cellules lutéales issues de la thèque interne. Son taux atteint un plateau pendant le dioestrus (ou la gestation), puis chute avec la lyse du CJ. La progestérone n'a d'effet qu'après imprégnation par des oestrogènes (en période d'activité sexuelle, en dehors de l'anoestrus saisonnier). Elle exerce un rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus, qui bloque le développement folliculaire et inhibe toute nouvelle ovulation. C'est l'« hormone de la gestation »: elle prépare une éventuelle nidation en provoquant un développement important de l'endomètre et une diminution des contractions utérines. Elle a également un effet sur le comportement : elle fait disparaître les attitudes caractéristiques de l'oestrus, et un comportement maternel se met en place. Un faible taux plasmatique, de l'ordre de 1 ng/ml au minimum, suffit à provoquer ce changement.

1.3.1.5 . Les prostaglandines PGF2 α :

Les prostaglandines sont des hormones de nature variée, sécrétées à différents niveaux de l'organisme, qui présentent une grande diversité d'actions.

Elles ont en commun leur structure chimique : ce sont des acides gras insaturés à 20 atomes de carbone, dont la structure dérive de l'acide arachidonique. Leur synthèse est ubiquitaire : toutes les cellules de l'organisme peuvent synthétiser des prostaglandines (sauf les érythrocytes).

La PGF2 α , également appelée lutéolysine, est celle qui est sécrétée par les cellules de l'endomètre en dehors d'une gestation, sous l'effet de l'ocytocine, elle-même libérée par le CJ. Elle est responsable de la régression et de la lyse du CJ à la fin de la phase lutéale : on observe ainsi une décharge de PGF2 α entre le 14^{ème} et le 17^{ème} jour post-ovulation chez les juments cyclées. L'imprégnation de l'endomètre par la progestérone serait responsable de la synthèse de prostaglandines par celui-ci ; à l'inverse, les fortes décharges de PGF2 α , qui se prolongent après la lutéolyse, induisent une chute de la concentration en progestérone plasmatique.

Outre la lutéolyse, les PGF2 α entraînent une contraction des fibres musculaires lisses, de l'utérus et du tube digestif en particulier. Elles joueraient également un rôle dans l'ovulation, sous l'action de FSH et LH, mais celui-ci est peu connu .

Une particularité de la jument est que les prostaglandines passent directement dans la circulation générale, alors que dans les autres espèces elles subissent d'abord un cheminement artério-veineux à contre-courant, de l'utérus vers les ovaires . Après avoir exercé leur action systémique, les molécules sont éliminées sous forme de métabolites par voie urinaire et pulmonaire, sans stockage.

On utilise très fréquemment les injections de PGF2 α pour induire une lutéolyse et la reprise d'un nouveau cycle exploitable pour la reproduction, qui a lieu 5 jours après administration. A noter cependant que le CJ n'est réceptif à l'action des prostaglandines qu'à partir du cinquième jour suivant sa formation.

1.3.1.6. Les oestrogènes :

On réserve cette appellation à toute hormone, naturelle ou synthétique, qui a pour effet biologique d'assurer un développement de type femelle, la maturité de l'appareil génito-mammaire et le déroulement régulier du cycle oestral. Ce sont des hormones stéroïdiennes dont la structure dérive du cholestérol. Les principales molécules représentantes sont :

- l'oestrone, que l'on trouve dans l'urine de jument gravide et dans le liquide folliculaire
- l'oestradiol, qui est considérée comme la véritable hormone folliculaire ;

l'oestradiol 17- β semble être le principal sécrété

Les oestrogènes sont synthétisés grâce à une coopération entre les cellules de la granulosa et celles de la thèque interne, puis libérés par celles de la granulosa. Ils agissent à deux niveaux : sur les organes génitaux et sur l'encéphale. Ils sont ainsi responsables des modifications du tractus génital observées lors de l'oestrus. Leur action sur les centres nerveux se traduit par une stimulation de la libido et du comportement sexuel de la jument. Ils exercent également un rétrocontrôle positif sur l'hypophyse, à faible dose et en l'absence de progestérone, en stimulant la production de LH. Au contraire, à forte dose ou en présence de progestérone, ils inhibent la croissance folliculaire (rétrocontrôle négatif).

L'oestradiol serait en fait un messenger chimique, témoignant de la maturité des follicules, quel que soit le stade du cycle oestral [18]. Les oestrogènes participeraient également, avec les androgènes, à l'évolution des gros follicules vers l'ovulation ou l'atrésie.

Ainsi, le déterminisme hormonal du cycle sexuel fait intervenir de nombreuses molécules. Leur action va essentiellement dépendre de leur concentration sanguine, qui varie au cours de chaque cycle.

1.3.2. Profils endocriniens au cours du cycle oestral :

1.3.2.1. Oestrus :

Le déclenchement de l'activité sexuelle en début de saison de reproduction a lieu sous l'influence de divers facteurs : photopériode, conditions climatiques, âge, état de santé et d'embonpoint de la jument. L'ensemble des stimuli externes agit au niveau de l'axe hypothalamo-hypophysaire en induisant la sécrétion pulsatile de GnRH, elle-même à l'origine de la libération de FSH par l'antéhypophyse.

La maturation folliculaire qui a lieu en début de cycle se déroule en deux phases : une phase de croissance basale, indépendante de FSH et LH, et une phase de croissance terminale, sous le contrôle de ces gonadotropines.

La concentration en FSH est minimale en début d'oestrus. Elle augmente rapidement et stimule le recrutement et la maturation folliculaires. Un niveau basal de LH est nécessaire à l'efficacité de la FSH. La croissance des follicules recrutés entraîne une synthèse accrue d'oestrogènes et d'inhibine, qui exercent un rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire. Il s'en suit une baisse de la sécrétion de FSH et une augmentation de la pulsativité de libération de LH. Cette chute de FSH provoque la fin du recrutement folliculaire, tandis que la LH joue un rôle dans le phénomène de sélection. La phase finale de dominance est sous le contrôle exclusif des pulses de LH.

En fin de maturation folliculaire, les concentrations en oestradiol et en inhibine atteignent un plafond. Le pic d'oestradiol, apparaissant 1 à 3 jours avant l'ovulation, est à l'origine des manifestations biologiques et comportementales de l'oestrus.

La stéroïdogénèse, qui a lieu sous l'action des hormones gonadotropes, provoque la libération d'androgènes par les cellules de la thèque interne. Ceux-ci peuvent être aromatisés et transformés en oestradiol (par les cellules de la granulosa) ; la progestérone étant un précurseur de l'oestradiol, on en retrouve également dans le liquide folliculaire.

Cependant, la progestéronémie pendant l'oestrus reste faible : après la lutéolyse du cycle précédent, le taux chute et reste inférieur à 1 ng/ml.

1.3.2.2.Dioestrus :

Le corps jaune est sécréteur de progestérone : sa concentration plasmatique commence à augmenter après l'ovulation, pour atteindre un maximum 5 à 9 jours plus tard. La phase lutéale est caractérisée par un taux de progestérone plasmatique allant de 1 à 8 ng/ml. Dans la deuxième moitié du dioestrus, il est supérieur à 5 ng/ml. Il reste élevé jusqu'au 14ème jour, date à laquelle se produit la lutéolyse. Son augmentation progressive est à l'origine d'un rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire, d'où une diminution de la pulsativité de la GnRH, et une stimulation de la libération de LH. La progestérone inhibe également la libération centrale de PIF (Prolactine Inhibiting Factor), ce qui provoque une libération accrue de prolactine. Cette substance, avec la LH, permettent un maintien du CJ. La lutéolyse a lieu suite à l'action des PGF2 α sécrétées par l'endomètre, en l'absence de gestation. En effet, les oestrogènes libérés par les nouveaux follicules en croissance et l'ocytocine synthétisée par les cellules du CJ stimulent la sécrétion de PGF2 α . Un relargage accru de PGF2 α peut également avoir lieu suite à une endométrite ou une manipulation intra-utérine pendant la phase lutéale. On assiste alors à un raccourcissement de l'interoestrus.

La concentration en FSH atteint un deuxième pic en milieu de dioestrus, 12 jours environ avant l'ovulation suivante. Il a pour effet une stimulation de la croissance folliculaire initiale. L'activité folliculaire est encore réduite à ce stade ; on peut le constater au faible taux d'oestrogènes, qui chute après l'ovulation. Il revient au seuil d'origine en 5 à 8 jours. Ainsi, le déroulement du cycle oestral se fait sous le contrôle de multiples facteurs, notamment endocriniens. L'utilisation d'hormones ou de leurs analogues de synthèse est très répandue en gynécologie équine, pour remédier à certaines anomalies du cycle, mais également pour synchroniser les chaleurs (pour permettre un transfert d'embryons par exemple), ou provoquer l'ovulation, pour des raisons pratiques.

III -Généralités sur l'insémination artificielle chez la jument

Cette technique est apparue pour les chevaux au début des années 80. Elle présente un réel avantage sur de nombreux points :

- En diluant le sperme, on peut l'utiliser sous forme de **doses** et augmenter ainsi le nombre de juments fécondées par le même étalon - entre 7 et 25 jument avec un seul prélèvement. On augmente donc le **rendement moyen** d'un cheval par 10.
- Les étalons passant moins de temps à la saillie, ils peuvent poursuivre plus facilement leur **carrière de compétiteur** en parallèle de celle de reproducteur.
- L'absence de contact direct entre l'étalon et la poulinière permet la quasi-absence de **transmission de maladies vénériennes**, telles que la métrite contagieuse.
- Les étalons prélevés étant systématiquement examinés médicalement et les poulinières ont un suivi gynécologique régulier, l'**hygiène sanitaire** est donc fortement améliorée et les résultats satisfaisants, d'autant plus que la dose de sperme est déposée directement au niveau du col de l'utérus, ce qui n'est pas toujours le cas en monte naturelle.
- La congélation du sperme permet, éventuellement, d'augmenter artificiellement la reproduction d'un étalon après sa mort ou sa castration.

Cependant, ces mêmes avantages ont un penchant négatif. En effet, on risque un **appauvrissement génétique** dû à l'utilisation excessive d'un nombre restreint d'étalon.

D'autre part, l'insémination en sperme congelé a encore des **résultats inférieurs** à ceux de la monte naturelle ou de l'insémination artificielle.

L'insémination artificielle chez la jument

La réglementation concernant l'insémination artificielle est différente selon les **pays** et les **races**. En France, les étalons pouvant bénéficier de l'insémination artificielle doivent répondre à plusieurs critères pour obtenir l'**agrément indispensable** :

- être autorisé à la monte publique,
- faire partie d'une race autorisée à la monte en insémination artificielle,
- respecter la technique préconisée d'insémination artificielle,
- respecter le quota de juments prédéterminé.

L'autorisation à la monte publique est indispensable, quelque soient le mode de monte, pour avoir un poulain avec des documents d'origine et pour pouvoir faire faire des saillies à un étalon avec des juments n'appartenant pas à son propriétaire. Cette autorisation, délivrée par les Haras Nationaux, est annuelle et nécessite de remplir **plusieurs conditions** :

- faire partie d'une race reconnue,
- avoir l'âge nécessaire au moment de la monte,
- donner satisfaction aux critères de modèle, d'allures, de caractère et d'état de santé au dépôt d'étalons ou au cours d'épreuve de la race,
- faire la monte dans des locaux répondant aux normes sanitaires.

En ce qui concerne les **critères de races** :

- Les Pur-Sang ne peuvent bénéficier de l'insémination artificielle, sous toutes ses formes.
- Les Trotteurs Français peuvent en bénéficier depuis 1985, avec de la semence fraîche (insémination moins d'une heure après le prélèvement), pour un nombre maximal de 100 juments Trotteurs Français et 30 juments étrangères, mais les produits de ces dernières ne seront pas inscrits au stud-book du Trotteur Français.

L'insémination artificielle chez la jument

- Les races de Selle peuvent en bénéficier que ce soit en sperme frais, réfrigéré ou congelé, pour 60 juments maximum et, éventuellement, 100 juments sur dérogation.
- Les chevaux Lourds Peuvent également en bénéficier sous toutes ses formes, depuis 1980, sans aucune limitation du nombre de juments.

Dans tous les cas, **2 règles** sont à respecter, en France :

- Un étalon ne peut, sur la même saison de monte, pratiquer qu'**une technique de monte**, soit en monte naturelle, soit en insémination artificielle. Les étalons des Haras Nationaux sont les seuls à pouvoir déroger à cette règle.
- Il est obligatoire de procéder à des **contrôles de filiation** par la détermination des groupes sanguins pour tous les poulains nés par insémination artificielle.

Aux États-Unis, l'insémination artificielle est couramment pratiquée, sauf pour les Pur-Sang pour lesquels elle est interdite. Chaque race a sa propre réglementation, certaines étant beaucoup plus libérale que d'autres, comme pour les Paso-Fino qui bénéficient de toutes les formes d'insémination, sans aucune limitation dans le transport du sperme et le nombre de juments par étalon.

L'insémination artificielle doit s'effectuer dans un **centre agréé**, qui peut regrouper 1 ou 2 fonctions :

- Centres de production s'occupant de la récolte, du conditionnement, du stockage, de la conservation.
- Centres de mise en place s'occupant du stockage, de l'insémination, de la récolte et de la mise en place dans l'heure et sur le site.

Un **inséminateur professionnel** a la responsabilité technique des centres de mise en place tandis qu'un chef de centre a celle des centres de production. Ils doivent être titulaires d'une licence qui est délivrée par le Ministère de l'Agriculture :

- La licence d'inséminateur est attribuée sur titre soit aux vétérinaires, soit aux titulaires de certificats d'aptitude qui sont délivrés par des centres de formation agréés.

L'insémination artificielle chez la jument

- La licence de chef de centre est attribuée par le service des Haras Nationaux, soit aux titulaires de certificats d'aptitude délivrés lors de formations agréés dont le recrutement s'effectue soit sur titre pour les vétérinaires et les ingénieurs, soit sur contrôle des connaissances pour les techniciens supérieurs et les techniciens du Ministère de l'Agriculture.

1 -Intérêt de l'insémination artificielle

2-Diffusion du progrès génétique

L'insémination artificielle peut dispenser l'éleveur de l'entretien de mâles adultes et de renouvellement ; élargissant les possibilités de croisements entre animaux appartenant à des élevages différents, elle donne à l'éleveur la possibilité de diversifier ses géniteurs mâles, et d'adapter leurs caractéristiques (race, nature et niveau des performances...) à celles des femelles de son troupeau et à ses objectifs de production. Elle lui permet surtout, c'est là son principal intérêt, d'accéder à des géniteurs de haut niveau.

Par les "connexions" qu'elle instaure entre les troupeaux, l'IA permet une gestion collective du patrimoine génétique. Elle rend possible la diffusion rapide du progrès génétique, mais contribue également à son obtention : la possibilité de disposer rapidement de descendants nombreux et produits dans différents élevages améliore la précision de l'estimation de la valeur génétique des mâles et donc la sélection des individus améliorateurs. Ces possibilités se trouvent démultipliées par la mise au point d'une conservation du sperme sur une longue durée.

L'insémination artificielle chez la jument

L'introduction, même dans une faible proportion, de l'insémination artificielle induit un accroissement considérable du progrès génétique. Un des exemples les plus spectaculaires est celui de l'augmentation de la production laitière des brebis Lacaune du Rayon de Roquefort : la production par brebis est passée de 113 litres par lactation en 1970 à 260 litres en 1995. Dans le même temps, le nombre d'IA a progressé de 20 000 en 1971 à 340 000 en 1994, et la totalité des éleveurs sélectionneurs utilisent actuellement l'IA.

2.1. Prélèvement de l'étalon

Une préparation psychologique est nécessaire pour que l'étalon accepte de saillir facilement une jument ou un mannequin puis d'éjaculer dans un récipient en plastique, "le vagin artificiel". En effet, l'étalon est souvent perturbé au début et il lui faut un apprentissage en répétant les prélèvements dans le calme, avec un entourage compétent.

On recommande habituellement que les étalons prélevés pour l'insémination artificielle n'effectuent plus de saillie en monte naturelle, afin de ne pas risquer que l'étalon préférant cette dernière forme de monte ne devienne trop difficile à prélever. Il est vrai qu'on rencontre des étalons refusant cette forme particulière de monte tels que Ourasi, célèbre champion de course de trot, qui acheté à un prix très élevé à la fin de sa carrière de compétiteur refusait de monter les mannequins et, de plus, n'acceptait de saillir que les juments de certaines robes..., ce qui limita d'autant plus le nombre des naissances. Mais, aux dernières nouvelles, après une reprise d'un entraînement physique adapté, il est revenu à de meilleures dispositions.

Si le prélèvement s'effectue à l'aide d'une jument en chaleur, elle doit être particulièrement calme et préparée comme pour la monte naturelle. Le vagin artificiel utilisé pour prélever le sperme est un récipient plastique de forme allongée, doublé d'une double paroi interne de caoutchouc qui est remplie d'eau tiède. À son extrémité, la semence se réceptionne dans un récipient en verre stérile. Pour tenir l'ensemble lors du prélèvement, 2 poignées sont installées latéralement.

Le sperme est récolté par un technicien qui s'avance vers la hanche droite de la jument ou du mannequin après que l'étalon se soit mis en place pour éviter tous chocs avec les

L'insémination artificielle chez la jument

antérieurs de l'étalon et tous risque de lui faire peur. Le technicien doit alors dévier la verge vers le vagin artificiel, avant qu'elle ne pénètre celui de la jument dans le cas d'une monte naturelle. Les mannequins les plus perfectionnés sont équipés d'un vagin artificiel placée de façon à ce que l'étalon puisse saillir dans une position naturelle, sans qu'il soit nécessaire de dévier sa verge.

2.2. Conditionnement de la semence

Lors d'un prélèvement, on recueille entre 20 et 150 ml. Les prélèvements varient en volume et en quantité de spermatozoïdes selon les chevaux et selon le prélèvements pour un même étalon. Pour chaque prélèvement, on mesure immédiatement et systématiquement la concentration et la qualité des spermatozoïdes. après ces analyses, on dilue le sperme dans un mélange à base de lait puis on le divise en doses qui doivent contenir chacun environ 400 000 spermatozoïdes.

L'utilisation de ces doses peut alors se faire, soit immédiatement sur le lieu-même du prélèvement, soit dans les 24 heures après réfrigération, soit après plusieurs mois ou années après congélation.

2.3. Insémination de la poulinière

L'insémination s'effectue idéalement dans les 24 heures avant l'ovulation. La jument est donc suivie par l'échographie pour effectuer l'insémination quand le follicule est sur le point d'éclater. Un contrôle par échographie est effectué le lendemain, si le follicule est toujours intact, la jument n'a donc pas ovulé et elle est inséminée à nouveau. Il est ainsi nécessaire d'effectuer 2 à 3 inséminations par chaleur en début de saison de monte puis ce taux diminue légèrement dans la suite de la saison.

L'insémination artificielle chez la jument

La jument devant être inséminée est préparée aussi soigneusement que pour une saillie. L'insémination artificielle est effectuée par un manipulateur ayant des gants stériles et qui injecte la dose de sperme dans l'utérus avec une sonde et une seringue, tous deux stériles.

3 -Amélioration des fécondations

Chez les mammifères, les taux de fécondation enregistrés après IA sont égaux ou légèrement inférieurs à ceux obtenus par accouplement naturel. Chez plusieurs espèces avicoles, l'IA permet au contraire d'accroître le taux de réussite de la reproduction. C'est le cas pour la dinde, où la différence de taille entre mâle et femelle rend l'insémination pratiquement obligatoire : elle permet d'atteindre 95% de fécondations, alors que la reproduction naturelle ne dépasse pas 25% ou est même impossible. L'IA améliore également les performances obtenues lors d'hybridations entre espèces différentes : chez les canards, le croisement entre mâle Barbarie et femelle commune donne ainsi 2 à 3 fois plus d'oeufs fécondés. Enfin, l'IA rend possible la fécondation des reproductrices élevées en cages individuelles (pintades par exemple).

IV - ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Anatomie, physiologie et reproduction de la jument

Les chevaux peuvent afficher une performance de reproduction élevée. Les éleveurs qui comprennent les principes de base de la reproduction sont mieux placés pour atteindre leurs buts.

La présente fiche technique offre de l'information de base sur l'anatomie, la physiologie et les techniques de gestion, qui peut contribuer à améliorer la performance de reproduction chez la jument.

ANATOMIE

Les figures 2 et 3 présentent respectivement des vues sagittale et frontale de l'appareil reproducteur de la jument.

Col utérin – D'environ 10 cm (4 po) de longueur, extrémité inférieure de l'utérus s'ouvrant sur le vagin et servant à maintenir un milieu stérile dans l'utérus. Le col se dilate quand la jument est en chaleurs et il se referme en l'absence de chaleurs ou de gestation.

Infundibulum – Structure en forme d'entonnoir venant coiffer l'ovaire à l'extrémité de l'oviducte et permettant de capturer l'ovule libéré à l'ovulation et de le transporter jusque dans l'oviducte.

Ligament large – Couche résistante de tissus fibreux renfermant des vaisseaux sanguins et des nerfs qui sert à suspendre la majorité du tractus génital dans l'abdomen.

Ovaire – Gonade (glande sexuelle) de la jument. L'ovaire produit l'ovule (oeuf) qui sera fertilisé et sert de glande endocrine produisant les hormones que sont les oestrogènes et la progestérone. **Oviducte** – Long conduit à circonvolutions allant de l'infundibulum à la corne utérine correspondante. Sert à acheminer le sperme et l'ovule vers le site de la fécondation qui se trouve dans le tiers supérieur de l'oviducte. L'ovule fécondé est ensuite transporté jusque dans l'utérus. **Utérus** – Organe constitué du corps proprement dit de l'utérus qui s'ouvre sur le col utérin, vers l'extérieur, et qui, du côté postérieur, possède deux cornes utérines divergentes qui débouchent sur les oviductes. L'utérus est l'endroit où l'embryon se développe et se nourrit. Il produit en outre des hormones et sert de réceptacle à la semence lors de la monte naturelle.

L'insémination artificielle chez la jument

Vagin – Partie de la filière pelvigénitale (trajet parcouru par le fœtus) située dans la ceinture pelvienne et s'étendant du col utérin à la vulve.

Vulve – Ensemble des parties extérieures de l'appareil génito-urinaire (fait partie de la filière pelvigénitale et comprend le méat urinaire).

1. Anatomie de l'appareil reproducteur :

On peut distinguer trois grandes parties dans l'appareil génital de la jument :

- la vulve et le périnée, visibles par abord externe
- le vestibule, le vagin, le col et l'utérus (un corps, deux cornes et deux trompes ovariennes), qui constituent le tractus génital
- les ovaires, portion glandulaire du système

Ces deux dernières parties ne sont accessibles que par un examen interne, au moyen d'un spéculum, d'une palpation transrectale ou vaginale, d'une échographie transrectale, ou d'une endoscopie par voie vaginale.

Nous allons à présent décrire plus précisément l'anatomie de ces régions, à l'aide de schémas et de photos

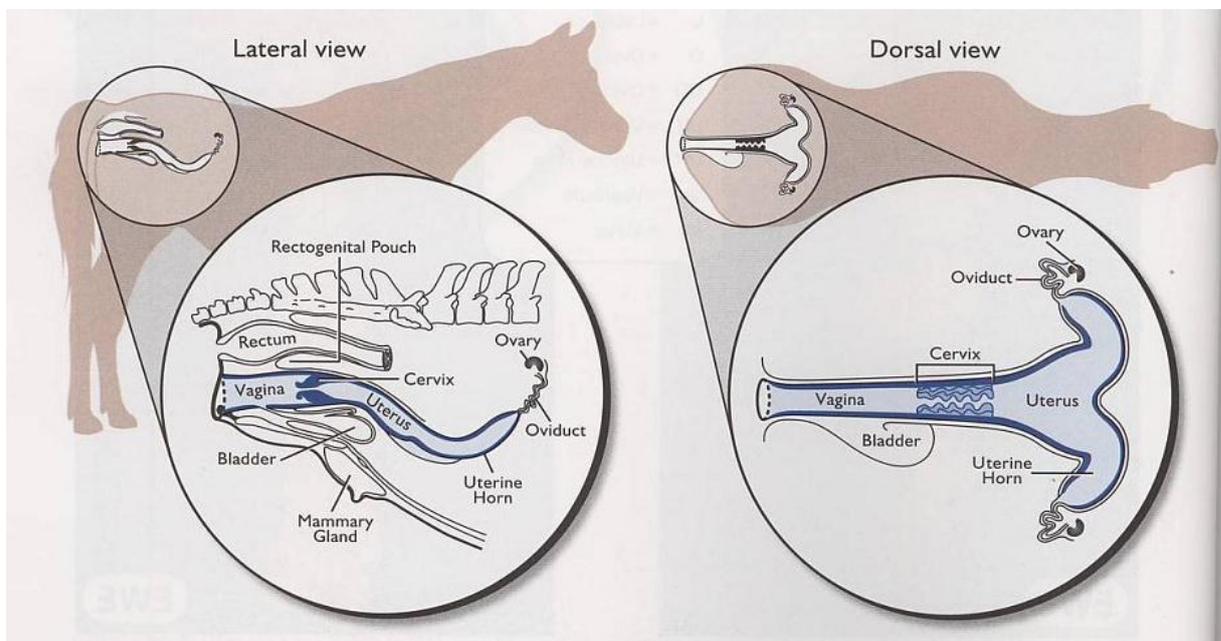


Figure 1 anatomie de l'appareil reproducteur

1.1 Appareil génital externe : la région vulvo-périnéale

Cette partie est commune aux voies génitale et urinaire. La vulve est située juste en dessous de l'anus, la commissure dorsale se trouvant en moyenne à 5 cm de celui-ci. La peau à cet endroit est pigmentée, pratiquement glabre, et riche en glandes sébacées. En écartant les lèvres avec le pouce et l'index, on distingue nettement la limite avec la muqueuse vestibulaire qui est rosée et lisse en temps normal.

La vulve est pratiquement verticale, légèrement inclinée ventro-caudalement ; ses deux tiers inférieurs sont situés en dessous de la symphyse pubienne. Cette conformation permet une étanchéité de l'ouverture, et limite les risques de contamination fécale ou de pneumovagin (entrée d'air par la vulve). Cependant, chez les juments âgées, maigres ou mal conformées, l'anus est déplacé crânialement, enfoncé entre les ischions, et la vulve est ainsi inclinée crânio- dorsalement. Sa commissure dorsale se retrouve alors au-dessus de la symphyse pubienne, ce qui est à l'origine de problèmes d'endométrite et de pneumovagin.

L'examen de l'appareil génital externe est donc primordial avant toute mise à la reproduction.

1.2 . Tractus génital : vestibule, vagin et col :

L'appareil génital peut s'observer à l'aide d'un spéculum ou par palpation.

1.2.1 . Portion uro-génitale :

1.2.2 . Vue de face (caudale) :

L'insémination artificielle chez la jument

Le vestibule se trouve juste derrière les lèvres vulvaires. Sa muqueuse est rosée, plus ou moins brunâtre. Le clitoris, situé ventralement, est ovoïde, légèrement trilobé, et présente trois petites cavités : les sinus clitoridiens (deux latéraux, un central ou médian et deux ventraux). L'ensemble est recouvert par un repli préputial transverse. Ainsi, seul le gland du clitoris est visible extérieurement. La fosse clitoridienne est la partie ventrale ; elle constitue un réservoir important de germes et c'est le site de prélèvement utilisé pour le dépistage de la métrite contagieuse à *Taylorella equigenitalis*.

1.2.3. Vue de profil :

Sur une vue de profil, on peut voir que le vestibule a une longueur de 10 à 15 cm, depuis les lèvres vulvaires jusqu'à l'étranglement vestibulo-vaginal situé au niveau de l'hymen. Son diamètre est de 4 à 6 cm. Caudalement à cette zone de striction se trouve le méat urinaire qui est une fente transversale béante dans la muqueuse, ventrale, surmontée d'un repli muqueux en forme de valvule dirigée vers l'arrière.

Chez les pouliches, crânialement à cet orifice, l'hymen est présent sous la forme d'une cloison mince qui occupe plus ou moins la lumière du tractus. Il disparaît vers l'âge de quatre ans, même chez les juments n'ayant jamais été inséminées ou saillies, mais peut persister sous forme de lambeaux cicatriciels. Il correspond à l'adossement des muqueuses vaginale et vestibulaire. En ce lieu existe toujours un net rétrécissement qui permet de limiter l'entrée d'air ou de matières fécales.

1.2.4 . Rapports anatomiques :

Le tiers supérieur de la vulve, en vue externe, se situe au-dessus de la symphyse pubienne, entre les tubérosités ischiatiques. Les voies génitales sont ensuite orientées crâniodorsalement ; lorsqu'on introduit un spéculum, on l'incline ainsi à 30° vers le haut. La limite vestibule-vagin se situe dorsalement à l'extrémité caudale de la symphyse pubienne.

1.3. Portion tubulaire :

1.3.1 . Vagin :

L'insémination artificielle chez la jument

C'est un « tube » de 20 à 25 cm de long, et 3 à 5 cm de diamètre, aplati dorsoventralement. Sa muqueuse est lisse et rosée et peut être recouverte d'une faible quantité de mucus. Il est légèrement rétréci à ses deux extrémités.

Il est situé pour sa majeure partie en position rétro-péritonéale, les deux tiers caudaux reposant sur le plancher du bassin dont ils sont séparés par l'urètre et le col de la vessie.

1.3.2. Col de l'utérus :

La partie vaginale du col est visible par examen au spéculum, et palpable par voie vaginale ou transrectale. C'est une zone circulaire, située médialement, au fond du vagin, de 2 à 3 cm de diamètre. Sa muqueuse est épaisse et blanchâtre avec de nombreux plis, à orientation rayonnée sur une vue de face et longitudinale en coupe. Le col fait 5 à 8 cm de long, sa lumière est très réduite et va de l'ostium interne à l'ostium externe de l'utérus : c'est le canal cervical. Son étroitesse constitue un troisième moyen de défense vis-à-vis des contaminations venant de l'extérieur.

Le col fait saillie dans le vagin, et est entouré d'un cul de sac annulaire appelé fornix. La longueur, le diamètre et la tonicité du col varient au cours du cycle sexuel. Son examen et sa palpation permettent donc de déterminer à quel stade se trouve la jument et si l'insémination est possible.

1.3.3. Corps utérin et cornes :

L'utérus chez la jument est en forme de « Y » ou de « T » en dehors d'une gestation. Son examen fait appel à la palpation transrectale ou à l'échographie, ou dans des cas particuliers (insémination profonde notamment), à une hystérocopie. Rostralement au col se trouve le corps de l'utérus, de 20 cm de long environ pour 6 à 8 cm de diamètre. Il est cylindroïde, lisse, et aplati dorso-ventralement : sa lumière est quasiment virtuelle en dehors d'une gestation ou d'un processus pathologique. Sa muqueuse est rosée, tirant vers le blanc ou le jaune, et comporte 8 à 10 plis longitudinaux.

Elle est recouverte d'un mucus filant, translucide, plus ou moins épais. Sa consistance est variable selon l'âge et le stade du cycle auquel se trouve la jument. Ainsi, avec un peu

L'insémination artificielle chez la jument

d'expérience, la palpation permet de différencier un utérus en phase folliculaire, mou et flasque, d'un utérus gravide ou en phase lutéale, tubulaire et tonique. De même, à l'échographie, on aura une image caractéristique en « quartier d'orange » chez la jument en chaleurs. Nous détaillerons toutes ces particularités plus loin.

Les moyens de fixité de l'utérus sont les ligaments larges, qui suspendent chaque corne à la voûte lombaire et se rejoignent pour ne former plus qu'un à la face dorsale du vagin. C'est donc un organe fixe, de par sa continuité avec le vagin et son attache ligamentaire. Néanmoins sa position peut varier légèrement selon le remplissage vésical ou intestinal ; il peut donc se retrouver dorsal ou latéral par rapport à la vessie.

La bifurcation des cornes se trouve en continuité avec le pôle crânial du corps.

Elle est repérée en progressant rostralement et ventralement sur le plancher pelvien : quand on a la sensation, par palpation transrectale, que sa main « plonge » si l'on continue d'avancer, on se trouve au-dessus de cette bifurcation. Chaque corne est de section circulaire et mesure 12 à 20 cm de long pour un diamètre de 5 à 6 cm, constant sauf au niveau de l'apex qui présente un rétrécissement. La muqueuse présente 12 à 14 plis longitudinaux.

Chaque corne est maintenue en place par une partie de ligament large. En région distale, on trouve un cul-de-sac hémisphérique, percé d'un ostium utérin, où s'abouche l'oviducte correspondant : c'est la papille utéro-tubaire. La partie interstitielle de la trompe est ainsi nommée jonction utéro-tubaire (JUT). Chacune des trompes suit ensuite un trajet sinueux dans le mésosalpinx, sur une quinzaine de cm (30 cm déroulée) ; son diamètre va en s'agrandissant progressivement (annexes 3 et 4). On peut diviser en trois cette portion abdominale, en partant de la papille:

1.4. L'isthme : c'est la portion la plus longue et la plus mince, elle fait 2 à 3 mm de diamètre externe environ. Sa paroi est plus épaisse et plus rigide que celle de l'ampoule.

1.4.1. L'ampoule : portion distale, légèrement dilatée, à paroi musculaire plus mince, de 5 à 9 mm de diamètre externe. C'est le lieu de la fécondation.

1.4.2 Le pavillon ou infundibulum :

L'insémination artificielle chez la jument

En forme d'éventail, il s'évase en regard de la zone germinative de l'ovaire, avec un point d'attache sur la face antéro-latérale de la fosse ovulatoire. Il est relié à l'ovaire par un petit ligament appelé fimbria ovarica, qui permet de garder un contact étroit entre les deux structures et facilite la récupération de l'ovocyte.

L'isthme, l'ampoule et le pavillon sont morphologiquement et histologiquement distincts. La jonction isthme-ampoule joue un rôle de barrière contre la descente d'ovocytes non fécondés.

1.5. Ovaires :

La jument a des ovaires globuleux, ovoïdes, de 65 mm de long sur 40 mm de large en moyenne pendant l'anoestrus, pour un poids d'environ 60 g. Leur forme, leur consistance, leur taille varient énormément en fonction de l'animal et du stade du cycle sexuel. Leur conformation est par contre caractéristique de l'espèce, avec un bord ventral largement échancré, pour constituer la fosse d'ovulation.

Les ovaires sont situés en regard de L2 ou L3. Ils sont maintenus en place par un renforcement du bord crânial du ligament large appelé ligament suspenseur de l'ovaire. De plus, un ligament propre relie chaque ovaire à la corne utérine correspondante.

Les bourses ovariennes sont des cavités contenues entre le mésovarium (partie crâniale du ligament large) et le mésosalpinx, placé latéralement par rapport à ce dernier (annexes 3 et 4). Ces bourses sont vastes et béantes latéralement. La particularité de la jument est qu'il y a un fort recouvrement péritonéal, seule la fosse d'ovulation, ventromédiale, n'étant pas recouverte. Cette zone est donc la seule qui permette la sortie de l'ovocyte vers la trompe adjacente. Ainsi, il arrive que la migration de certains ovocytes matures vers le hile soit entravée par la présence des autres follicules. La jument présente alors des signes d'oestrus mais l'insémination est infructueuse : cela fait partie des causes de « fausses chaleurs ». L'appareil génital de jument est donc organisé de façon relativement simple. La grande taille des équidés en général permet de plus une inspection aisée, à la fois externe et interne, par observation directe ou par palpation.

L'insémination artificielle chez la jument

Suite à cette présentation anatomique, nous allons étudier les particularités du cyclesexuel de la jument.

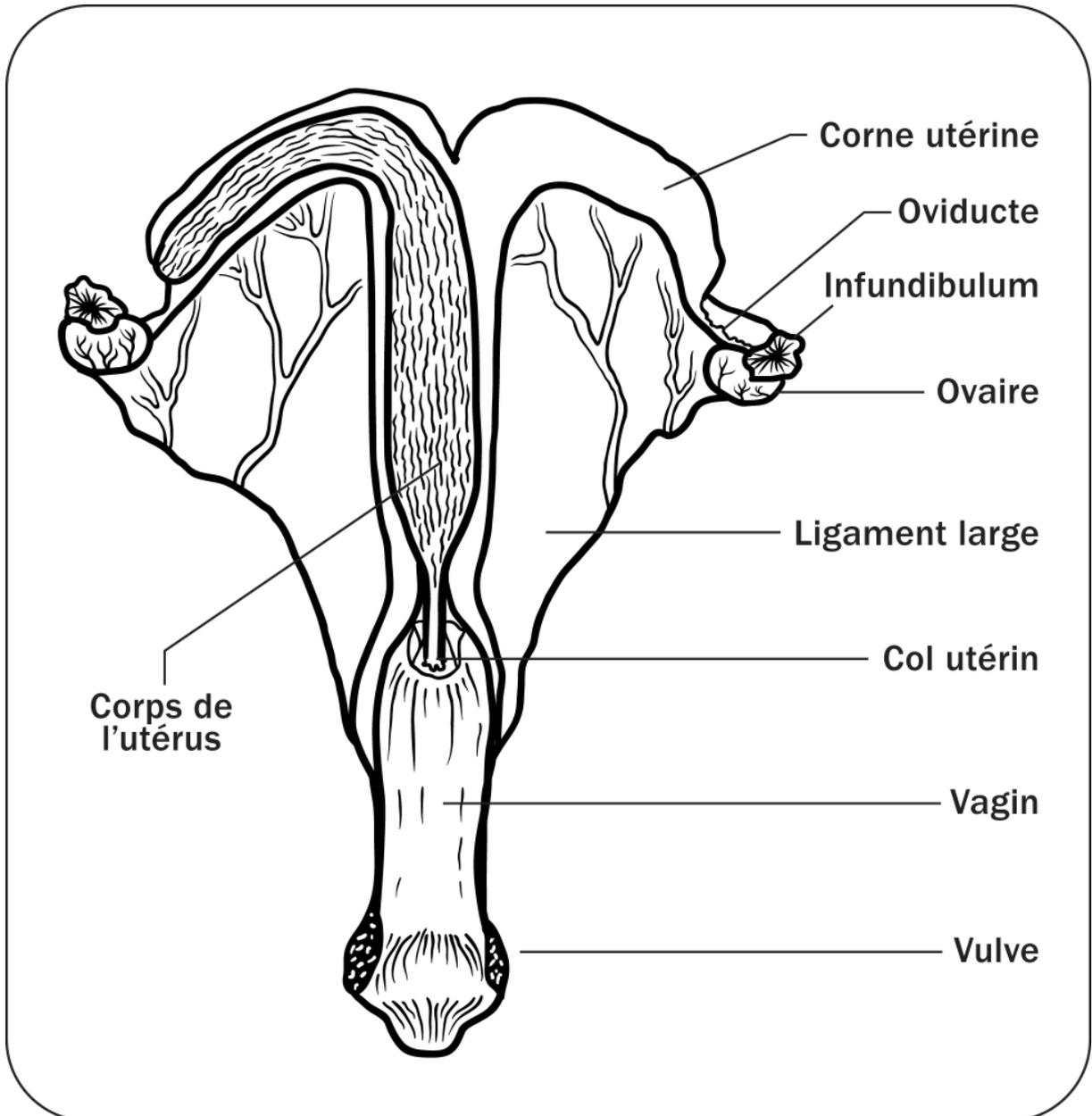


Figure 2 Vue frontale de l'appareil génital de la jument

L'insémination artificielle chez la jument

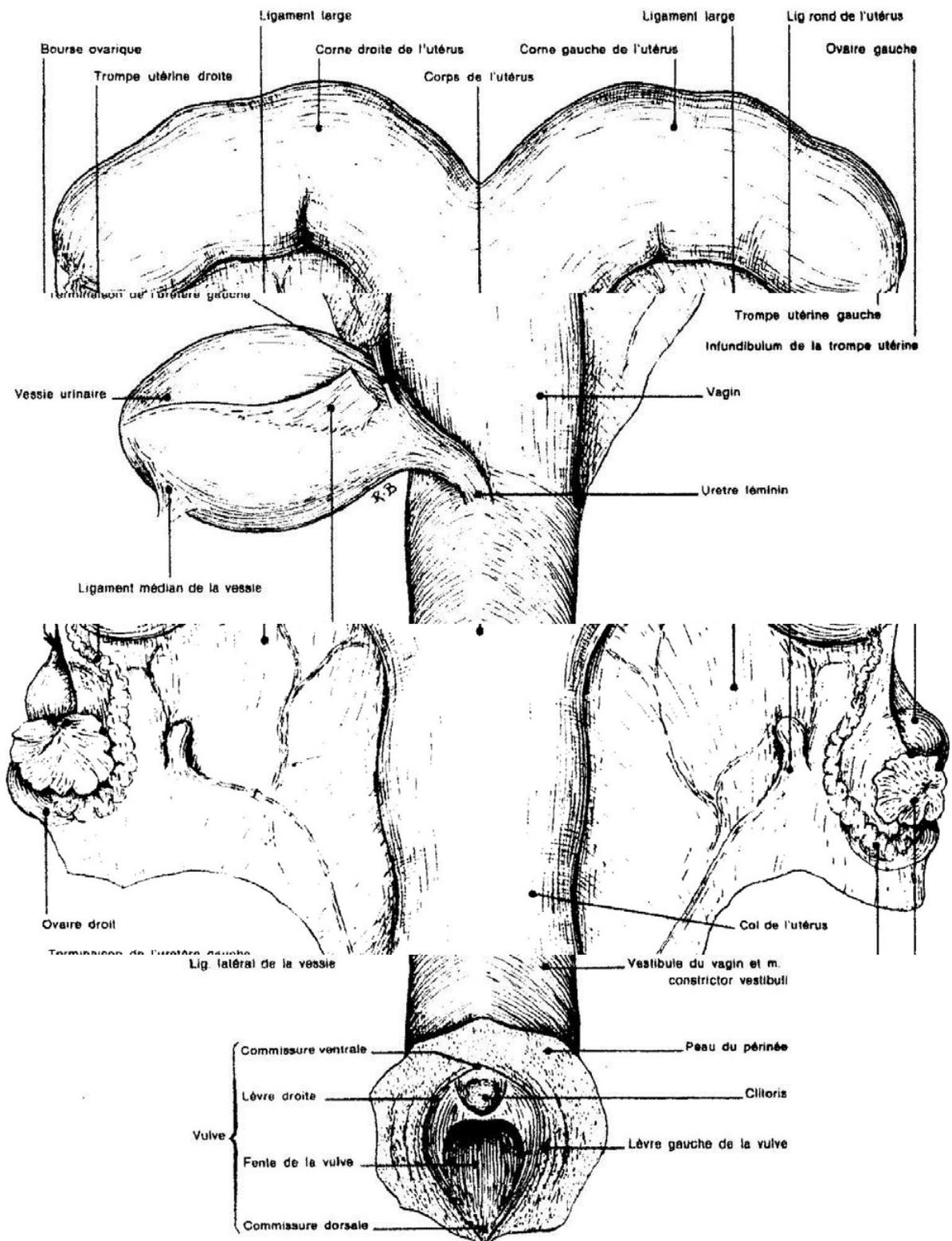


Figure Appareil génital de jument : vue ventrale après isolement et étalement

- V- Variations physiologiques au cours du cycle

1 . Manifestations comportementales :

Ces manifestations sont très variables d'une jument à l'autre, et peuvent passer totalement inaperçues en l'absence d'un étalon souffleur ou d'un bout-en-train. En pratique, ces signes peuvent s'observer en présence d'un mâle entier, d'un hongre ou d'une autre jument parfois. Une jument en chaleurs va adopter un comportement caractéristique :

- position campée, dos voussé
- queue relevée
- vulve oedématiée, plus longue, qui « clignote » (contractions rythmiques de la région clitoridienne)
- émission de jets d'urine fréquemment et en petites quantités, ainsi que de sécrétions oestrales visqueuses et odoriférantes
- marche avec des postérieurs anormalement écartés

Souvent, les juments suitées ou craintives sont faussement négatives. Pour faciliter la tâche, un mâle vasectomisé ou une femelle androgénisée peuvent être introduits dans le troupeau (méthode peu employée aujourd'hui). La pratique la plus courante est de faire passer la jument « à la barre » : on la fait entrer dans la barre et l'on amène un étalon dit « souffleur », ce qui exacerbe les signes d'oestrus chez la jument. Cependant, plusieurs auteurs signalent que certaines juments présentaient des chaleurs silencieuses, ou se défendaient au passage à la barre pendant toute la saison de reproduction : oreilles couchées, coups de pieds et couinements envers le mâle, queue plaquée entre les cuisses. L'incidence de ces chaleurs a été évaluée à 6% environ. A l'inverse, il arrive que des juments acceptent le chevauchement même lorsqu'elles ne sont pas en chaleurs. De même, pendant la transition vernale, bien qu'il n'y ait pas d'ovulation, un comportement d'oestrus est observable : les juments ne refusent pas franchement le mâle et acceptent parfois l'accouplement sur de très courtes périodes.

En dehors de la période d'oestrus, les juments montreront théoriquement à la barre les signes d'hostilité envers l'étalon précédemment décrits, mais de manière non systématique. A l'état de repos, la vulve est sèche, ferme, et les lèvres vulvaires sont correctement coaptées.

Enfin, pendant la période d'anoestrus saisonnier, il y a refus de l'accouplement, et les lèvres de la vulve sont très pâles, minces et tendues. A noter que certaines juments présentent encore des ovulations en hiver.

Toutes ces modifications de comportement sont cependant théoriques, comme le montrent les phénomènes de fausses chaleurs ou au contraire de chaleurs non exprimées. De plus, les contraintes actuelles dans la plupart des haras ne laissent pas le temps pour une observation régulière et minutieuse des juments. C'est pourquoi l'échographie est aujourd'hui pratiquée en routine pour le suivi des cycles, apportant des informations nombreuses et précises. Elle est toujours précédée d'une palpation transrectale, afin de repérer les ovaires et d'observer les réactions de la jument, surtout si elle n'a jamais été fouillée. L'examen au spéculum peut être utilisé en complément, ou en cas de suspicion d'affection du vagin ou du col.

2. Modifications anatomiques du tractus génital :

2.1. Examen au spéculum :

2.1.1. Œstrus :

La vulve est relâchée et congestionnée pendant les chaleurs. Des écoulements translucides et visqueux (glaires) ou une coloration jaunâtre sont parfois visibles au niveau de sa commissure ventrale, de manière non systématique.

Le vagin présente à l'examen des parois hyperhémiques et humides. Les sécrétions présentes naturellement sont plus filantes qu'en dioestrus, et restent souvent collées au gant. Le col est ptôsé : il est flasque, aplati, et semble « tomber » sur le plancher du vagin. Ceci est lié à la présence d'un oedème important. De ce fait, l'ouverture vaginale du col est réduite à une fente horizontale. La couleur de la muqueuse cervicale est variable, du blanc

L'insémination artificielle chez la jument

pâle au rouge foncé, mais de façon non uniforme, ce qui lui donne un aspect strié. Cet aspect est souvent comparé à celui d'une rose flétrie.

Juste avant l'ovulation, le col peut atteindre 3 à 4 fois son volume au repos et devient très sensible : il se contracte lors de la palpation. Il est cependant possible de le dilater manuellement à l'aide d'un, deux puis trois doigts au fur et à mesure que l'œstrus s'installe.

2.1.2. Dioestrus :

La pénétration du spéculum est plus difficile, la muqueuse vaginale étant beaucoup plus sèche et l'étanchéité des lèvres vulvaires plus marquée. Les sécrétions sont peu nombreuses mais très visqueuses, ce qui induit l'adhésion des parois du vagin entre elles. Celles-ci sont pâles et ternes, avec une coloration qui va du blanc jaunâtre au gris.

Le col de l'utérus est également grisâtre ; il est saillant, tonique, et présente une ouverture vaginale centrée et resserrée. On parle de col « fermé ». Au maximum, un doigt peut y être introduit. Cet aspect cervical caractéristique est communément appelé « en bouton de rose ».

2.1.3. Période de transition :

L'aspect du vagin dépend beaucoup du fonctionnement ovarien : il est pâle et sec à la sortie de l'anoestrus, puis rosé et légèrement humide en s'approchant de l'oestrus. Le col apparaît souvent bas, comme en début d'oestrus.

Ainsi l'inspection visuelle au spéculum apporte de nombreuses informations quant au stade cyclique de la jument. Cependant, il ne permet pas de faire la différence entre la fin du dioestrus et le début d'un nouvel oestrus. En pratique, on ne réalise pas cet examen très fréquemment : l'examen échographique est maintenant effectué en routine, généralement précédé par une palpation transrectale.

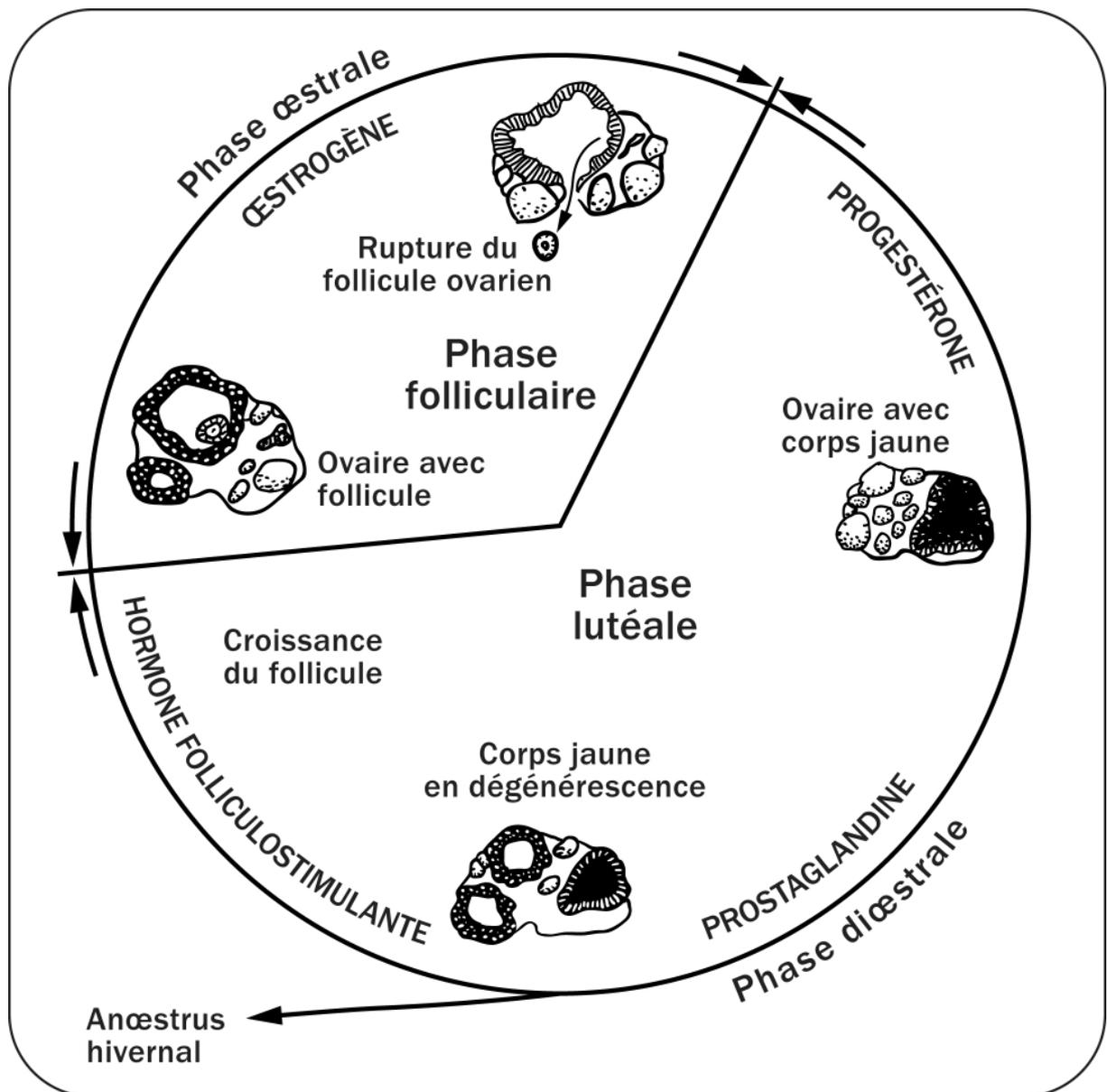
3. Palpation transrectale :

A la palpation, on peut sentir des variations au niveau de l'utérus et de son col

notamment ; la taille des ovaires peut apporter une information supplémentaire.

4. Utérus :

Figure 4 : Utérus



5. Cycle de l'oestrus.

5.1. Oestrus :

Pendant l'oestrus, le col est mou et flasque, plus court et large qu'en dioestrus. Chez quelques juments, la partie crâniale est relâchée tandis que la partie caudale est plus tonique.

Le corps de l'utérus est plus épais, plus lourd et de consistance « pâteuse » ; il est flasque et ne présente qu'un faible degré de tonicité. L'endomètre paraît également mou et turgescent, ses plis sont développés et oedématiés.

5.2. Dioestrus :

Le col utérin est tubuleux et tonique ; il mesure environ 8 cm de long pour 1 cm de large, il est plus long et plus étroit que pendant l'oestrus. L'utérus a également une taille plus réduite, de consistance plus ferme. Il n'est plus oedématié, et il est plus tonique.

5.3. Anoestrus saisonnier et période de transition :

Le col utérin est souple et difficile à repérer. La paroi de l'utérus est fine et molle. Les juments qui possèdent une activité ovarienne résiduelle très faible voire nulle ont un utérus flasque. Au contraire, celles chez qui persiste une certaine activité ovarienne ont un utérus plus tonique.

6. Ovaires :

A chaque phase du cycle oestral correspond une phase d'activité ovarienne : pendant l'oestrus, c'est la phase folliculaire, et pendant le dioestrus, c'est la phase lutéale. La première correspond au développement brutal, puis à la croissance et à la maturation du follicule pré-ovulatoire jusqu'à l'ovulation. La deuxième est l'installation du corps jaune, sécrétant la progestérone, puis sa régression.

Cependant, ces deux phases ne sont pas très distinctes : la particularité de la jument est que le comportement d'oestrus persiste 24 à 48h après l'ovulation. Le premier jour de refus d'accouplement correspond donc souvent au deuxième jour de dioestrus J2.

En préalable à l'examen échographique, une palpation transrectale des ovaires est souvent effectuée: ceux-ci sont aisément accessibles par voie transrectale, sous les lombes, 5 à 10 cm en avant de la portion inférieure de l'ilium, en forme de haricots.

6.1. Oestrus :

En début d'oestrus, les follicules mesurant 20 à 30 mm de diamètre sont repérables sous la forme de petites bosses à la surface de l'ovaire. Leur croissance a débuté lors du cycle précédent, pendant la phase lutéale, sous l'action des gonadotrophines (10 à 15 jours avant l'ovulation). La majorité subit une atresie, tandis qu'un petit nombre entre dans une deuxième phase de croissance folliculaire. Ainsi, 6 à 7 jours avant l'ovulation, un ou deux follicules, souvent les plus volumineux, continuent leur croissance pour atteindre 30 à 50 mm : c'est la poussée folliculaire. Un seul parvient généralement au stade de follicule de De Graaf ou pré-ovulatoire. A l'approche de l'ovulation, un ramollissement associé à une sensibilité de plus en plus marquée des ovaires à la palpation sont des signes évocateurs. Pour un opérateur expérimenté, les palpations transrectales répétées des ovaires peuvent donc suffire à détecter l'ovulation.

Cependant, l'échographie est aujourd'hui utilisée en routine, et apporte une plus grande précision.

La plupart du temps, l'ovulation est en fait constatée a posteriori par la disparition du follicule pré-ovulatoire . Il arrive également que le follicule mûr se vide sous la pression des doigts ; ceci n'affecte en rien la fertilité. Lors de l'ovulation, l'ovocyte et son liquide folliculaire sont expulsés et collectés par la fimbria infundibulaire qui coiffe la fosse d'ovulation. La paroi folliculaire se collabe, et l'on peut alors palper une zone en dépression à la surface de l'ovaire. Puis elle se remplit de sang en moins de 12h pour former un corps hémorragique (CH), qui mesure 80% de la taille du follicule pré-ovulatoire, voire la même taille, et est de même consistance [8]. A ce stade, seul un examen échographique permet de les différencier. Le corps hémorragique subit une lutéinisation progressive jusqu'à formation du corps jaune dont la présence correspond à la fin de l'oestrus. Progressivement la taille du corps hémorragique diminue et il devient plus dur : c'est la phase anabolique du corps jaune (ou metoestrus).

6.2. Metoestrus :

Le processus de maturation du CH en CJ dure 3 à 4 jours et comprend les étapes suivantes :

- rétrécissement du caillot central
- envahissement rapide par les cellules périphériques de la thèque, qui évoluent en cellules lutéales, sécrétrices de progestérone
- condensation du stroma ovarien, à l'origine d'une diminution de taille du CJ . Le CJ n'est habituellement repérable par palpation que 4 à 5 jours après l'ovulation, sous la forme d'un élargissement à un pôle de l'ovaire, avec une consistance caractéristique rappelant celle d'une balle de caoutchouc. En moyenne, chaque CJ représente 89% du volume du follicule qui l'a précédé.

Le tissu lutéal se maintient pendant une dizaine de jours puis régresse en l'absence de fécondation : c'est la phase catabolique du corps jaune (dioestrus au sens strict), qui débute 6 à 12 jours après l'ovulation.

6.3. Dioestrus :

Dans la deuxième moitié du dioestrus, il est possible de sentir quelques follicules issus d'une deuxième vague de croissance. Ceux-ci n'ovulent que très rarement. La fin du dioestrus est marquée par la lyse du CJ, sous l'action des prostaglandines sécrétées par l'utérus non gravide. L'oestrus suivant démarre alors rapidement : 24 à 48h après, soit 1,1+/-1,3 jours après la lutéolyse. La palpation des ovaires ne permet pas de différencier la fin du dioestrus du début de l'oestrus suivant ; il faut pour cela utiliser un échographe.

6.4. Anoestrus :

Les ovaires sont petits et durs en anoestrus. Ils peuvent présenter quelques follicules mais pas de CJ.

6.5.Période de transition :

Les ovaires se ramollissent, les follicules grossissent jusqu'à 30 à 50 mm puis régressent. Cependant, il n'y a pas d'ovulation donc jamais de CJ palpables.

La seule palpation transrectale des ovaires, par un opérateur expérimenté, peut donc suffire à prévoir et détecter le moment de l'ovulation. Cependant, la précision temporelle (détection à 24h près) peut et doit parfois être améliorée, par exemple dans le cadre d'inséminations artificielles en sperme congelé, ou de transfert d'embryons.

L'échographie est ainsi utilisée en routine en gynécologie équine aujourd'hui, et permet notamment d'effectuer des mesures précises des diamètres folliculaires.

7. Examen échographique :

7.1. Echographie de l'utérus :

L'utérus, les cornes et les ovaires peuvent s'observer à l'aide d'une sonde de 5 MHz ou 7,5 MHz introduite dans le rectum. En pratique, la sonde est maintenue dans le creux de sa main avant introduction de l'ensemble dans le rectum. L'utérus est médial, et apparaît d'abord en coupe longitudinale. Il se dessine ensuite, au fil de la progression dans le rectum, une image circulaire qui correspond à la section transversale de l'utérus, au niveau de la bifurcation des cornes. On peut suivre chacune d'elles en coupe transversale en continuant à avancer, en se déplaçant d'un côté puis de l'autre avec une sonde légèrement inclinée, jusqu'à l'ovaire correspondant.

7.1.1. Œstrus :

En œstrus, l'aspect de l'utérus à l'échographie est caractéristique : il y a d'abondantes sécrétions liminales, l'endomètre est oedématié, et ses plis sont nettement visibles. On a donc sur l'image des régions hyper- et hypoéchogènes étroitement imbriquées. La cavité utérine apparaît sombre et infiltrée, de par la présence d'un oedème sous-muqueux et de sécrétions glandulaires abondantes. Les cornes, en coupe transversale, sont de section circulaire avec dans la lumière une image en forme de « quartier d'orange » ou de « roue de charrette » : le centre est anéchogène et un peu étoilé, entouré de circonvolutions radiales plus échogènes. L'oedème et la quantité de fluide luminal augmentent au fur et à mesure que les follicules grossissent, et commencent à diminuer la veille du jour de l'ovulation en général. L'image est la plus caractéristique 6 à 7 jours avant l'ovulation, et s'estompe 1 à 2 jours après pour donner l'image d'interoestrus caractéristique d'une imprégnation progestéronique. Cependant, ce n'est pas toujours le cas.

7.2.1. Dioestrus :

L'utérus paraît plus petit que pendant l'oestrus. L'endomètre présente une échogénicité homogène du fait de l'absence d'oedème. La cavité luminale, virtuelle, peut parfois prendre la forme d'une fine ligne blanche en coupe longitudinale, ou d'un spot hyperéchogène en coupe transversale ; ces images sont dues au phénomène artéfactuel d'échos spéculaires. C'est à ce stade que le col utérin est le plus visible sous la forme d'une image hyperéchogène.

La présence de fluide luminal est par contre pathologique lors du dioestrus. La quantité de liquide peut être gradée, et la présence de liquide clair, même en petite quantité, au-delà de 24 à 48 heures après l'ovulation, traduit l'existence d'une endométrite ou d'un défaut de clearance utérine, ou les deux.

7.2.3. Anoestrus saisonnier :

L'insémination artificielle chez la jument

L'utérus est peu volumineux et son échogénicité est moyenne, homogène. Les cornes sont peu volumineuses et non infiltrées. Il n'est parfois pas facile de distinguer l'appareil génital

des autres viscères, et les cornes peuvent apparaître un peu déformées par la pression des organes voisins.

7.2.4. Période de transition :

L'utérus est souvent oedématié et un liquide intraluminal anéchogène est parfois visible. Ainsi, l'observation du comportement de la jument, au pré avec ses congénères ou lors d'une stimulation à la barre peut suffire à détecter des chaleurs. Néanmoins, l'échographie et la palpation transrectale sont aujourd'hui utilisées en routine, soit chez les juments modifiant peu leur comportement, soit pour obtenir plus de précisions sur le stade du cycle et notamment déterminer le moment de l'ovulation. Il faut pour cela poursuivre l'examen de l'appareil génital jusqu'aux ovaires.

8. Echographie des ovaires :

Le suivi de la croissance folliculaire est indispensable pour prévoir et diagnostiquer l'ovulation. En effet, l'oestrus de la jument est particulièrement long, et l'ovulation peut survenir à des moments très variables du cycle. Le suivi échographique des ovaires devient en outre obligatoire lors de recours à l'insémination artificielle en sperme congelé, où le dépôt de la semence doit avoir lieu dans les 24h précédant l'ovulation, et lors de transfert d'embryons (synchronisation donneuse receveuse).

8.1. Oestrus ou phase folliculaire :

L'insémination artificielle chez la jument

Une sonde linéaire de 7,5 MHz est utilisée, ou une sonde de 5 MHz, moins onéreuse et donnant également de bons résultats : leur résolution axiale est de 0,8 mm et la profondeur d'exploration de 12 cm (contre 0,6 mm et 6 cm pour celles de 7,5 MHz).

En pratique, après un éventuel examen du tractus génital, on suit l'image d'une corne jusqu'à tomber sur celle de l'ovaire correspondant. Il faut pour cela, lorsqu'on atteint l'extrémité de la corne, déplacer légèrement la sonde vers l'avant en l'inclinant latéralement vers le haut de la corne ; l'ovaire est distant de 0 à 5 cm de l'extrémité de la corne. Il faut alors multiplier les incidences, balayer tout l'ovaire, afin d'apprécier correctement le nombre et la taille des organites qu'il contient. Il est cependant difficile, du fait de la mobilité de l'ovaire, de savoir quelle face on examine.

A l'échographie, les follicules ovariens apparaissent sous la forme d'image anéchogènes (noires à l'écran), aux limites régulières, avec une paroi bien visible du fait de la réflexion spéculaire des ultrasons. Avec une sonde de 5 MHz, on détecte les follicules cavitaires de plus de 2-3 mm de diamètre, et ceux de plus de 5 mm sont très nets. Chez la jument cyclée, en début d'oestrus, il est parfois possible d'identifier le follicule qui ovulera (il fait alors 20 mm de diamètre minimum). Néanmoins, il y a souvent plusieurs follicules de grande taille en début de chaleurs, qui subissent tour à tour le phénomène d'atrésie.

Avant l'ovulation, la croissance des follicules est régulière, d'environ 3 mm de diamètre par jour ; on constate souvent un épaississement de paroi associé. Le stroma ovarien est un tissu dense et apparaît très brillant, tandis que la paroi folliculaire, peu dense et bien vascularisée, est plus échogène. Cette paroi voit son épaisseur augmenter parallèlement à la croissance folliculaire.

En outre, très fréquemment, dans 85% des cas le follicule pré-ovulatoire perd sa forme sphérique pour devenir ovoïde, souvent en forme de poire pendant les quelques jours qui précèdent l'ovulation . Attention cependant à ne pas confondre ce phénomène avec la déformation que provoque la pression des follicules les uns sur les autres au sein d'un même ovaire.

A noter que l'on peut également observer parfois la présence de corp(s) jaune(s). Ainsi, les trois critères précédemment cités (augmentation de taille du follicule et d'épaisseur de sa paroi, modification de forme) permettent de prévoir l'imminence de l'ovulation. Cependant, épaississement de la paroi et déformation sont des critères indicatifs et non systématiques. La taille est le meilleur paramètre : on considère le follicule comme

L'insémination artificielle chez la jument

ovulatoire à partir de 35 mm de diamètre. Cela dit, l'ovulation peut se produire avec des follicules de 35 à 60 mm de diamètre. La disparition du follicule dominant anéchogène marque l'expulsion du liquide folliculaire. La paroi devient alors irrégulière et le follicule vidé est très difficile à repérer à l'échographie, sauf s'il contient un peu de liquide résiduel ; il est rarissime d'assister à une ovulation « en direct ». La formation du corps hémorragique est facilement détectable grâce

au remplissage de la cavité par du liquide : l'ensemble est anéchogène avec un point blanc central correspondant au caillot. La lutéinisation progressive en corps jaune marque le début du dioestrus.

8.2. Dioestrus ou phase lutéale :

C'est la phase de maturation, d'activité et de lyse du corps jaune. Chez la jument non gestante, la durée de vie de celui-ci est de 14 jours en moyenne. Cette durée peut être raccourcie, dans certaines conditions sub-physiologiques ou pathologiques : une lutéolyse précoce peut avoir lieu suite à la libération de prostaglandines $PGF2\alpha$, endogènes (lors d'endométrite) ou exogènes. A l'inverse, le corps jaune peut persister anormalement longtemps, jusqu'à 3 mois (83 ± 23 jours) en l'absence de gestation : on parle alors de dioestrus prolongé.

L'aspect d'un corps jaune est caractéristique à l'échographie, ce qui permet de le différencier d'un corps hémorragique, échogène, et d'un follicule, hypoéchogène. Souvent de forme triangulaire, il pointe vers la fosse d'ovulation. Le corps jaune peut avoir deux aspects échographiques selon la structure principale qui le constitue :

- une image anéchogène avec quelques spots brillants (échos créés par la fibrine)

et en périphérie une zone plus échogène qui est le tissu lutéal : similaire à celle du corps hémorragique, avec persistance d'une cavité centrale

- une image de tissu lutéal uniforme, très échogène, sans caillot central

Cette constitution semble se mettre en place au hasard et n'a pas d'influence sur la sécrétion progestéronique ou le devenir d'une éventuelle gestation.

L'évolution de l'image échographique du CJ tout au long de sa vie sera variable : soit toujours homogène, soit avec un caillot ou une cavité centrale qui au fil des jours va

L'insémination artificielle chez la jument

rétrécir, durcir, et devenir de plus en plus échogène. Environ 67% des CJ passent par un stade cavitaire, les 33% restants présentant une structure échogène homogène durant toute la durée de leur vie. L'observation de corps jaunes est facile en début et en fin de phase lutéale ; entre deux, leur visualisation par rapport au stroma est difficile voire impossible, sauf s'il y a des follicules à proximité. Souvent, des follicules sont présents en nombre et taille variables; quelques-uns participeront à la première vague folliculaire qui aura lieu au cours du cycle suivant, tandis que la majorité s'atrophie.

VI- Suivi des juments

Les cycles oestriques utilisés étaient des cycles naturels spontanés. L'IA devant être exécutée avant l'ovulation, un suivi gynécologique des ponettes a été réalisé par palpation et échographie transrectales régulières puis quotidiennes dès qu'un follicule avait atteint un diamètre de 28mm.

L'ovulation a été induite lorsqu'un follicule avait atteint 33mm de diamètre, par une injection intraveineuse de 15 mg de CEG (Crude Extract Gonadotrophine = extraits hypophysaires équinés à effet LH) réalisée à 15h00. Ce traitement induit l'ovulation dans les 36 heures dans 80% des cas [Duchamp et al., 1987].

De plus, des signes de chaleur devaient être présents :

- utérus mou à la palpation transrectale
- utérus hétérogène (aspect en roue de charrette ou en quartier d'orange) à l'échographie,
- éventuellement un col ouvert à la palpation transrectale (ou vaginale en cas de doute).

L'ovulation était contrôlée environ 18 heures après IA. Si elle n'avait pas eu lieu, le cycle était sorti du protocole, mais le suivi de la ponette continuait. Si elle ovulait dans les 48 heures

et que la fécondation avait lieu, la ponette était éventuellement conservée pleine pour le renouvellement du troupeau.

1.Synchronisation

L'insémination artificielle chez la jument

Le principe de la synchronisation des chaleurs consiste à réaliser un traitement hormonal afin de programmer simultanément des saillies ou inséminations, des diagnostics de gestation voire un transfert d'embryon pour un groupe de juments. La synchronisation permet d'optimiser le déplacement des juments ou de l'inséminateur et des traitements vétérinaires qui seront groupés.

1.1.Principe

Les inséminations des juments sont réalisées à dates prédéterminées suite à des traitements de synchronisation des chaleurs (8 jours de progestagènes + prostaglandine (PG) le dernier jour de traitement); la détection des chaleurs et le suivi gynécologique pendant la chaleur peuvent être supprimés.

1.2.Définitions

Vague : correspond à la période des inséminations sur le groupe de juments (2 ou plus) .

Avant la vague, **un traitement de synchronisation** associe plusieurs effets :

- * **l'inhibition de la croissance folliculaire** (8 jours de progestagènes),
- **la levée** de cette inhibition par arrêt du traitement progestagènes et l'injection de prostaglandine qui détruit le corps jaune chez les juments en phase lutéale, puis une élévation du taux de LH par induction de l'ovulation (injection d'hCG) au moment où un follicule pré ovulatoire est présent.

1.3.Organisation



Un programme peut être remis à l'éleveur avec les dates de traitement, d'inséminations et de diagnostic de gestation du groupe de juments. Les juments vides et les juments suitées peuvent intégrées un même programme de synchronisation (voir plus loin, ci-dessous). L'éleveur doit alors s'organiser avec son vétérinaire qui prescrira et réalisera les traitements hormonaux ainsi que le diagnostic de gestation. Dans la mise en œuvre du traitement de synchronisation, **une bonne entente entre l'éleveur et son vétérinaire est nécessaire**, afin d'escompter des résultats optimum.

Les ordonnances doivent être consignées dans le registre d'élevage.

1.4.Produits utilisés

Les 3 traitements sont prescrits par le vétérinaire :

- Les progestagènes inhibant la croissance folliculaire :
Le REGUMATE ® EQUINE est commercialisé depuis mars 2005. La réglementation impose d'utiliser sur l'espèce équine le produit vétérinaire ayant une AMM (Autorisation de Mise sur le Marché) Equin.
- Les Prostaglandines induisant la destruction du corps jaune : plusieurs produits analogues de synthèse de la prostaglandine PGF2 α existent sur le marché.

L'insémination artificielle chez la jument

- La gonadotrophine chorionique humaine hCG qui induit l'ovulation : le CHORULON. D'autres matières actives peuvent être utilisées pour induire l'ovulation.

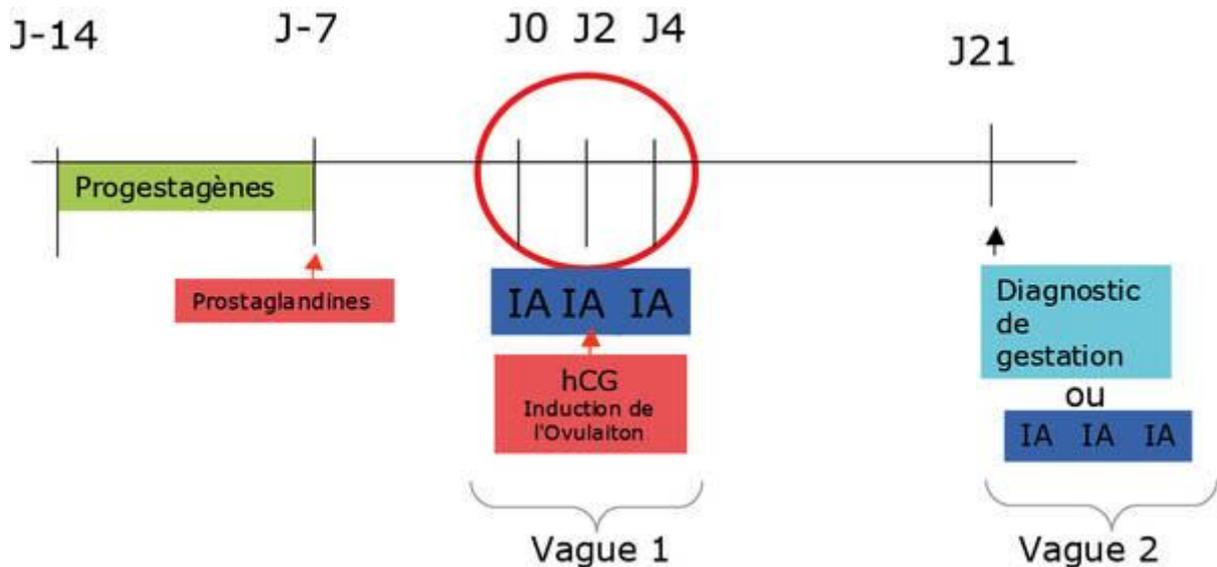
1.5. Utilisation des hormones dans la synchronisation des chaleurs

| | Progestagène | Prostaglandine | hCG |
|---|--|--|---|
| Nom déposé | REGUMATE® Equin 2,2 mg/ml 1 ml pour 50 kg soit, par jour | Exemple du PROSOLVIN | CHORULON |
| Dose journalière | 5 ml pour une ponette de 250 kg 10 ml pour une jument de 500 kg 15 ml pour une jument de 750 kg 18 ml pour une jument de 900 kg Voie orale | Moins de 300 kg : 0,5ml >300 kg et + : 1 ml | < 500 kg : 1.000 UI >500Kg et + : 1 500 UI |
| Voie d'administration | (dans la ration ou sur un morceau de pain) | Injection Intramusculaire | Injection Intraveineuse |
| Durée du traitement | 8 jours | 1 injection | 1 injection / cycle |
| Délai d'attente | 21 jours | 1 jour | 0 jour |
| Quantité moyenne à prévoir par jument et par saison | 150 ml de REGUMATE® Equin existe en bouteille | 1,2 injection | 1,6 injection |

. Tableau 1

2. Synchronisation du 1er cycle

Tableau 2 : Principe de la synchronisation des chaleurs



La technique de synchronisation n'est efficace que sur des juments cyclées. Ainsi le début du traitement peut être réalisé lorsque l'on est assuré de la sortie de l'inactivité ovarienne des juments (examen vétérinaire ou dosage hormonal de progestérone en début de saison).

A partir du mois de mai, le traitement doit être décalé de 1 ou 2 jours afin de raccourcir l'intervalle fin de traitement – 1ère insémination. La durée du traitement est toujours de 8 jours.

3. Gestion des cycles retour

Le diagnostic de gestation est réalisé par échographie à J21 qui peut correspondre éventuellement au 1er jour d'insémination de la vague suivante 2 si la jument ou les juments ne sont pas gestantes.

| | | |
|--|--|---|
| Si le diagnostic de gestation est négatif et le col de l'utérus est ouvert | Si le diagnostic de gestation est négatif et le col de l'utérus est fermé | Si le diagnostic de gestation est positif |
| - insémination les jours J21, J23 et J25 sur la vague 2 (avec hCG le jour J23) | - pas d'insémination sur la vague 2 - traitement complet (8 jours de progestagènes et prostaglandine) sur la vague 2 - insémination sur la vague 3 | - confirmation de la gestation 21 jours plus tard |

3.1. Gestion des juments suitées dans les programmes de synchronisation

Les juments qui poulinent en cours de saison peuvent être intégrées dans un programme de synchronisation à dates fixes. Les juments après poulinage seront introduites dans la vague avec ou sans traitement de progestagènes selon l'intervalle entre la date du poulinage et la date de la première IA prévue. Les poulinières devront être examinées par le vétérinaire pour diagnostiquer l'état d'involution utérine. Il décidera pour chaque jument suitée du traitement et du jour d'intégration dans la vague de synchronisation.

L'insémination artificielle chez la jument

3.1.1. Tableau 3 .Exemple de calendrier

| MARS | regumate | Prostaglandine | MAI | Insemination | hCG | JUILLET | Echo (CG) |
|------|----------|----------------|-----|--------------|---------|---------|-----------|
| D1 | | | V1 | IA | | M1 | IA + hCG |
| L2 | | | S2 | | | J2 | |
| M3 | | | D3 | | | V3 | IA |
| M4 | | | L4 | | | M4 | |
| J5 | | | M5 | | Prosta | D5 | |
| V6 | | | M6 | | | L6 | |
| S7 | | | J7 | | | M7 | |
| D8 | | | V8 | | | D8 | |
| L9 | Prosta | | S9 | | IA + CG | J9 | |
| M10 | | | D10 | | | M10 | |
| M11 | | | L11 | | | V11 | IA + hCG |
| J12 | | | M12 | | | D12 | |
| V13 | | | S13 | Prosta | | L13 | |
| S14 | | | J14 | | | M14 | |
| D15 | | | V15 | | | D15 | |
| L16 | IA | | M16 | | | J16 | |
| M17 | | | D17 | | | V17 | |
| M18 | IA + hCG | | L18 | IA + CG | | S18 | |
| J19 | | | M19 | | | D19 | |
| V20 | IA | | S20 | IA + hCG | | L20 | CG |
| S21 | | | J21 | | | M21 | |
| D22 | | | V22 | IA | | D22 | |
| L23 | | | S23 | | | J23 | |
| M24 | | | D24 | | | V24 | |
| M25 | | | L25 | | | M25 | Prosta |
| J26 | | | M26 | | | D26 | |
| V27 | | | J27 | | | L27 | |
| S28 | | | V28 | | | M28 | |
| D29 | | | S29 | | | D29 | |
| L30 | Prosta | | M30 | | IA + CG | J30 | |
| M31 | | | D31 | | | V31 | |

3.1.2.Cas particulier des juments suitées : 3 solutions

si poulinage 10 à 14 jours avant l'IA programmée, la jument reçoit des progestagènes tous les jours du soir du poulinage jusqu'à la fin du traitement prévue par le calendrier. Pas de prostaglandine. Elle est inséminée sur la vague. Si poulinage 7, 8 ou 9 jours avant l'IA programmée, pas de traitement, la jument est inséminée sur la vague.

Si poulinage 6 jours au moins avant l'IA programmée, la jument est traitée et inséminée sur la vague suivante.

4. Traitement de synchronisation dans le cadre du transfert d'embryon

Dans le cadre du transfert d'embryon frais, la donneuse d'embryon et la (ou) les receveuse(s) doivent être synchrones, afin de transférer d'une jument à l'autre l'embryon sans changer d'environnement utérin. Ainsi l'embryon collecté vers le jour J6, J7 ou J8 (après l'ovulation de la donneuse) devra être implanté dans une receveuse au même stade du cycle(en phase lutéale).

5. Degré de synchronisation entre le stade physiologique de la Donneuse et de la Receveuse dans le cadre d'un transfert d'embryon frais :

| | Stade physiologique de la DONNEUSE | Stade physiologique de la RECEVEUSE | Taux de réussite du transfert |
|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|
| Jour de la récolte et du transfert | J6 ou J7 ou J8 | J3 ou J4 | < 40% |
| | | J5 ou J6 ou J7 | > 50% |
| | Après l'ovulation | J8 ou J9 | < 40% |

5.1. Exemple de synchronisation des ovulations de la donneuse et de receveuses dans le cadre du transfert d'embryon en frais :

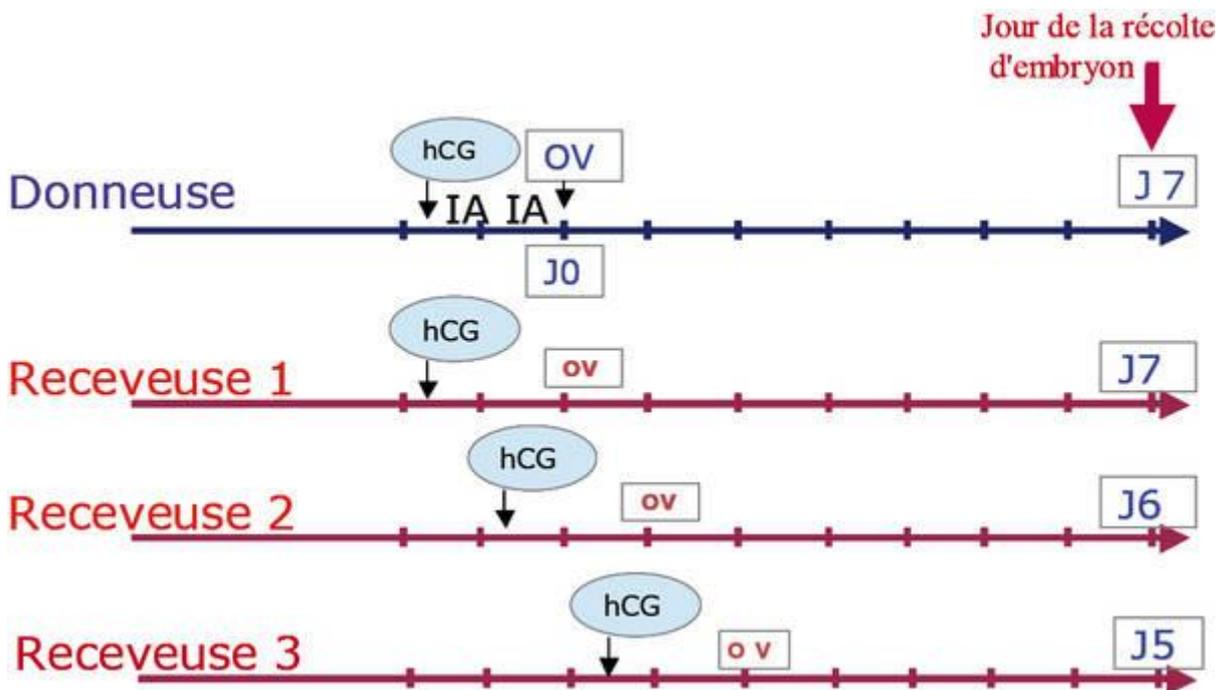


Tableau 4 .

Un troupeau de receveuses est le plus souvent utilisé dans le cadre du transfert d'embryon frais afin de choisir une receveuse ou plusieurs qui sera la plus synchronisée de la donneuse. Si le troupeau de receveuses est assez important (plus de 20 juments), il est possible d'avoir le choix entre plusieurs stades physiologiques de receveuses. La synchronisation des ovulations sera pratiquée sans utiliser de traitement progestagènes. Dans ce cas, le suivi échographique de la donneuse et des receveuses est pratiqué tous les jours. Lorsque l'on s'approche de l'ovulation de la donneuse, on pourra induire l'ovulation de receveuses le jour même de l'induction de la donneuse (Receveuse 1), le lendemain (Receveuse 2) ou le surlendemain

(receveuse 3). Toute jument est induite lorsqu'elle présente un folliculaire en croissance de plus de 35 mm, un utérus infiltré et des signes de chaleurs.

6 - Insémination

Avant chaque IA, la mobilité du sperme était contrôlée grâce à l'analyseur de mobilité IVOS (cf. §2.3.3.) afin d'éviter d'inséminer des ponettes avec de la semence ayant une mobilité nulle.

Par ponette, une seule IA était réalisée à 11h00, le lendemain de l'induction au CEG, afin d'avoir un intervalle IA-OV de 17 heures environ.

Les doses étaient sorties des boîtes de transport pour être placées dans une boîte polystyrène à température ambiante et transportées jusqu'au lieu d'insémination, situé à 100m du laboratoire.

Après lavage de la vulve, une insémination simple dans le corps de l'utérus, près du col, était effectuée à l'aide d'un cathéter standard IMV, stocké à température ambiante.

-VII- La technique d'insémination artificielle

1.L'insémination artificielle se décline selon 3 variantes

a-- insémination en sperme frais (IAF):

sur place avec des étalons en dépôt dans nos installations pour la saison de monte.

-b- insémination en sperme réfrigéré (IAR):

Réalisée sur place avec de la semence d'étalons récoltée et conditionnée à la demande dans un autre centre puis expédiée en express vers nos installations.

-c- insémination en sperme congelé (IAC):

Réalisée sur place avec de la semence congelée que nous aurons reçu avant l'arrivée de votre jument dans nos installations.

2. Technique

Les inséminations en sperme congelé sont réalisées entre 24 et 48 heures d'intervalle en fonction de la maturité folliculaire. Les cartes de saillie en sperme congelé sont généralement accompagnées de 5 doses, donc 5 inséminations. Au vu du surcoût occasionné par l'achat et l'envoi de doses supplémentaires, il est impératif que les juments soient pleines au terme du 2ème cycle.

Le 1er diagnostic de gestation est réalisé 14 jours après l'ovulation. La précocité de cet examen permet, si la jument est vide, d'observer avec plus de précision le cycle suivant et d'augmenter ainsi les chances de réussite. Une confirmation de gestation est réalisée à 18 jours post ovulation.

3. Inconvénients de la conservation

Certains étalons (dénommés « poor coolers ») subissent une baisse de leurs résultats de mobilité ou de fertilité suite à la conservation de leur semence, tandis que d'autres (dénommés « good coolers ») ne sont pas affectés [Brinsko et al., 2000a]. Ce phénomène est peut-être dû à des modifications des membranes regroupées sous le terme de « cold shock », mais sans relation avec les phénomènes ayant lieu au cours de la congélation : en temps normal, la bicouche phospholipidique que constitue la membrane cellulaire du spermatozoïde

L'insémination artificielle chez la jument

– comme celle de chaque cellule – est dite « fluide », c'est-à-dire que ses constituants (cholestérols, protéines) circulent librement au sein des phospholipides. Cependant, Parks et Lynch (1992) ont mesuré une température de transition de ces phospholipides à 20,7°C pour l'étalon, ce qui se traduit par une perte de fluidité et une désorganisation de la membrane aboutissant à la création de nouveaux pores. Ainsi, la perméabilité cellulaire est augmentée et le spermatozoïde ne peut plus maintenir son homéostasie d'où, à terme, la mort de la cellule.

L'intensité de ce phénomène, commençant à 20°C est inversement corrélée à la température finale. Elle serait, de plus, dépendante de la vitesse de descente de température et de la capacité des spermatozoïdes à y résister. En effet, le refroidissement n'a pas les mêmes conséquences sur les gamètes d'un étalon à un autre.

Les techniques de conservation de la semence sont donc à étudier avec attention afin de trouver l'optimum, compte-tenu des capacités de résistance des spermatozoïdes équins.

C'est ce que nous proposons d'étudier dans cet essai.

4. Préparation de la semence

4.1. Caractéristiques du sperme

Pour les étalons de sang (moyenne sur 222 étalons des Haras Nationaux), les Caractéristiques du sperme sont regroupées dans le tableau 1 [Haras nationaux, 2004].

Tableau 5 : Caractéristiques séminales de 222 étalons de sang des Haras Nationaux

| | |
|---|---------------|
| Volume (ml) | 40,5 +/- 20,0 |
| Concentration (10⁶ spermatozoïdes/ml) | 155 +/- 71,0 |
| Nombre total (10⁹ spermatozoïdes) | 5,6 +/- 3,0 |
| PH | 7,35 + 0,20 |
| % de spermatozoïdes vivants | 76,2 +/- 9,8 |

L'insémination artificielle chez la jument

Le plasma séminal, produit en grande partie par les glandes annexes (et les cellules de l'épididyme pour une faible part), est nécessaire à la capacitation et à la nutrition des spermatozoïdes, mais **ses implications sont nombreuses et complexes**.

En effet, Calvet et al. (1994) expliquent que des spermatozoïdes prélevés dans l'épididyme sont capables de féconder des ovocytes sans passage dans l'utérus et sans qu'il soit nécessaire d'induire une réaction acrosomique (RA), alors que des spermatozoïdes éjaculés n'acquièrent cette capacité qu'après avoir traversé le tractus génital femelle. Dans cette même étude, il est montré que la majorité des **protéines du plasma séminal** de cheval forment **un agrégat** autour du spermatozoïde.

Cet agrégat protéique empêcherait une capacitation trop précoce des spermatozoïdes, afin de préserver leurs moyens de défense jusqu'à l'ovocyte. De plus, le sperme constitue un élément étranger que l'utérus tente de rejeter par l'intermédiaire d'une **réaction inflammatoire** [Troedsson et al., 2001a]. On observe en effet un afflux de cellules polynucléaires neutrophiles en réponse à la présence des spermatozoïdes. Différentes études ont montré que les protéines du plasma séminal de mammifères limitent ce chimiotactisme, ainsi que la capacité d'adhésion des leucocytes vis-à-vis des spermatozoïdes [Troedsson et al., 2004 et 2001b].

Enfin, lors d'une insémination, ou a fortiori lors d'une saillie, une grande quantité de spermatozoïdes est déposée dans l'utérus. Or, sur cette impressionnante population (106 à 109 spermatozoïdes), peu (102 à 103) arrivent finalement au site de fécondation qu'est la jonction utéro-tubaire (JUT) [Ball, 2004]. Il est possible de constater une augmentation de la proportion de spermatozoïdes mobiles et normaux dans la zone de la JUT [Ball, 2004]. Celle-ci joue certainement un rôle important dans cette **sélection**, de même que dans la constitution d'un **réservoir de spermatozoïdes**, dans l'attente de l'arrivée de l'ovocyte. En effet, il se produirait une adhésion entre les cellules de l'oviducte et les gamètes. Ce phénomène empêcherait la fin de la capacitation des spermatozoïdes par le maintien d'un taux de calcium

L'insémination artificielle chez la jument

intracellulaire suffisamment bas, jusqu'au moment de la fécondation [Tressons et al., 1998 ; Ball, 2004]. Le plasma séminal aurait une action néfaste sur cette adhésion. Mais ceci n'est pas gênant dans les conditions naturelles car, au fur et à mesure de l'ascension des gamètes, le plasma séminal est éliminé par l'utérus.

La survie des spermatozoïdes et le maintien de leur pouvoir fécondant dépendent de nombreux facteurs. La **dilution**, le **dilueur**, la quantité de **plasma séminal**, le **temps** et la **température** de conservation, la **stratégie d'insémination**, sont les principaux éléments à prendre en compte pour assurer une bonne fertilité lors de l'utilisation de la semence conservée.

4.1.1. Dilution du sperme

Les chercheurs s'intéressant à la conservation de la semence ont très vite remarqué la nécessité de **diluer** la semence dès sa récolte, sans quoi sa durée de vie ne dépasse pas une heure ou deux et son pouvoir fécondant est en grande diminution. Ceci est dû à deux phénomènes d'importance égale :

- la compétition entre spermatozoïdes pour les éléments nutritifs ou une accumulation de métabolites nocifs lorsque la concentration en gamètes est trop élevée,- les effets délétères du **plasma séminal**.

Le plasma séminal est donc essentiel dans la physiologie de la reproduction, mais il devient gênant lorsqu'on essaie de modifier l'ordre des choses.

En effet, il a été montré que, lorsqu'il est en trop grande concentration dans la semence conservée, il est néfaste pour les spermatozoïdes sans que nous connaissions à l'heure actuelle les raisons de cette toxicité. Plusieurs techniques ont alors été mises au point pour diminuer la concentration du plasma séminal lors de la conservation.

4.1.2. Méthodes de dilution

La première utilise un **vagin ouvert** pour ne récolter que la fraction riche de l'éjaculat. En effet, les 3 premiers jets de l'éjaculat contiennent 75% des spermatozoïdes, car la majorité des productions des glandes annexes ne vient qu'ensuite. Cette pratique, couramment réalisée en Finlande, permet d'éliminer la quasi-totalité du « gel » (fraction gélatineuse de l'éjaculat, riche en acide citrique et en potassium, produite par les vésicules

L'insémination artificielle chez la jument

séminales). Les inconvénients de cette technique (l'habileté et le nombre de personnes nécessaires, ainsi qu'une petite réduction de la quantité de spermatozoïdes récoltés) l'ont cantonnée à une utilisation plus limitée en France.

Une autre approche consiste donc à **centrifuger** la semence, mais il a été montré qu'un retrait total du plasma séminal causait une baisse de la mobilité et qu'au moins 15% des spermatozoïdes étaient perdus au cours des manipulations. . (2000a) ont observé de plus que la centrifugation n'a été bénéfique que pour les étalons dits « poor coolers ». Les étalons dont la semence était peu affectée par la conservation (les « good coolers ») n'ont donc pas obtenu de meilleurs résultats après centrifugation de leur semence. En outre, des effets néfastes de la centrifugation sur la mobilité peuvent être mis en évidence, dépendant bien sûr de la vitesse de rotation et du temps de centrifugation, mais aussi de la présence ou non de dilueur avant centrifugation et du type de dilueur utilisé. Une autre méthode, plus usitée, consiste à **diluer de façon importante** l'éjaculat entier (5 à 20% selon Katila (1997a)). Certains étalons – à concentration faible en spermatozoïdes ou ne possédant pas assez de spermatozoïdes ayant une mobilité progressive (= PMS pour Progressive Motile Sperme) – ne peuvent néanmoins pas profiter de ces solutions, car elles engendreraient des doses d'insémination de trop grand volume avec une concentration en spermatozoïdes trop faible.

4.1.3. Les dilueurs

Un dilueur est nécessaire pour assurer une protection aux spermatozoïdes, entre autres par un effet de volume. Il existe un grand nombre de dilueurs, à base de lait ou de solution saline, ayant tous pour objectif une meilleure survie des spermatozoïdes. Les principaux à l'heure actuelle sont (tableaux 2 à 4) :

- le lait UHT,
- le Kenney aussi appelé EZ-Mixin (CST Colorado) ou Non-Fat Dried Milk Solids-Glucose (NFDMSG) ou encore Skim Milk Glucose extender (SKMG),
- le KMT, surtout utilisé pour remettre en suspension le sperme centrifugé car une interaction néfaste avec le plasma séminal a été mise en évidence [Rigby et al., 2001],
- l'INRA96.

Tableau 6 . Composition du Kenney (pour 1l)

| | |
|---|-----------------|
| Glucose C ₆ H ₁₂ O ₆ | 49g |
| Lait en poudre | 24g |
| Eau distillée stérile | q.s.p. 1 l |
| Streptomycine | 1,5g |
| Pénicilline | 1,5 millions UI |

Tableau 7. Composition de l'INRA96 (IMV, L'Aigle, France) pour 1l

| | |
|--|-----------|
| CaCl ₂ | 0,14g |
| KCl | 0,4g |
| KH ₂ PO ₄ | 0,06g |
| MgSO ₄ 7H ₂ O | 0,2g |
| NaCl | 1,25g |
| Na ₂ HPO ₄ 12H ₂ O | 0,118g |
| NaHCO ₃ | 0,35g |
| HEPES | 4,76g |
| Glucose C ₆ H ₁₂ O ₆ | 13,21g |
| Lactose C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ H ₂ O | 45,39g |
| Eau distillée stérile q.s.p. | 1 l |
| Pénicilline | 50 000 UI |
| Gentamycine | 50 mg |
| Puis | |
| Phosphocasinat | 27g/l |

Tableau 8 . Composition du Tyroïde modifié (pour 0,1l)

| | |
|----------------------------------|-------------|
| NaCl | 0,42g |
| KCl | 0,187g |
| NaHCO ₃ | 0,21g |
| Na ₂ HPO ₄ | 0,005g |
| Lactate de sodium 60% | 0,310 l |
| CaCl ₂ | 0,029g |
| MgCl ₂ | 0,008g |
| HEPES | 0,238g |
| Pyruvate de sodium | 0,011g |
| BSA | 0,6g |
| Eau distillée stérile | q.s.p.0,1 l |

KMT =
65% Kenney + 35% Tyrode modifié

Grâce à leurs composants, les dilueurs assurent aussi un contrôle de la multiplication bactérienne, une protection des membranes vis-à-vis des radicaux libres et un apport en substrats nutritifs [Katila, 1997a]. Leur osmolarité et leur pH doivent être proches de ceux du sperme, c'est-à-dire 300 mOsm/L avec un pH de 7,4 à 7,6. Pour la plupart des dilueurs, l'osmolarité se situe entre 280 et 450 mOsm/L avec un pH de 6,6 à 7,0 [Katila, 1997a].

Même si les mécanismes de protection des membranes restent encore obscurs, le fractionnement du lait par différentes méthodes (microfiltration, ultrafiltration, ...) a permis de les comprendre un peu plus. En effet, le principal inconvénient des substances telles que le lait, réside dans la complexité de leur composition. Ainsi, même si elles contiennent des éléments favorables à la conservation des spermatozoïdes, elles renferment aussi des composants toxiques, d'où l'intérêt d'en isoler les fractions les plus protectrices. Parmi celles-ci, le phosphocasinat natif (PPCN) et la β -lactoglobuline se sont révélés être les plus performants pour la conservation de la semence équine réfrigérée [Batellier et al.,

1998 ; Batellier et al., 2001], d'où la création de l'INRA96. La formulation de ce dilueur a été établie non seulement sur la base des résultats de mobilité, mais aussi sur ceux de fertilité de la semence conservée.

4.1.4. Conservation de la semence

4.1.4.1. Température

Il n'est pas possible de garder les spermatozoïdes à la température du corps car il s'ensuivrait une mortalité cellulaire importante à cause d'une activité métabolique intense [Varner et al., 1988]. La durée de stockage de la semence peut être augmentée en ajoutant un dilueur approprié et en abaissant la température. Cependant, il est très difficile de définir une température optimale à partir des études réalisées car de nombreuses variations de protocole sont observées concernant le dilueur utilisé, les conditions d'aérobiose et la durée de réfrigération. Néanmoins, que ce soit dans un dilueur à base de lait ou dans du Kenney, il semble que la température optimale soit autour de 4-5°C pendant 24 heures de conservation [Palmer, 1984 ; Varner et al., 1988 ; Varner et al., 1989 ; Zidane et al., 1991]. En effet, il a été montré que dans le Kenney, la mobilité des spermatozoïdes après 24 heures n'était pas meilleure lorsque la température était inférieure (0-2°C) [Varner et al., 1989].

Lorsque le temps de conservation est plus court [Province et al., 1985] ou que la conservation est réalisée en aérobiose [Batellier et al., 1998 ; Batellier et al., 2001], la température optimale serait plutôt aux alentours de 10-15°C. L'hypothèse qui est faite permettant d'expliquer ce phénomène est la suivante : l'intense métabolisme des spermatozoïdes à 15°C, faisant intervenir la respiration cellulaire et donc le cycle de Krebs, nécessiterait un apport en oxygène. Ce mode de conservation serait alors une alternative pour les « poor coolers ».

En pratique, en accord avec la littérature, la semence équine est le plus souvent conservée à 4°C, en anaérobiose, pendant 24 heures (aux USA), bien que la majorité des doses soient utilisées dans les 12 heures en France. Cependant, la semence peut parfois être conservée plus longtemps : certains auteurs ont ainsi obtenu un taux de gestation de 75% après conservation avec des dilueurs à base de lait pendant 40-48 heures, de 77% au bout

de 70 heures et de 57% au bout de 80 heures [Heiskanen et al., 1994a et b]. Chacun de ces articles présente cependant l'inconvénient de ne porter que sur un faible nombre de cycles. Dans une autre étude considérant un nombre un peu plus conséquent de cycles (52), Batellier et al. (2001) obtiennent une fertilité de 48% au bout de 72H, dans de l'INRA 96.

4.1.4.2. Vitesse de refroidissement

Comme le montrent les étalons « poor coolers », la chute de température, bien que nécessaire à la conservation, n'est pas inoffensive. La première étude sur ce sujet [Douglas- Hamilton et al., 1984] a montré qu'en partant de 37°C, les vitesses de -1°C/min et -0,5°C/min altéraient la mobilité des spermatozoïdes. Ces constatations ont conduit les auteurs à créer l'Equitainer ND, boîte de transport de la semence, qui assure une vitesse de descente initiale de -0,3°C/min, sachant qu'elle ne peut ensuite que diminuer (cf. le paragraphe suivant). Des études plus récentes, menées avec un dilueur à base de lait [Kayser et al., 1992 ; Moran et al., 1992] ont montré que la descente idéale pour la mobilité des spermatozoïdes devait être rapide de 37°C à 20°C, puis lente (-0,05°C par minute) de 19-20°C jusqu'à 8°C, puis de nouveau rapide jusqu'à 4°C. Ceci est en accord avec les conclusions mentionnées précédemment sur la fluidité membranaire. Cependant, ces conditions sont difficiles à remplir sur le terrain.

En fait, les doses sont véhiculées dans des glacières électriques ou dans des réfrigérateurs embarqués dans les véhicules ou encore dans **des boîtes de transport** contenant un système de refroidissement passif – c'est-à-dire des packs remplis d'un liquide congelé – dont l'objectif est de maintenir la semence à des températures voisines de 4°C pendant un maximum de temps (environ 24h pour la plupart de ces dispositifs). Ceci implique une courbe de descente en température en forme d'exponentielle inversée car l'écart entre la température de la semence et celle du glass-pack diminue. Ainsi, la vitesse de descente varie au cours du **temps** mais aussi en fonction des **conditions environnementales** et du **volume** de semence stockée. L'Equitainer est la boîte la plus utilisée à l'heure actuelle grâce à ses performances mais elle présente l'inconvénient d'être coûteuse. Elle implique donc un investissement initial et un retour des boîtes après l'utilisation de leur contenu. Depuis quelques années, plusieurs sociétés ont mis au point et

commercialisé des boîtes jetables moins coûteuses, mais est-ce au prix de leur efficacité ? Les études concernant ces systèmes de refroidissement passif sont diverses, chacune comparant une ou plusieurs de ces nouvelles boîtes à l'Equitainer en fonction des conditions de température extérieure [Nunes et al., 2007 ; Brinsko et al., 2000b ; Katila, 1997a]. Les résultats révèlent, pour la plupart, que les vitesses de descente sont rapides (jusqu'à 3,6°C/min) entre 37°C et 20°C, puis plus lentes jusqu'à 15°C (jusqu'à -0,3°C/min).

La majorité des études montrent que l'Equitainer est la boîte dont la température intérieure est la plus indépendante de la température extérieure et ceci selon plusieurs paramètres : la

température minimale atteinte, le **temps** passé à ce minimum, et bien sûr la **courbe de descente** de température. L'influence de toutes ces variations sur la mobilité après conservation de la semence est controversée [Brinsko et al., 2000b ; Katila et al., 1997b].

Cependant, aucune étude ne s'est intéressée à la fertilité des doses ainsi stockées alors qu'il est reconnu que la température et la durée de conservation sont des facteurs qui l'influencent.

5. Evaluation de la qualité de la semence réfrigérée

5.1. Conséquences de la conservation

Une fois la conservation assurée, il est utile de s'intéresser au nombre de spermatozoïdes nécessaires pour obtenir une gestation.

Dans ce domaine, les recommandations [Brinsko, 2006] diffèrent d'un pays à l'autre.

Pour du sperme frais, il est à peu près établi qu'une dose de 100 millions de spermatozoïdes ayant une mobilité progressive (= PMS pour Progressive Motile Sperme) est un optimum, si la fertilité de l'étalon est bonne, le temps de conservation inférieur à 12h et le suivi des juments correctement mené. Sinon, il est possible d'obtenir une fertilité identique, mais avec des doses allant jusqu'à 500 millions de PMS. C'est-à-dire que la quantité de spermatozoïdes inséminés peut compenser partiellement une défaillance d'un de ces facteurs. Par contre, toujours selon le même auteur, une dose de 50 millions de PMS réduit dans tous les cas la fertilité. Sachant maintenant que pour de la semence réfrigérée –

L'insémination artificielle chez la jument

et non pas congelée – il y a une perte de 50% environ de la mobilité des spermatozoïdes, il est recommandé d'utiliser des doses d'au moins 200 millions de spermatozoïdes avant conservation [Brinsko, 2006]. Ces recommandations sont de plus modifiées par le type d'insémination. La méthode dite d'insémination en haut de corne, réalisée théoriquement au niveau de la jonction utéro-tubaire (JUT), paraît attrayante car elle permet d'obtenir les mêmes résultats qu'une IA classique mais avec des doses jusqu'à dix fois moindres [Morris et al., 2000]. Il est cependant nécessaire de soulever quelques questions [Vidament, 2005b] :

- avec du **sperme frais**, les résultats sont très variables et dépendent beaucoup de la fertilité de l'étalon et de l'intervalle entre l'insémination et l'ovulation (IA-OV).

Cette technique s'appliquerait davantage à des étalons n'ayant pas une production de spermatozoïdes suffisante, sachant que les contraintes sont importantes par rapport au faible avantage procuré (confection des paillettes, suivi échographique intense ...),

- avec du **sperme congelé**, les résultats sont équivalents à ceux obtenus avec une IA classique pour des doses de 50 millions de PMS et un intervalle IA-OV inférieur à 6H. Si l'intervalle est plus long, il est nécessaire d'inséminer sous contrôle endoscopique afin de s'approcher au mieux de la JUT ou d'augmenter la quantité de spermatozoïdes.

Ces résultats sont concordants avec les constatations de Ball (2004) (cf. § 2.2.2.) car en inséminant au niveau de la JUT, les spermatozoïdes ont certes moins de chemin à parcourir, mais une plus grande proportion de plasma séminal y est déposée, ce qui pourrait avoir une incidence sur l'adhésion entre les spermatozoïdes et les cellules de l'oviducte.

Avant conservation, la dose de 200 millions de spermatozoïdes semble donc être efficace, mais le rythme des inséminations est aussi à prendre en compte. Vaut-il mieux inséminer cette dose en une fois ou en plusieurs fois ?

En ce qui concerne la semence réfrigérée à 5°C pendant 24H, Squires et al. (1998) ont montré qu'inséminer deux fois, à 24H d'intervalle, 1 milliard de spermatozoïdes, améliorerait la fertilité par rapport à la même dose (2 milliards de spermatozoïdes) inséminée en une seule fois. Ceci peut être expliqué de la façon suivante : la sélection opérée au niveau de l'oviducte aboutissant à l'adhésion des spermatozoïdes les plus performants ne minore pas la fertilité avec de la semence fraîche, car le nombre de spermatozoïdes n'est pas un facteur limitant.

Cependant, avec de la semence réfrigérée pour laquelle nous avons vu que la mobilité peut diminuer jusqu'à 50%, ré-inséminer, une fois la sélection opérée, permettrait d'augmenter le nombre de spermatozoïdes stockés [Levillain, 2005 ; Vidament et al., 2005a].

De plus, Sieme et al. (2003) ont montré que la fertilité de la semence réfrigérée est meilleure si on insémine entre 24H avant et 12H après l'ovulation, offrant une fenêtre plus étroite que son prédécesseur [Woods et al., 1990]. Ainsi, malgré une durée de vie théorique dans le tractus génital de la jument allant de 1 à 7 jours en fonction des étalons [Sieme et al.,

2003], la fenêtre d'IA pour une fertilité optimale est beaucoup plus courte. Il est donc préférable de réaliser plusieurs IA à 24H ou 48H d'intervalle pour obtenir une bonne fertilité.

5.2.Méthodes d'évaluation de la semence

Une bonne fertilité est la concrétisation évidente d'une bonne conservation, mais il est intéressant d'essayer de prédire le pouvoir fécondant. Pour cela, il est possible de se baser sur les caractéristiques physiques de la semence en effectuant un spermogramme. Cependant, certains étalons ont une fertilité diminuée après conservation malgré un spermogramme satisfaisant voire excellent. Jasko et al. (1992a et b) et Kenney et al. (1971) ont montré qu'il était relativement facile d'évaluer **qualitativement** le sperme d'un étalon (sur différents critères tels que la mobilité, la concentration, les anormaux, etc.), mais qu'il était très difficile de prédire **quantitativement** sa fertilité. En effet, chacun des paramètres qualitatifs est plus ou moins corrélé à la fertilité d'un étalon.

D'après Clément (1995) les caractéristiques séminales qui sont plus souvent corrélées avec la fertilité sont :

- la concentration,
- le nombre total de spermatozoïdes,
- le pourcentage de spermatozoïdes mobiles à 0h,
- le pourcentage de spermatozoïdes normaux.

Ainsi, plusieurs tests ont été mis au point pour comprendre un peu plus précisément les discordances entre spermogramme et fertilité et estimer l'intégrité de certaines fonctions indispensables à un spermatozoïde.

5.2.1. Test de réactivité des membranes

L'intégrité de la membrane plasmique peut-être affectée par les méthodes de conservation, or elle est essentielle au métabolisme des gamètes – comme de toute cellule. Le test HOS (Hypo Osmotique Swelling test) est ainsi utilisé pour la tester chez l'homme depuis les années 1970-80, et a été adapté à l'étalon [Nie et al., 2000]. Son principe est de placer les spermatozoïdes dans une solution hypo-osmotique par rapport au plasma séminal. Dans ces conditions, si la membrane plasmique est intacte, le spermatozoïde se comporte comme un osmomètre : les pores de la membrane permettent le passage des liquides vers l'intérieur de la cellule qui se met alors à gonfler, pour équilibrer les pressions osmotiques. Ce gonflement est visible au niveau du flagelle pour les spermatozoïdes car c'est la seule partie extensible. Au contraire, si la membrane plasmique est lésée, aucun gonflement ne sera visible.

5.2.2. Test de réactivité des acrosomes

L'intégrité fonctionnelle de la membrane plasmique ne fait pas tout : une série de changements complexes, incluant des modifications des lipides membranaires et la perméabilité au calcium, sont indispensables pour rendre le spermatozoïde capable de féconder un ovocyte. Ce processus – appelé capacitation – se concrétise par une mobilité accrue et une capacité à réaliser la réaction acrosomique (RA) [Meyers et al., 1995]. La RA commence par un accrochement à la zone pellucide (ZP) de l'ovocyte qui provoque un afflux massif de calcium à l'intérieur du spermatozoïde. Ceci induit la fusion, en de multiples points, de la membrane plasmique du spermatozoïde et de la membrane externe de l'acrosome. Il en résulte la formation de nombreuses vésicules qui se dispersent dans la ZP et y libèrent des enzymes qui en provoqueront l'hydrolyse [Gadella et al., 2001]. Il est possible de provoquer cette RA grâce à différentes molécules pour ensuite l'observer, par exemple par microscopie électronique (M.E.T.) [Varner et al., 2000]. La M.E.T. est la méthode de référence, mais elle est aussi chère et complexe. Elle peut être remplacée par un marquage fluorescent spécifique de la membrane externe de l'acrosome. Ainsi, les modifications de l'acrosome accompagnant la RA sont facilement visibles et par conséquent, on peut estimer le pourcentage de spermatozoïdes ayant réalisé la RA.

L'insémination artificielle chez la jument

Les tests décrits ci-dessus sont donc des moyens efficaces pour juger l'état de la semence après conservation, mais aucun n'est pour l'instant corrélé directement à la fertilité des étalons. on enveloppe.

6.Types d'insémination artificielle

6.1.Conventionelle

- semence déposée dans le corps de l'utérus
- dose : 300-500 x 10⁶ spz

6.2.- Vidéoendoscopie:

- semence au bout de la corne utérine dont l'ovaire présentant le follicule dominant
- très petite dose : jusqu'à 1 millions de spz
- nécessite 3 opérateurs

6.3.- Catheter flexible guidé par voie rectale:

- semence au bout de la corne utérine dont l'ovaire présente le follicule dominant
- petite dose : < 5 x10⁶ spz
- possibilité d'utilisation d'un appareil à ultrasons
- moins cher que par vidéoendoscopie

7. Préparation de la jument

- Mettre la jument dans la barre d'insémination ou l'entraver.
- Mettre un protège-queue ou une bande de queue à usage unique. Attacher la queue.

7.1.Lavage de la jument

Figure 5



7.1.1.A la douchette

Mettre 1 gant à usage unique.

1er lavage : arroser la vulve de la jument à l'eau (tiède si possible); mettre un savon antiseptique (par exemple: Vétédine SavonND) sur le gant. Laver la vulve de haut en bas, puis les côtés de la vulve, le dessous du clitoris et terminer par l'anus et la base de la queue.

Attention à ne pas introduire de l'eau savonneuse à l'intérieur du vagin en appuyant trop fort sur la vulve. Ne jamais revenir sur la vulve après avoir nettoyé la région alentour.

Arroser abondamment à l'eau le gant qui a servi à laver la vulve jusqu'à ce que l'eau qui s'écoule soit claire puis rincer la région vulvaire.

7.1.2. Au seau

Mettre 2 gants à usage unique.

Mettre suffisamment de papier à usage unique (6 feuilles) dans un seau d'eau et réserver la main gauche pour prendre ce papier dans le seau afin que cette main soit toujours propre et ne souille pas l'eau. Effectuer le 1er lavage de la jument (avec la main droite). Avec la main gauche, faire écouler l'eau du papier absorbant sur le gant de la main droite pour le rincer (se positionner à côté du seau). Mouiller à nouveau le papier, le prendre dans la main droite afin de rincer la vulve.

Recommencer un 2ème lavage, puis un 2ème rinçage, puis un 3ème lavage et enfin un 3ème rinçage. Ne pas laver l'anus, ni la base de la queue lors du 3ème lavage afin de ne pas souiller la vulve avec les eaux d'écoulement.

7.1.3. Séchage

Figure 6



Prendre une feuille de papier absorbant sec et essuyer la vulve, puis les côtés de la vulve, puis le dessous et enfin l'anus et la base de la queue. La feuille de papier absorbant doit être propre à la fin de l'essuyage. Ne pas oublier d'essuyer les gouttes présentes sur la poche de queue.

Afin de préserver l'appareil génital de la jument, il est important de veiller à ne pas y introduire de germes externes. Dans ce but ce protocole de lavage-rinçage-séchage doit être respecté.

7.2.Préparation du cathéter

Le cathéter et son extrémité souple pour fixer la seringue ont un volume intérieur de 4,8 ml. Pour pousser toute la dose de sperme à l'extérieur du cathéter, il faut prévoir dans la seringue un volume d'air de 6 ml correspondant à l'air qui restera dans le cathéter + un résidu de sécurité pour comprimer l'air et pousser tout le liquide hors du cathéter.

Au cours de ces manipulations, la dose d'I.A. ne doit rentrer en contact qu'avec du matériel stérile.

7.2.1.Dose en tube

1) Découper aux ciseaux l'enveloppe du cathéter d'I.A. du côté « embout seringue ». Laisser le cathéter d'I.A. dans son enveloppe de transport.

2) Ouvrir l'enveloppe de la seringue en séparant les deux feuillets, la sortir de son étui. Aspirer 2 ml d'air et la monter sur le cathéter d'I.A. resté dans s

3) Prendre un gant stérile ou un gant à usage unique en le retournant pour l'enfiler. Veiller à ce que la face externe ne touche à rien jusqu'à la pénétration dans le vagin.

4) Sortir le cathéter de son enveloppe. Une fois sorti de cette enveloppe, il ne doit toucher à aucun objet, hormis l'intérieur du tube stérile contenant la dose d'insémination ou le gant stérile de l'inséminateur.

5) Remonter la gaine sanitaire à l'aide du gant stérile sur une dizaine de centimètres, introduire le cathéter dans le tube contenant la dose. Aspirer toute la dose et un peu d'air sur les 10 derniers centimètres du cathéter (afin d'éviter de perdre de la semence par simple gravité lorsque l'on retire le cathéter du tube).

6) Remettre la gaine sanitaire sur l'extrémité du cathéter. La dose est prête.

7.2.2. Dose en seringue

Figure 7



- 1) Découper aux ciseaux l'enveloppe du cathéter d'I.A. du côté « embout seringue ». Laisser le cathéter d'I.A. dans son enveloppe de transport.
- 2) Sortir la dose. Monter la seringue sur l'embout du cathéter et aspirer 6 ml d'air.
- 3) Prendre un gant stérile ou un gant à usage unique en le retournant pour l'enfiler. Veiller à ce que la face externe ne touche à rien jusqu'à la pénétration dans le vagin.
- 4) Sortir le cathéter de son enveloppe. Repousser la semence dans le cathéter jusqu'à une dizaine de centimètres de l'extrémité et remettre la gaine sanitaire sur l'extrémité du cathéter.

7.2.3. La dose est prête.

Insémination proprement dite

Il s'agit d'apporter la dose de sperme jusque dans l'utérus et sans y apporter les germes de la vulve ou du vagin.

- 1) Protéger l'ensemble extrémité du cathéter-gaine sanitaire en la plaçant dans le creux formé par la paume de la main et les 3 doigts opposés au pouce et à l'index qui se rabattent sur le cathéter.

L'insémination artificielle chez la jument

2) Mettre 2 ou 3 giclées d'huile sur le dos de la main et en lubrifier les lèvres de la vulve. L'index destiné à être introduit dans le col ne doit pas être lubrifié et doit toucher la vulve le moins possible.

3) Introduire l'ensemble main-gaine-cathéter jusqu'au fond du vagin. Retenir la gaine à l'entrée du col. Dégager l'index et l'introduire dans le col. Faire progresser le cathéter en dessous de l'index, puis devant en l'orientant vers le bas. Le cathéter pénètre dans l'utérus sur une longueur d'environ 10 cm.

4) Mettre la seringue en position verticale. Pousser doucement la dose.

5) Retirer l'ensemble gant + cathéter. Placer le cathéter dans le gant retourné et jeter l'ensemble. Détacher la queue, enlever le protège-queue.

N'inséminer que des juments en chaleurs. Ne pas se contenter de l'état du col pour estimer l'œstrus ... mais effectuer un passage à la barre systématique avant chaque insémination.

Figure 8



8.La maîtrise des cycles sexuels

L'application de l'IA chez les mammifères nécessite que l'on soit capable de détecter précisément les chaleurs spontanées, voire d'induire et de synchroniser les chaleurs de lots entiers de femelles dans les grands troupeaux. Chez les espèces à période de reproduction limitée dans l'année, il est également intéressant de pouvoir décaler cette saison sexuelle. Tous ces problèmes ont pu être maîtrisés grâce à des recherches très poussées sur le contrôle des cycles sexuels par les sécrétions hormonales et par la photopériode (durée journalière d'éclairement).

Chez les espèces avicoles aussi, des conditions d'élevage mieux adaptées à la mise en oeuvre de l'insémination ont été recherchées : des programmes d'éclairement et/ou le rationnement alimentaire ont effectivement permis d'améliorer les résultats de l'IA.

L'insémination artificielle a rendu possible la diffusion des progrès génétiques par la "voie mâle". Le développement actuel d'autres techniques vient compléter ce schéma : la duplication et le transfert d'embryons (cf Fiche Transfert et manipulation d'embryons) permettent maintenant d'aborder la diffusion des améliorations génétiques par la "voie femelle".

Si ces techniques ont pu favoriser l'extension de quelques races spécialisées et une certaine homogénéisation des cheptels, elles peuvent également être utilisées pour diffuser ou pour sauvegarder des races en voie de disparition.

8.1. Synthèse sur les horaires et intervalles

8.1.1.Exemples d'horaires :

- J1 13h00 : Récolte et préparation des doses,
- J1 16h00 : Injection du CEG,
- J2 le matin avant les IA : échographies et vérification des follicules présents,
- J2 11h00 : IA,
- J3 04h00 : ovulation espérée 36h après l'injection du CEG,
- J3 dans la matinée : vérification des ovulations.

9. Diagnostic de gestation

Les diagnostics de gestation (DG) ont été réalisés par échographie entre treize et quinze jours après avoir constaté l'ovulation : la présence dans l'utérus d'une vésicule de quelques millimètres de diamètre étant le signe d'une gestation. Un DG négatif était systématiquement contrôlé deux jours plus tard et un DG positif était systématiquement confirmé vingt jours plus tard.

Les gestations non désirées étaient interrompues par une injection de 125 µg de cloprosténol (Estrumate ND, Schering Plough, Levallois-Perret, France) éventuellement associée à un écrasement manuel de la vésicule embryonnaire si la ponette était réutilisée dans le protocole, afin d'éviter une interaction entre le vestige de la vésicule et le sperme inséminé au cycle suivant.

Bibliographie

1. ALVARENGA M.A., TRINQUE C.C., LIMA M.M., ONOE E., FONSECA Jr H. :
The use of hysteroscopy for the application of stallion frozen semen in commercial programmes. In : Proceedings of a workshop entitled : Transporting gametes and embryos, Havemeyer Foundation Monograph Series No.12, Brewster, Massachusetts, USA, 2-5 Octobre 2003, 81-82.

2. BALL B.A. : Hysteroscopic and low-dose insemination techniques in the horse. In: Recent Advances in Equine Reproduction, 2004. Disponible sur Internet, URL: <http://www.ivis.org> .

3. BARONE R. : Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 4, Splanchnologie II, Appareil uro-génital, Foetus et annexes, Péritoine et topographie abdominale (deuxième édition). Ed. Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, Lyon, 1990, 950 p.

4. BATELLIER F., VIDAMENT M., NOUE P., MAGISTRINI M., PALMER E. :
Les techniques d'insémination artificielle équine. Le Point Vétérinaire, 1998, 29 (189), 145-151.

5. BERSINGER I., DOLIGEZ P., DUCHAMP G. : Nouvelles techniques d'insémination chez la jument. Equ'Idée, été 2003, 47, 14-20.

6. BERTEIL E. : Reproduction et hormonothérapie chez la jument. Thèse de doctorat vétérinaire, Toulouse, 1990, 167 p.

7. BLANCHARD T.L., SCHUMACHER J., VARNER D.D. : Manual of equine reproduction (second edition). Ed. Equiservices, Mosby year book, Saint Louis, 1992, 209 p.

8. BOUTRY A. : Etude échographique de la dynamique folliculaire chez la jument pendant le cycle oestral. Thèse de doctorat vétérinaire, Nantes, 1993, 73 p.

L'insémination artificielle chez la jument

9. BRINSKO S.P., VARNER D.D., BLANCHARD T.L. : The effect of uterine lavage performed four hours post-insemination on pregnancy rate in mares.

Theriogenology, 1991, 35, 1111-1119.

10. BRINSKO S.P., RIGBY S.L., LINDSEY A.C., BLANCHARD T.L., LOVE C.C., VARNER D.D. : Pregnancy rates in mares following hysteroscopic or rectally-guided insemination with low sperm numbers at the utero-tubal papilla.

Theriogenology, 2003, 59, 1001-1009.

11. BROT P. : Insémination artificielle et traitement de la semence dans l'espèce équine. Thèse de doctorat vétérinaire, Lyon, 1990, 183 p.

12. BRUYAS J.-F., BARRIER-BATTUT I., FIENI F., TAINTURIER D. : L'échographie transrectale en gynécologie équine : suivi ovarien et diagnostic de gestation chez la jument. Journées nationales des GTV, Tours, 27-29 mai 1998, éd.

SNGTV-5 rue Moufle-75011 Paris, 425-437.

13. BRUYAS J.-F., BARRIER-BATTUT I., FIENI F., TAINTURIER D. : Principaux traitements hormonaux de maîtrise de l'ovulation et de la fonction lutéale chez la jument. Journées nationales des GTV, Tours, 27-29 mai 1998, éd. SNGTV-

5 rue Moufle-75011 Paris, 335-357.

14. BRUYAS J.-F. : Cathétérisme cervical chez la jument : technique et intérêts diagnostiques et thérapeutiques. Journées nationales des GTV, Nantes,

2003, éd. SNGTV-5 rue Moufle-75011 Paris, 373-379.

15. BRUYAS J.-F. : Approche étiologique des anoestrus non saisonniers de la jument. Pratique Vétérinaire Equine, 2003, 139 (35), 5-12.

16. BRUYAS J.-F. : Reproduction artificielle chez les équins : quelques chiffres. AERA-Biotechnologies de la reproduction : quoi de neuf, Alfort, 2

Décembre 2003.

L'insémination artificielle chez la jument

17. BUCHANAN B.R., SEIDEL G.E., McCUE P.M., SCHENK J.L., HERICKHOFF L.A., SQUIRES E.L. : Insemination of mares with low numbers of either unsexed or sexed spermatozoa. *Theriogenology*, 2000, 53, 1333-1344.
18. CAGE P. : IA profonde : les juments prises pour cible. *L'Eperon hors-série élevage* 2004, 27-28.
19. CHARVOLIN J.-M. : Intérêts des inséminations sur ovulation constatée ou en haut de corne. *Pratique Vétérinaire Equine*, 2005, 147 (37), 27-36.
20. CHEVALIER F. : Contribution à l'étude de l'insémination artificielle chez le cheval. Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de médecine, Créteil, 1980, 91 p.
21. CLEMENT F., VIDAMENT M. : Facteurs influençant la fertilité des étalons nationaux. *Le Point Vétérinaire*, Août-Septembre 1998, 29 (193), 717-723.
22. DAELS P.F. : New technics of artificial insemination in the mare. In: 20^{ème} journée d'étude de la Belgian Equine Practicioners Society (BEPS), Brussels, Belgium, 2003.
23. DECUADRO-HANSEN G. : Les techniques d'insémination artificielle profonde chez les Porcins, Equins et Ovins. AERA-Biotechnologies de la reproduction : quoi de neuf, Alfort, 2 Décembre 2003.
24. DELAJARRAUD-TAUVENT H. : Insémination sous endoscopie chez la jument ; bilan de quatre saisons de monte. *Pratique Vétérinaire Equine*, 2005, vol.37, n°147, 19-25.
25. DUPREY F. : Intérêts de l'insémination en post-ovulation des juments. Thèse de doctorat vétérinaire, Nantes, 2003, 163 p.

L'insémination artificielle chez la jument

26. GAHNE S., GANHEIM A., MALMGREN L. : Effect of insemination dose on pregnancy rate in mares. *Theriogenology*, 1998, 49, 1071-1074.

27. GINTHER O.J. : Reproductive biology of the mare; basic and applied aspects (second edition). Ed. Equiservices, Cross Plains, 1992, 642 p.

28. GUVENC K., REILAS T., KATILA T. : Effect of insemination dose and site on uterine inflammatory response of mares. *Theriogenology*, Juin 2005, 63 (9), 2504-2512.

29. HUNTER R.H.F. : Sperm transport in the female tract: comparative aspects and physiological highlights. In: Proceedings of a workshop entitled: From epididymis to embryo, Havemeyer Foundation Monograph Series No.6, New Orleans, USA, 18-21 Octobre 2001, 7-9.

30. KORMANN N. : L'insémination intra-tubaire ou juxta-tubaire chez la jument. Proposition d'une procédure d'insémination sous hystéroscopie. Thèse de doctorat vétérinaire, Lyon, 2003, 155 p.

31. LEIPOLD S.D., GRAHAM J.K., McCUE P.M., BRINSKO S.P., VANDERWALL D.K. : Effect of spermatozoal concentration and number on fertility of frozen equine semen. *Theriogenology*, 1998, 49, 1537-1543.

32. LINDSEY A.C., BRUEMMER J.E., SQUIRES E.L. : Low dose insemination of mares using non-sorted and sex-sorted sperm. *Animal Reproduction Science*, Décembre 2001, 68, 279-289.

Résumé de La Thèse

L'INSEMINATION ARTIFICIELLE CHEZ LA JUMENT

La reproduction équine est un domaine en pleine évolution avec l'augmentation du nombre d'inséminations artificielles, notamment l'insémination artificielle profonde et le développement du transfert d'embryon. Quelque soit la méthode utilisée, l'objectif principal est d'obtenir une bonne fertilité en fin de saison. Pour se faire il est important de se soucier aussi bien de la jument que de l'étalon lors de l'analyse des résultats de fertilité.

Par définition, l'insémination artificielle est une technique de reproduction appartenant à la première génération des biotechnologies. Elle est apparue en Europe dans les années 80 et consiste à récolter la semence d'un étalon, la conditionner en doses et déposer cette dose dans l'utérus de la jument en chaleur. Elle offre plusieurs avantages qui sont d'ordre :

- sanitaire : éradication des maladies transmissibles par voie génitale, hygiène de la récolte ;
- génétique : utilisation d'étalons contrôlés sexuellement même après leur mort, large diffusion de la semence, gros progrès génétiques ;
- économique : augmentation du nombre de juments fécondées par le même étalon (entre 7 et 15 juments avec un seul prélèvement), déplacements limités des animaux, maîtrise de la reproduction.

En reproduction équine, le plus important est de respecter le comportement naturel du cheval.

Il faut donc:

Temps et argent sont alors économisés grâce à l'augmentation de la fertilité de l'élevage.

- éviter de brusquer les chevaux
- favoriser les échanges
- abolir les tabous

ملخص المذكرة

التلقيح الاصطناعي للفرس

ان استنساخ الخيول هو مجال سريع التطور خصوصا مع تنامي الزيادة في عدد التلقيحات الاصطناعية بما في ذلك التلقيح الاصطناعي والتطور العميق لعملية نقل الأجنة. لذلك مهما كانت الطريقة المستخدمة، فإن الهدف الرئيسي هو الحصول على الخصوبة الجيدة في أواخر الموسم.

للقيام بذلك فمن المهم أن توجه الرعاية و التركيز على الفرس أكثر من الجواد و هذا عند تحليل نتائج الخصوبة . و بتعريف أدق فان التلقيح الاصطناعي هي تقنية تنتمي الى الجيل الأول للتكنولوجيا الحيوية . هذه التقنية ظهرت في أوروبا في الثمانينات و تشمل العملية محاولة تجميع مني الجواد و توضيها في جرات و ووضع هذه الجرات في رحم الفرس في مستوى حراري معين.

ان هاته العملية توفر مزايا عديدة و التي على التوالي :

- صحية : القضاء على الأمراض المعدية من خلال الأعضاء التناسلية (الحصيلة الصحية)
- وراثية : استخدام جياذ مراقبة جنسيا و حتى بعد وفاتهم فانه يمكن استخدام منيهم بشكل واسع و هذا يسمح بتطور وراثي كبير.
- اقتصادية : زيادة عدد الأفراس التي ولدت من نفس الجواد (حوالي 7 الى 15 فرس من جرعة واحدة) الحد من تنقل الحيوانات من مكان لمكان اخر من اجل التلقيح - التحكم في عملية التناسل و الاستنساخ.
- و من المهم الاشارة الى انه في عملية الاستنساخ يجب احترام السلوك الطبيعي للحصان لذلك يجب :
- تجنب محاول التحريض على اندفاع الخيول
- تعزيز التبادلات.
- الغاء و تجنب الأشياء المحرمة و المنافية لطبية الحيوان.

