741THV-1

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEM

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB BLIDA

Faculté agro vétérinaire et biologie

Département vétérinaire

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de docteur vétérinaire

Thème

Essais de récolte d'embryon équin

Présenté par :

Melle MEGUELLATNI Hadjer

Mr SAAD Mossaab

Membres de jury :

-président de jury : **Pr KAIDI rachid**

- éxaminateur : **Dr bellala redha**

Promoteur : **Dr.ADEL djallel**

PROMOTION 2012/2013

Résumé

Le transfert d'embryons (ou transplantation embryonnaire) est une biotechnologie nouvelle de reproduction assistée consistant à obtenir un poulain à partir d'une jument d'élite qui ne peut assuré une gestation à terme soit pour des raisons médicales « pathologiques » ou liées à sa carrière « jument de compétition». Le principe de cette méthode est de collecter un embryon dans l'utérus d'une femelle dite donneuse pour le placer dans l'utérus d'une femelle appelée receveuse, où Il poursuivra sa croissance et son développement jusqu'à la mise bas.

Dans le volet principal de notre projet on a opté pour définir la technique de récolte d'embryons chez l'espèce équine ainsi que certains facteurs qui peuvent avoir une influence sur la réussite de la récolte et ainsi la qualité de l'embryon récolté. Cet embryon sera donc prêt à être transféré immédiatement ou congelé pour une utilisation ultérieure.

Six récoltes ont été réalisées chez 3 juments de la Garde Républicaine de l'ANP en deux essais. La première série de récoltes nous a servi pour nous familiariser avec la technique vu qu'elle est la première réalisée chez cette espèce, les trois collectes ont été nulles (sans embryons). La deuxième série de récoltes réalisée quelques semaines plus tard à donnée lieux à l'observation d'un embryon qui est le premier récolté chez une jument en Algérie. En considérant les deux essais le taux de récolte calculé est de 16.6%.

Mots clés :

Transfert d'embryons- Transplantation- Biotechnologie- Récolte d'embryons-Taux de récolte- Femelle donneuse- Femelle receveuse

Summary

Embryo transfer is a new biotechnology consists to breeding or obtains a foal from mare elite highest potential that can't safely carry the foal to full term. Whatever his reason, if there are medical reasons or in order that the mare may continue her competition .the foal is transferred to another one who ensured the development setup low and subsequently its breastfeeding.

In a principal objective of our project, we had opted for the technique of collecting embryos on equine species, and all parameters, we had define the technique of embryo collection in the equine species, and all parameters to have or obtain at the and a great quality embryos, able to be transferred immediately or freeze for a later use.

Six collections was made in 3mares of the republican guard of ANP in two trials , the first series of collection served us to familiarized ourselves with the technique . because it is both the first realize in this species ; the three collections were without embryos , the second series of collection in a few weeks again gave us the possibility to observe an embryo which is the first collected from a mare in Algeria ,if we considered both tests or trials calculated rates are 16.6%

Key words:

Embryo transfer –biotechnology-collect embryos-rate of collect

ملخص

نقل الأجنة تكنولوجية حيوية جديدة تهدف إلى الحصول على مهر انطلاقا من فرس من النخبة و التي لا يمكنها أن تكفل مدة الحمل أيا كانت مبرراتها سواء كانت لأسباب صحية أو متعلقة بحياتها المهنية (فرس رياضية) مبدأ هذه التقنية هو نقل هذا الجنين إلى فرس أخرى تضمن إتمام فترة الحمل حتى الولادة و من ثمة الرضاعة.

في الجزء الرئيسي من مشروعنا اعتمدنا توضيح تقنية استخلاص الأجنة بكل تفاصيلها لدى فصيلة الخيول و كذا المقاييس التي تلعب في النهاية دورا في الحصول على جنين ذو نوعية جيدة جاهز لنقل فوري أو يتم تجميده لاستخدامه لاحقا.

بعد ست عمليات استخلاص لدى ثلاثة خيول (إناث) تابعة لفرقة الحرس الجمهوري للجيش الوطني الشعبي و ذلك على مرحلتين. المرحلة الأولى من الاستخلاص سمحت لنا بالتأقلم مع هذه التقنية باعتبارها تتم و لأول مرة عند هذا النوع. المحاولات الثلاثة الأولى كانت سلبية (بدون أجنة). المرحلة الثانية التي تمت بعد بضعة أسابيع سمحت بملاحظة جنين الذي تم استخلاصه لأول مرة عند الفرس في الجزائر. إذا أخذنا بعين الاعتبار المحاولتين المحققتين فان نسبة الاستخلاص تقدر ب 16.6%.

الكلمات المفتاحية:

نقل الأجنة- تكنولوجيا حيوية- استخلاص الأجنة- نسبة الاستخلاص.

Remerciements

Par ***Mr Saâd Mossaâb*** *&* ***Melle Meguellatni:***

Avant toutes personnes et après tout succès je remercie dieu de m'avoir donné ce courage pour confronter tout obstacle

et surmonter toute peur et peine.

A Mr le Dr Adel Djalal,

Qui nous a fait l'honneur d'accepter d'encadrer ce travail,

Qui nous a également donnée la chance de réaliser ce travail chaleureusement souhaité. Et d'avoir laissé une image exemplaire d'une personne sérieuse travailleuse et surtout l'exemple du bon chirurgien vétérinaire.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.

A Mr le Professeur Kaidi,

Professeur à la faculté des sciences vétérinaires de Blida

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Qui nous a appris la bonne démarche en matière de pathologie de la reproduction.

Hommage respectueux.

A Mr le Dr Belala.R,

Enseignant à la faculté des sciences vétérinaires de Blida

Qui nous a fait l'honneur de diriger et corriger ce travail.

Qu'il trouve ici l'expression de notre reconnaissance et de notre profond respect.

Par **Melle MEGUELLATNI**

Je tiens à remercier mes parents qui m'ont soutenus moralement ainsi que financièrement

Pour leurs patience et d'avoir pris soin de moi soin physique et morale

« Je les remercies d'avoir eu foie en moi »

A mes sœurs l'architecte feriel et ma petite maissa a ma tante latifa à ma famille et a mes amis

Je remercie tous enseignants qui m'ont appris à être vétérinaire durant tout le cycle et durant toutes mes années d'études, sans exception.

Je remercie mon sérieux binôme, brave collègue et avant tout mon ami (de tout le cursus)

Un grand merci a toi a cette personne qui ma soutenus, encourager, supporter, Aimer, m'a fais ***confiance*** *et ne m'a guère juger*

Par Mr **SAÂD MOSSAÂB**

A ma raison de vivre, à ma mère Hamida,
Pour avoir toujours cru en moi,
Pour m'avoir permis d'arriver jusqu.ici,
Pour ton soutien et ta patience tout au long de ce parcours,
En témoignage de tout mon amour,
Merci pour tout...

A Mr Saad El-Hadi mon père et mon professeur,

Tout d'abord, merci de m'avoir donné le goût des études depuis mon plus jeune âge et de m'avoir permis, malgré les circonstances, de réaliser mon rêve. Sans toi, je ne serais jamais devenu ce que je suis aujourd'hui !
Comment ne pas repenser à ces longues heures passées ensemble, durant lesquelles tu parvenais toujours à me remonter le moral et à me redonner confiance en moi !
Ne t'inquiète pas, ce n'est certainement pas parce que j'ai enfin fini mes études que nous allons rompre nos habitudes, nos conversations seront toujours aussi sacrées à mes yeux !

Enfin merci d'être toujours présents quand j'en ai besoin et de remplir à merveille et doublement votre rôle de mère et père.

A ma sœur Asma et sa petite famille,

A Moh et la poupée Soundousse *qui ne veux plus dormir chez nous* ***!***

A Amira *la souriante !*

A mon p'tit frère le Dr Saad Ayoub,

Pour ton calme olympien, et ta gentillesse.

A la jolie petite frangine Meryouma,

A tous nos bons moments...passés et à venir !

A Hadjer,

Avec qui je partageais un tas de trucs, et à qui je dois bien des choses.

Pour ces cinq années passées ensemble

Je te souhaite tout le bonheur du monde à toi et à Hsm.

A mes amis d'enfance

Oussama, Akhina, Hachem et Anis, Mus
A notre amitié qui m'est si chère, entre tempête et beau fixe,
Puissent nos chemins ne pas rester séparés trop longtemps.

A Miami

Abdeldjalil, Djaro, Djaàfar, zagalo, cheikh, Serhane bakora,
A Abdallâh et sa petite famille,
A Abbas, les deux frère Chaouki, et Ahmed,
A toutes ces soirées d'ici et d'ailleurs, ces fous rires inoubliables et ces années trop vite passées,
Parce que sans vous rien n'aurait été pareil.

Aux Drs Soudani aicha, Ouakli Nadia, Sellou Nadia, Abada Leïla,

Pour tout ce que vous m'avez appris,
Et pour m'avoir fait partager l'amour de ce métier,
En souvenir de ces matinées en clinique.

A la famille Noui

Pour votre complicité indéfectible

A Imène,

Parce que je vous aime sans vous voir.
Pour l'ambiance que tu m'as faite,
Pour les youyous.

A Chanez,

Parce que sans ton aide tout aurait été plus difficile,
Pour la patience et la compréhension dont tu sais faire preuve,
A notre nouvelle vie, ensemble.

Un spécial remerciement à Mr le Dr Djoudi qui était à la fois le prof et l'ami

C'est à vous aussi que je dois ma situation actuelle, vous qui avez su me transmettre votre passion pour votre métier. A votre façon, je m'efforce de prendre soin autant des animaux que de leur propriétaire.

Merci « Mus ».

A tous ceux qui ont contribué, de très près ou de très loin,

A tous les profs que j'ai pu avoir le long de mon parcours, de celle qui m'a appris l'alphabet à celui qui va me déclarer digne du titre Dr vétérinaire,

Au hasard des rencontres,

A la personne que je suis devenu aujourd'hui.

TABLES DES MATIERES

INTRODUCTION 1

Chapitre I : partie bibliographique

I/Anatomie et physiologie de la reproduction chez la jument 2

1/approche sur l'anatomie de l'appareil génitale chez la jument 2

2/Particularités de la physiologie du cycle sexuelle chez la jument 4

2-1/Comportement de la jument en chaleurs 4

2-2/hormone sexuel et cyclicité 4

2-2-1/Les différentes hormones 5

-Les hormones ovariennes

-Les gonadotrophines hypophysaires

-Les gonadotrophines placentaires

2/Saisonnalité 5

2-1/saison anovulatoire 6

2-2/Saison ovulatoire 6

3/Cycle ovarien de la jument 6

3-1/Phase folliculaire 7

3-2/Œstrus et ovulation 7

3-2-4/Phase lutéale 8

II-Production d'embryon chez la jument 9

a/Généralité 9

1/Définition 9

2/Historique 9

B/ Aspects techniques 10

1/Préparation des donneuses 10

1-1/Sélection et traitement 10
1-2/synchronisation 10
1-3/Insémination artificiel 11
1-4/La superovulation 12
1-4-1/Définition 12
1-4-2/Particularités chez l'espèce équine et hormones utilisées 12
1-5/Suivie ovarien 13
2/préparation des receveuses 13
2-1/ sélection et traitement 13
2-2/synchronisation 14
III-Récolte d'embryons 15
1/choix du jour de la récolte 15
2/technique de la récolte 16
3/ recherche et évaluation de l'embryon 17
3-1/ méthode de recherche de l'embryon 17
3-2/évaluation 18
3-2-1/Stade de développement 18
3-2-2/ Evaluation qualitative 19
3-3/diamètre et identification de l'embryon 21
3-4/Traitement de l'embryon 22
4/ Techniques du transfert d'embryons 23
4-1/ méthode chirurgicale 23
4-2/méthode non chirurgicale 24
4-2-1/transplantation de l'embryon état frais 25
4-2-2/transplantation de l'embryon état congelé 25
Chapitre II : Partie expérimentale (récolte d'embryons)
I-MATERIELS ET METHODE 27
1- Matériel 27

1-1/ Lieu de l'expérimentation....27

1-2/ Animaux....27
1-2-1/ Juments....27
1-2-2/ Etalons....27
1-2/ Matériel et milieux de récolte....28

2/Méthode....29

2-1/ Synchronisation des chaleurs....29
2-2/ Détection des chaleurs....29
2-3/ Saillie....30
2-4/ Récolte et identification des embryons....32
2-5/ Recherche d'embryons....33
2-6/ Traitement de l'embryon....34

II- RESULTATS ET INTERPRETATION....35

III- DISCUSSION....37

C- CONCLUSION....38
- BIBLIOGRAPHIE....39

TABLES DES ILLUSTRATIONS

Tableaux :

Tableau 1 : Evaluation de l'embryon par : A. McKinnon et J.L.Voss et Febiger 1993....20

Tableau 2 : juments donneuses utilisées....27

Tableau 3 : programme des saillies....31

Tableau 4 : répartition des juments....35

Figures :

Figure 1 : appareil génital d'une jument (barone 1978) vue ventral après isolement et étalement....3

Figure 2: schéma montrant la sonde de récolte en place dans l'utérus d'une jument....17

Figure 3 : photo d'un jour blastocyte équin (180) (photo A.Allard) 19

Figure 4 : photo d'un blastocyte équin en cours d'éclosion (310) (photo A.Allard) 19

Figure 5 : photo d'un blastocyte expansé équin(660) (photo A.Allard) 19

Figure 6: diamètre évaluer au cours de l'expérimentation 22

Figure 7: structure histologique d'un jeune embryon équin : stade morula et blastula d'après Lagneau 24

Figure 8 : sonde de récolte 28

Figure 9 : bain marie +flacon contenant du PBS 28

Figure 10 : boite de pétri quadrillée 29

Figure 11 : microscope inversé 29

Figure 12: test a la barre+ (sine des chaleurs) 30

Figure 13: désinfection de la région périnéale 30

Figure 14 : approche de l'étalon 31

Figure15 : chevauchement de la jument.....31

Figure 16 : élimination de toutes traces de désinfectant 32

Figure 17 : introduction de la sonde.....33

Figure 18: gonflage du ballonnet 33

Figure 19 : rinçage de l'embryon 34

Figure 20 : embryon équin récolté vue au microscope (4×10) 36

INTRODUCTION

Introduction :

La transplantation embryonnaire a connue un grand essor durant ces dernières années chez les différentes espèces aussi chez l'homme que chez l'animale, le premier transfert réussis a été fais en (1890) par l'englais W. Heape(11). chez l'espèce équine aussi dont le premier transfert a été fais par Oguri et Tsutsumi (1972)(18) ,il est passé du stade expérimentale médicale au stade commerciale est ceux ;dans différents pays d'où son intérêt qui prend de l'ampleur chez cette espèce ; ou il permet en premier lieu d'exploité encore et encore la durée de vie de la jument qui est disant pubère a l'âge de 2 ans et qui ne peut être mise a la reproduction qu'à l'âge de 3ans,(3) de même une jument et dite âgées a l'âge de 17ans ou elle ne peut assuré une gestation a terme ;aussi on obtiens des embryons d'une mère tout en réservant sa carrière sportive (24) .

Le transfert d'embryon permet d'augmenter la production de juments d'élite par récoltes et transferts répétés. ,c'est-à-dire la mère génétique « la donneuse » poursuit sa vie sans avoir besoin de porté l'embryon et qui sera confier a une autre jument la « receveuse » appelé encore « la porteuse »assurant son développement normal a terme , et cela ne pourras être achevé que si la donneuse et la porteuse sont synchrone c'est-à-dire il faut les synchroniser en utilisant des hormones artificiels ; elles sont obligatoirement suivi gynécologiquement ; par écographie pour avoir ainsi le jour exacte de l'ovulation et donc la saillie.

une fois la jument donneuse est fécondée son embryon ne doit dépassé la semaine dans son utérus il est retiré et mis dans l'utérus de la porteuse au 7eme jour (au stade blastula) (11/12), transplanté dans l'état frais ou encore congelé il doit avoir la taille conforme « un embryon de qualité » pour qu'il soit implanté normalement d'où l'avantage de cette technique nouvelle est pratique le TE ,qui permet de transférer que les embryons de qualités ;deux techniques sont utilisées la chirurgicale et la non chirurgicale « par siphonage » pour avoir l'embryon avant ça l'ovule, on peut faire une super ovulation pour obtenir non pas un seul ovule mais encore un nombre élevé ,c'est ce qui est fait réellement dans les centres de transplantation embryonnaire d'autre buts encore de ce dernier sont mis en évidence .

Après avoir parlé sur quelques généralités a propos de la physiologie de la jument et son anatomie de l'appareil reproducteur on aborde la transplantation embryonnaire et ses spécificités chez l'espèce équine.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I-Anatomie et physiologie de l'appareil génitale chez la jument

I/Anatomie et physiologie de la reproduction chez la jument :

I-1/Approche sur l'anatomie de l'appareil génital de la jument :

L'appareil génital de la femelle a pour rôle, d'une part l'élaboration des gamètes et des hormones sexuelles, et d'autre part d'être le siège de la fécondation, de la gestation et de la mise bas. L'appareil génital peut être divisé en trois grandes parties selon leur fonction : la section glandulaire, constituée par les ovaires qui produisent les ovocytes et différentes hormones. la section tubulaire, constituée par les voies génitales proprement dites, et qui présente trois étages : les trompes utérines captent les ovocytes et sont le siège de la fécondation ; l'utérus reçoit l'œuf fécondé, permet la mise en place du placenta puis le développement fœtal ; enfin le col de l'utérus et le vagin séparent le corps de l'utérus du sinus uro-génital.

Le sinus uro-génital est constitué du vestibule du vagin et de la vulve, qui permettent de recevoir le pénis de l'étalon lors de la saillie ainsi que le passage du nouveau-né lors de la mise bas.

Nous décrivons l'appareil génital femelle de la partie la plus caudale à la plus crâniale :
La vulve : ensemble des parties extérieurs de l'appareil génitaux-urinaire (fais partie de la filière pelvigénitale et comprend le méat urinaire).
Le vagin : partie de la filière pelvigénitale (trajet parcourus par le fœtus) située dans la ceinture pelvienne et s'étendant du col utérin a la vulve.
Col utérin : d'environ 10cm de longueur extrémité inferieur 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 absence de chaleurs ou de gestation.
L'utérus : organe constitué du corps proprement dit de l'utérus qui s'ouvre sur le col utérin, vers l'extérieur, et qui, du coté postérieur, possède deux cornes utérine divergente qui débouchent sur les oviductes. L'utérus est l'endroit ou l'embryon se développe est se nourrit. Il produit en outre des hormones et sert de réceptacle à la semence lors de la monte naturelle.
L'oviducte : long conduit à circonvolutions allant de l'infundibulum a la corne utérine correspondante. Sert a acheminé le sperme et l'ovule vers le site de la fécondation qui se trouve dans le tiers supérieur de l'oviducte (l'ampoule). L'ovule fécondé est ensuite transporté jusque dans l'utérus.

L'ovaire : gonade (glande sexuelle) de la jument. L'ovaire produit l'ovule qui sera fertilisé et sert de glande endocrine produisant les hormones qui sont les œstrogènes et la progestérone.

Ligament large : couche résistante du tissus fibreux renfermant des vaisseaux sanguins et des nerfs qui sert a suspendre la majorité du tractus génitale dans l'abdomen.

L'infundibulum : structure en forme d'entonnoir venant coiffer l'ovaire a l'extrémité de l'oviducte et permettant de capter l'ovule libéré a l'ovulation et de le transporté jusque dans l'oviducte.

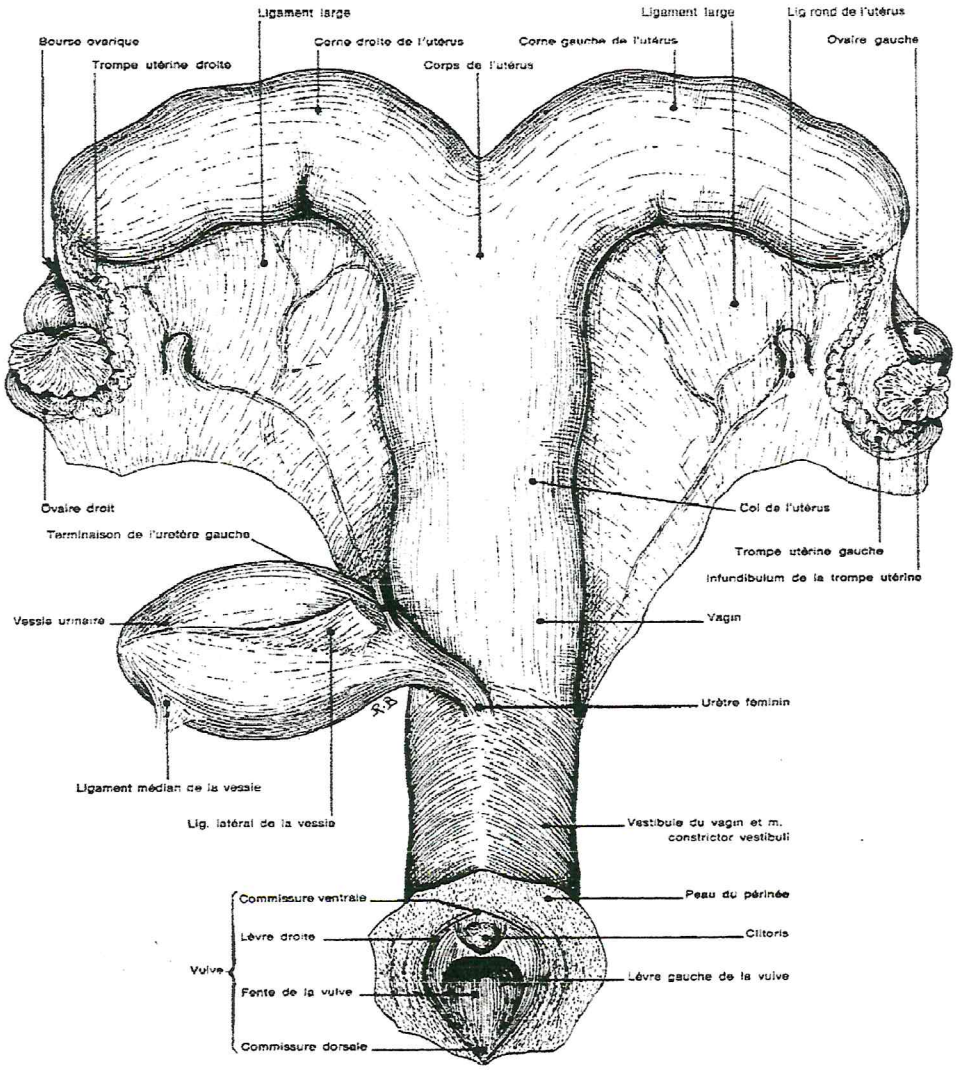


*Figure.*1 *Appareil génital d'une jument vue ventrale après isolement et étalement (7).*

I-2/Particularités de la physiologie du cycle sexuelle chez la jument :

I-2-1/Comportement de la jument en chaleurs :

Comme l'étalon ; la jument Quand elle est réceptive, elle adopte un comportement particulier. Elle commence par aller vers l'étalon. Quand celui-ci s'approche, elle relève la queue et urine (urine qui contient la LH). Puis, elle présente un clignotis de la vulve(15). Ce clignotis est en fait un mouvement de la vulve de la jument qui fait ressortir le clitoris pour le présenter à l'étalon en signe de l'excitation de la jument (1). Ce signe particulier permet aussi de faire descendre le col de l'utérus et de le relâcher afin de permettre une bonne entrée des spermatozoïdes. Enfin, la position ultime est le campement : la jument écarte les postérieurs, cambre le dos en relevant la tête(13). Cette position est le signe le plus explicite d'une jument en chaleur et ayant une bonne réceptivité.si a l'approche de l'entier elle tape rude et s'énerve c'est quelle n'est pas encore prête.

De nos jours et pour une bonne métrise de la reproduction, les juments sont séparées des étalons afin de contrôler les généalogiques et filiations

I-2-2/hormone sexuel et cyclicité :

Chez la femelle, l'ovaire est l'organe au sein duquel se développent, avant d'être expulsées, les ovules. Ces ovules sont enfermés dans un sac constitué par des cellules épithéliales, c'est l'ovisac ou follicule ovarien ou follicule de deGraaf(12).

Pendant toute la période précédente (la puberté), ces ovisacs se développent petit a petit, puis a un moment donné, lorsqu'ils atteints une taille suffisante, l'évolution se précipite sous l'influence des gonadostimulines.

Les follicules se remplissent d'un liquide albumineux, ou liquide folliculaire, et l'ovaire commence à secréter la folliculine sous l'influence de laquelle apparaitront les caractères sexuels secondaires qui consistent en une croissance de l'utérus, un épaississement de l'endomètre, des modifications somatiques et des transformations psychiques(13).

L'hypophyse a une action sur les ovaires et vis-vers-ça ; avec l'interaction et sous l'influence des hormones on déduit différentes phases.

I-2-2-1/Les différentes hormones :

-Les hormones ovariennes :

œstrogènes/progestérone : ce sont des hormones stéroïdiennes peuvent être obtenue par synthèse, elles sont identique dans les différentes espèces, ne risque pas de provoquer de réaction immunologiques lorsque elles sont employées en injection

-Les gonadotrophines hypophysaires :

FSH / LH : ce sont des hormones protéiques qui ne peuvent pas être obtenue par synthèse, elles peuvent avoir une activité réduite quand elles sont employées dans une autre espèce que celle dont elles proviennent, chaque espèce a ces gonadotrophines spécifiques

-Les gonadotrophines placentaires :

PMSG : c'est une hormone protéique qu'on trouve que chez la jument entre le 40eme et le 120eme jour de la gestation ,elle a un fort effet FSH et un faible effet LH chez la jument ,ses effets ,a dose égale ,sont bien moins nets, rôle pendant la gestation pas encore déterminé

HCG : elle est extraite de l'urine de femme enceinte elle a un fort effet LH et un faible effet FSH sont utilisation est largement répandue chez la jument pour induire l'ovulation .La prudence nous dicte d'éviter l'emploie de dose excessive et fait préférer la voie intraveineuse aux voies intramusculaire et sous-cutanée.

I-2/Saisonnalité :

La saisonnalité est l'alternance entre l'anœstrus (automne /hiver) et l'activité cyclique (printemps /été) ; Elle est gouvernée par le système nerveux central(9).

En fait, l'hypothalamus intègre les messages émis par l'environnement et recueillis par le cerveau, il les transforme en message hormonal ; le message le plus signifiant de la saison pour le cerveau est la durée de la nuit(12) ; la mélatonine, hormone sécrétée pendant la phase obscure par la glande pinéale (l'épiphyse) indique au cerveau la durée de la nuit .

I-2-1/saison anovulatoire :

Elle s'étend durant les mois d'hiver ou les jours sont plus courts, Cette saison est caractérisée par l'absence d'ovulation et un taux de progestérone plasmatique proche de zéro(5), on prend même en considération qu'il peut exister des périodes de chaleurs, survenant de façon irrégulière, mais qui restent anovulatoires.

L'activité folliculaire reste très faible pendant la plus grande partie de cette période, à l'exception dune phase terminale caractérisée par une reprise de la croissance des follicules. On distingue donc une phase d'anœstrus profond (8); caractérisé par :

- des ovaires petits avec des follicules inférieurs à 5 mm de diamètre ne dépassent pas l0 mm(8) ; bien que d'autres études histologiques sur des ovaires (dans différentes périodes de l'année) ont montrées qu'il n'existe pas de différence entre population folliculaires des période d'anœstrus ou fin de période de reproduction.
- Le col est dur, ferme, facile à individualiser par palpation transrectale.
- L'utérus est atone, flasque, difficile à individualiser.
- Les niveaux de FSH et LH sont bas.

Une phase d'anœstrus dit superficiel ou période de transition caractérisé par :

- Les ovaires sont plus actifs, avec des follicules de 5 à 30 mm.
- Le col est pale, dur, ferme, facile à individualiser par palpation transrectale.

I-2-2/Saison ovulatoire :

C'est une période de reproduction, elle se déroule pendant les mois a jour long et qui est une succession de cycles œstraux(5), chaque cycle comporte une période de chaleur, L'œstrus aboutissant a l'ovulation suivie d'une période de maturation du corps jaune autrement dit, Elle s'étend de la première à la dernière ovulation.

I-3/ Cycle ovarien de la jument:

Le cycle œstral est défini comme la période allant d'une ovulation à l'ovulation suivante, chaque ovulation étant accompagnée de signes d'œstrus et de concentrations Plasmatiques de progestérone en dessous de 1 ng/ml(8).

La durée du cycle œstral est de vingt et un jours en moyenne (entre 19 et 21 jours) avec six jours de chaleurs (variable) 15 jours d'interœstrus.

Le cycle œstral peut être divisé en trois phases : l'œstrus (phase folliculaire), l'ovulation et le di œstrus (phase lutéale) (15).

I-3-1/Phase folliculaire :

Les follicules ont tendance à croitre par « vagues folliculaires » a raison de deux vagues par cycle(8). La croissance folliculaire se décompose en 2 phases, une non régulée indépendante de l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien et une régulée dépendante des sécrétions (celle-ci étant absente pendant une partie de l'anœstrus saisonnier). Chaque jour quelque « follicules primordiaux » jusque la quiescent débutent leurs croissance.

Pendant la première phase non régulée et par multiplication de cellules folliculaire l'ovocyte débute la maturation en augmentant de taille puis après 85 jours et par la sécrétion de ces même cellule d'un liquide folliculaire, une cavité dite cavité folliculaire se forme .le follicule augmente encore de taille, il devient sensible a l'action de la FSH et LH quand il atteint une taille de 5 à 10 mm de diamètre , la phase régulée débute ainsi(2) .Tout les follicules cavitaires sont sensibles et donc ils seront « recrutés » suivant une croissance et une maturation rapide après quelque jours, parmi ces follicules recrutés un ou deux sont « sélectionnée » le follicule dit dominant va devenir préovulatoir , ovule que si la décharge gonadotrope est ovulatoire(16).

Ces périodes sont variables et d'une durée non définis , le follicule dominant ovule après la régression du corps jaune du cycle précédent ,son diamètre est de 30 à70 mm avec une moyenne étant de 40 à 45 mm de diamètre(17) .Les follicules ovulatoires sont souvent de 46mm tôt dans la saison de reproduction (mars à mai) comparés a ceux 40mm qui ovulent au plus fort de la saison (juin et juillet).

I-3-2-/Œstrus et ovulation :

Au cours de cette phase, la jument est sexuellement réceptive à l'étalon ainsi que son tractus génital Qui est apte à accepter et transporter le sperme jusqu'aux oviductes pour fécondation

Durant l'œstrus, le follicule dominant synthétise et sécrète des œstrogènes, la libération de l'ovocyte est un procédé rapide, arrive approximativement 24 à 48heures avant la fin de la période de réceptivité sexuelle (œstrus)(12), a la suite de cette libération la cavité du follicule

commence a ce remplir de sang ;elle est palpable comme structure souple et pâteuse dans les 12heures qualifiée de « corps jaune » ; atteint la taille maximale dans les 2jours qui suivent, sa consistance durcis progressivement .l'écographie permet la différenciation entre follicule et corps hémorragique.

La période écoulée par rapport au début des chaleurs est variable. A peu près 80% des juments ovulent dans les 48h heures avant la fin de l'œstrus(8). L'ovulation semble avoir lieu plus fréquemment la nuit.

Il existe que l'ovulation soit double dont l'incidence est de 4a44 % d'une moyenne de 16% voir même triple mais d'une faible incidence de 1%(15). La longueur de l'œstrus est ainsi variable elle peut allez de 2 à 12 jours plus élevée pendant la saison de reproduction, elle est donc influencé par de variable facteurs tels que les facteurs environnementaux, régies d'élevages, et des prédispositions génétiques.

Cette ovulation peut être induite expérimentalement en utilisant des hormones (hormone de même espèce) ou encore la superovulation.

I-3-3/Phase lutéale :

Au cours du dicestrus, la jument refuse l'étalon et le tractus génital est préparé à accepter l'embryon. Sous l'action de la « Prostaglandine » Le dicestrus se termine par la régression du corps jaune également appelée « lutéolyse » 14 ou 15 jours après l'ovulation, et le début d'une nouvelle phase folliculaire un ou deux jours plus tard. La longueur du dicestrus reste relativement constante de 14 à 15 jours et n'est pas affectée par la saison(8).

II-Production d'embryon chez la jument

II-Production d'embryon chez la jument :

II-A-Généralité

II-1/Définition :

Le transfert embryonnaire est une méthode biotechnologique consiste a prélevée un embryon issu in vivo ; d'une femelle dite donneuse soit par saillie naturelle ou après une insémination artificielle(15), pour le remettre à une autre femelle dite receveuse ou porteuse, ou il va poursuivre son développement jusqu'à terme, qui par la suite va assurer encore sa lactation.

II-2/Historique :

Le premier transfert d'embryons rapporté a été réussi chez l'espèce lapine par Walter Heape de l'Université de Cambridge en 1890. Ce n'est que 40ans plus tard, soit en 1930, qu'on a pu reproduire les mêmes travaux chez les animaux domestiques, cette technique est pratiquée chez la vache, la jument, la chèvre et la brebis. Chez les animaux exotiques, elle y trouve une application chez des espèces comme les chevreuils, les wapitis, les bisons, les chats sauvages (35).

Chez l'espèce équine la première transplantation a eu lieu en 1972 par Oguri et Tsutsumi. Cependant ce n'est que dans les années 80 que ces deux auteurs annoncent le premier succès de transfert d'embryon chez la jument. (36)

En France, les premiers essais de transfert ont débutés en 1982. Du matériel de transfert conçu pour les bovins a d'abord été utilisé puis un matériel plus spécifique à l'espèce équine a progressivement été mis au point pour permettre en 1985 de réaliser la première transplantation embryonnaire commerciale à l'INRA de Tours sur la jument Blandice de Monsieur Rocherfort. (42)

Le transfert d'embryon est actuellement la technique de reproduction assistée la plus largement utilisée chez la jument.il est également utilisé comme outil de recherche. (Vanderwall, 2000).

II-B/Aspects techniques :

II-1-/Préparation des donneuses :

II-1-1/Sélection et traitement :

Pour obtenir de meilleur résultats il est préférable voire essentiel de faire un examen gynécologique (transrectale par écographie , biopsie utérine) (26) et ceux afin de prévoir toute anomalies dans l'appareil reproducteur qui assure ainsi une fécondation (chez la donneuse) et la gestation pour la (receveuse) il est donc impérative que la jument soit de très bonne santé ,de jeune âge, cyclique et qui a un bon passé reproducteur, (les jument subfébrile ou âgée ont un taux de récolte faible concernant la receveuse).

Il faut exploité au maximum les cycles de la jument durant l'année car il est couteux de faire une superovulation chez cette espèce qui nécessite l'FSH de la jument elle-même (récolté au niveau de l'abattoir) un traitement photopériodique aboutissent a un éclairement de 15 a 16h par jour est appliqué au 1er décembre permet également d'obtenir des jument prématurément cyclées(5) , puis une injection lutéolytique au jour de la récolte permet de réduire l'interœstrus ; en augmentant ainsi le nombre de cycles exploitables , les juments en bonne santé peuvent donnée 6 a 8 embryons par an(11).

II-1-2/synchronisation:

Afin de maximiser la chance de succès de la procédure du transfert d'embryons chez le cheval la synchronisation du moment de l'ovulation entre les groupes de juments donneuses et receveuses est la méthode de choix.

Cette synchronisation est beaucoup plus complexe chez l'espèce équine que chez l'espèce bovine à cause de la grande variation individuelle dans la longueur de l'œstrus chez la jument et l'influence de la saison sur l'ovulation.
La méthode utilisée pour induire l'ovulation à un moment donné doit imiter le processus qui induit l'ovulation de manière naturelle.

La capacité d'une seule injection d'une faible dose de prostaglandine F2α (PGF2α), ou de divers analogues de la prostaglandine, à induire une lutéolyse rapide chez la jument en dioestrus a fourni les bases des méthodes de traitement utilisés pour contrôler l'ovulation. (Allen, 1982a)
deux types de protocoles sont actuellement utilisés en matière de reproduction équine.

Le premier consiste en deux injections de PGF2α ou d'un analogue de synthèse (Fluprostenol 250g) à 14-15 jours d'intervalle chez des juments cyclées.il en résulte que 90% des juments présentent un œstrus 6 jours après la deuxième injection et environ 75% ovulent dans les 20 à 24 jours après la première injection. (Duchamp *et al.* 1987)

Le second qui semble être le plus performant consiste en un traitement mixte de progestatifs (Allyltrenbolone) à raison de 40mg par jour per os pendant 7 à 10 jours suivi d'une injection de prostaglandine ou d'un analogue le dernier jour du traitement. L'ovulation a lieu autour du $9^{ème}$ jour après la dernière injection avec une variabilité assez importante. Ceci peut être associé ou non à l'utilisation de human Chorionic Gonadotrophin (hCG-5UI/Kg IV ou IM) ou de Deslorelin acétate, un agoniste de la Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) (ovulpant® ; 2,2 mg) (39). Ceci permet d'induire l'ovulation dans les 24 à 48 heures si l'injection est faite en présence d'un follicule souple de diamètre supérieur ou égal à 35 mm. (Vanderwall, 2000) (52)

Ainsi une injection de Chloprostenol, un analogue de la prostaglandine, après la récupération d'un embryon induit un œstrus dans les 2 à 3 jours et la jument doit donc ovuler dans les 4 à 5 jours qui suivent. Suite à un accouplement, la récolte d'un embryon sera donc à nouveau possible 7 jours plus tard ; cette méthode permet donc d'obtenir des cycles de 13 à 15 jours (Allen, 1982b).

II-1-3/Insémination artificielle :

Les techniques d'insémination artificielle permettent d'obtenir une fertilité proche de celle obtenue en saillie naturelle, elle s'effectue idéalement dans les 24 heures avant l'ovulation. La jument est donc suivie par échographie pour effectuer l'IA 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 ovulée et elle est inséminée à nouveau, il est ainsi nécessaire d'effectuer 2 à 3 insémination par chaleur en début de saison de monte puis ce taux diminue légèrement dans la suite de la saison(34).

La jument devrait être inséminée et est préparée aussi soigneusement que pour une saillie. L'insémination est effectuée par un manipulateur ayant des gants stériles et qui dépose la dose de sperme contenant un minimum de 200 millions de spermatozoïdes,(15) directement au niveau du col de l'utérus de la jument en chaleur ce que la monte naturelle ne peut garantir, le dépôt de la semence se fait à l'aide d'une sonde et une seringue. Tous les instruments sont

stérilisés au préalable.

En diluant le sperme, il est possible de l'utiliser sous forme de doses et ainsi augmenter le nombre de juments fécondées par le même étalon (entre 4 à 6 juments par prélèvement) (34) . Le rendement moyen d'un cheval est donc multiplié par 5. Les étalons passent moins de temps à la saillie et peuvent poursuivre plus facilement leur carrière de compétiteur en parallèle à celle de reproducteur.

L'absence de contacte directe entre l'étalon et la poulinière permet la quasi-absence de transmission de maladies vénériennes (46).

Les étalons prélevés sont systématiquement examinés médicalement et les poulinières ont un suivi gynécologique régulier. L'hygiène sanitaire en est fortement améliorée et les résultats sont satisfaisants. De plus, l'insémination artificielle permet la congélation du sperme ce qui peut, éventuellement, augmenter artificiellement la reproduction d'un étalon géniteur après sa mort ou sa castration.

L'IA est autorisée pour l'espèce équine sous certaines conditions. Elle doit être pratiquée dans des centre agrées par le ministère de l'Agriculture et par des agents titulaires d'une licence de chef de centre ou d'inséminateur en espèce équin(51).

II-1-4/La superovulation :

II-1-4-1/Définition :

Ce traitement permet d'induire, au cours d'un même cycle, la croissance de plusieurs follicules préovulatoires (35), qui doivent aboutir à la production de plusieurs embryons viables par cycle.

Dans l'espèce équine, l'association de cette technique à celle du transfert d'embryons permettrait de proposer aux éleveurs un moyen d'augmenter la productivité des juments.

II-1-4-2/Particularités chez l'espèce équine et hormones utilisées :

Chez la jument, espèce mono-ovulante, au cours de la phase folliculaire, la FSH endogène ne stimule l'émergence et la croissance des follicules qui sécrètent des quantités croissantes d'œstradiol et d'Inhibine jusqu'à l'ovulation.

L'Inhibine est une protéine qui exerce un rétro-control négatif sur la sécrétion de l'FSH hypophysaire. Quand le follicule dominant atteint environ 20 mm, la FSH endogène est

fortement déprimée et seul le follicule dominant peut atteindre la taille préovulatoire et ovuler lors de la montée de la LH(38).

Les traitements de superovulations consistent à compenser la dépression de la FSH endogène, soit en injectant une hormone à activité FSH ou la FSH équine en elle-même, soit en stimulant la production de FSH endogène par neutralisation de l'Inhibine. L'immunisation anti-inhibine peut être active (vaccination anti-inhibine) ou passive (injection d'anticorps anti-inhibine) (39).

II-1-5/Suivie ovarien :

Pour déterminer le jour de la récolte et pour ne pas tomber dans l'erreur de décalage il est obligatoire de faire un suivie gynécologique dés le début de l'œstrus(4). Ce suivie est fais par écographie qui permet de suivre la croissance folliculaire (d'un ou de plusieurs follicules) par la suite l'ovulation qui va déterminer le jour de la saillie ; les résultats sont obtenus par saillie en monte en main ou par insémination artificielle (plus utilisé en pratique).

II-2/préparation des receveuses :

II-2-1/ sélection et traitement :

Il est très important de bien choisir les receveuses car avant de voir les capacités maternelle il faut d'abord être vigilant dans l'examen gynécologique qui permet l'étude de certains paramètres : la présence, la taille la consistance et l'activité des ovaires, la conformation et l'anatomie du cervix, du vestibule, du vagin et de l'appareil externe(27). Pour assurer ainsi un bon déroulement de développement de l'embryon et par la suite du fœtus qui lui a été confié, en premier et avant tout une taille normale d'un utérus aurait une incidence sur la taille du poulain à la naissance; l'effet de la receveuse sur le poulain est davantage dû à des facteurs gestationnels (irrigation sanguine, volume utérin) qu'à des effets postnataux (lactation par exemple). Pour cela il faut éviter les races de petite taille comme receveuse(19).

Pour certains chercheurs la jument receveuse doit avoir un jeune âge compris entre 3 et 10ans, pour d'autres l'âge optimal est de 5 à 7ans; la sélection devrais fondre sur l'examen externe (conformation) ou interne (kyste utérin, œdème de l'endomètre, tumeur ovarienne) de

III-Récolte d'embryon

III/Récolte d'embryons :

III-1/choix du jour de la récolte :

C'est la physiologie du développement embryonnaire pré-implantatoire qui détermine en réalité le jour de la récolte : l'embryon doit être descendu dans les cornes ou le corps de l'utérus et il ne doit pas être à un stade avancé au moment de la récolte.

D'après certaines expériences on suppose que l'embryon équin après son transit intra-tubaire pouvait gagner l'utérus dès le 5ème jour après ovulation(40). Mais, les taux de récolte sont assez faibles à cette date. Par contre, des récoltes réalisées aux 7ème, 8ème et 9ème jours après l'ovulation ont donnés de meilleurs résultats qu'une récolte faite le 6ème jour(53). Cependant, après toutes ces études, on n'a pas pu déterminer l'âge réel de l'embryon le jour de la collecte, puisque l'ovulation n'a était déterminée par échographie que de matière quotidienne.

Il semble que la totalité des embryons parviennent dans l'utérus entre le 6ème jour (144ème heure) et 6.5ème jours (156ème heure) après ovulation. BATTUT et al, ont montrés après un contrôle échographique plus précis de l'heure d'ovulation que le taux de collecte n'était pas différent entre des récoltes réalisées à la 156ème heure (6.5 jours) et la 168ème heure (7 jours) post ovulation, alors qu'il était nul si la récolte était effectuée à la 144ème heure (6 jours). Soit en déterminant plus précisément la date d'ovulation par suivi bi ou quadri quotidien ce qui permet, en réalisant la récolte à 6.5 jours après constat de l'ovulation, d'obtenir des embryons âgés de 6 .75 +/- 0.25 jours (suivi biquotidien) ou de 6.25 +/- 0.125 jours (suivi quadriquotidien) ce qui peut être nécessaire dans certaines conditions (congélation d'embryons, endométrite) (43).

Soit en récoltant plus tardivement à partir du 7ème jour après constat de l'ovulation si le suivi gynécologique n'est que quotidien (âge de l'embryon = 7.5+/-0.5 jours)

À partir du 6ème jour l'embryon augmente de taille de manière très rapide alors qu'à partir du 7ème jour se développe au sein de la masse cellulaire embryonnaire une cavité appelée Blastocœle. À ce stade les embryons et leur blastocœle deviennent plus fragiles et leur manipulation est plus délicate.

Il n'est pas souhaitable de transférer un embryon âgé de plus de 8 à 9 jours malgré que la vésicule embryonnaire reste mobile dans l'utérus jusqu'au 16-17ème jour de gestation.

Malheureusement il n'existe que très peu d'études comparatives des taux de gestation en fonction de la taille et de l'âge des embryons lors d'un transfert d'embryons. Dès 1982, SQUIRES et al. Avaient montrés que le transfert d'embryons de 8 jours donnait significativement plus de gestations que celui d'embryons de 9 jours (32% contre 4%). De

plus, le taux de gestation après transfert est significativement plus faible lorsque la taille de l'embryon est plus importante. (41, 47)

III-2/technique de la récolte :

La technique de la récolte consiste à introduire une sonde de 8mm de diamètre par voie vaginale : et ceux après une désinfection de la partie péri vaginales, la sonde est munie d'un ballonnet après avoir atteint sa place le ballonnet est remplis de 50a 60ml d'aire ou de milieu de collecte(12),Le lavage sera fait âpres l'introduction d'un liquide physiologique PBS d'une température physiologique qui est de 37degrée ; par gravité d'après la sonde.

Il est laissé un temps de 3 a 6mn puis il est siphonné par gravité et par l'aide des contractions utérines, il n'est donc pas préférable voir déconseillé d'utilisé des tranquillisants qui entraine fréquemment de relâchement du tonus utérin qui par la suite ne permet la sortie du liquide introduit . Avant ça, Un massage par voie transrectale de l'utérus peut être pratiqué pour améliorer la répartition du liquide (dans l'utérus) de collecte et favoriser son retour lors du siphonage, d'autre auteurs ont d'autres avis opposés ils préfèrent éviter de pratiquer ce massage transrectal afin de diminuer le risque de contamination, et préfèrent donc de stimuler les contractions utérines en maintenant une main dans le vagin pendant toute la durée de la collecte. PBS (Phosphate Buffered Saline) le liquide utilisé pour le lavage utérin ; modifié, enrichi de 2 à 4g/l d'albumine sérique ou de sérum sanguin à 1 ou 2 %(4). La quantité du liquide employé à chaque lavage est de l'ordre de 1 litre et l'opération est renouvelée pour chaque récolte 2 ou 3 fois. Enfin, si aucun embryon n'a été collecté lors d'une première collecte, un nouveau lavage peut être pratiqué car si la moitié des embryons (cas de superovulation) collectée lors du 1er rinçage, il est possible d'en récupérer au 4eme voire au 5eme rinçage utérin.

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

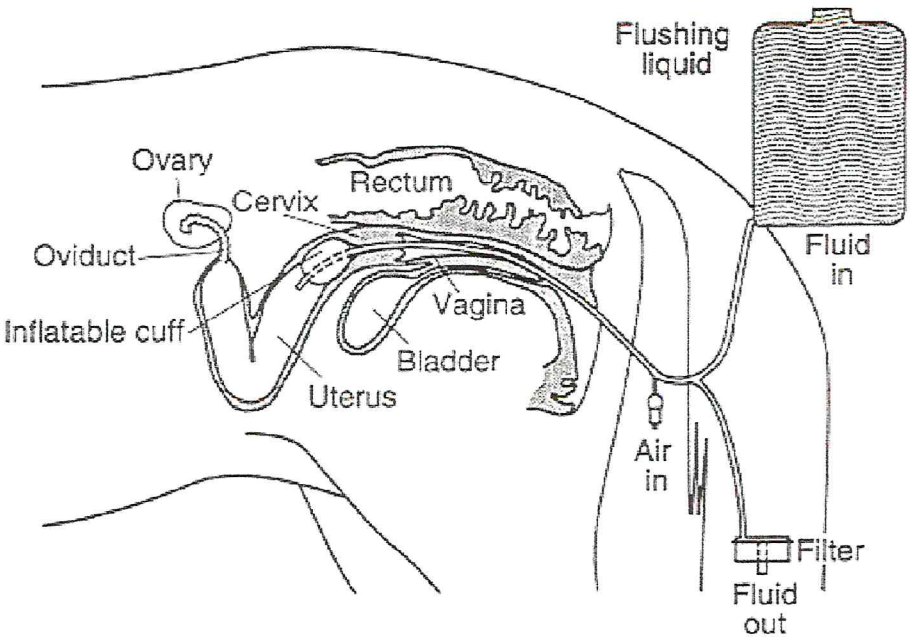


Figure. 2 Schéma montrant la sonde de récolte en place dans l'utérus d'une jument (33)

III-3/ recherche et évaluation de l'embryon :

III-3-1/ méthode de recherche de l'embryon :

On utilise deux méthode pour rechercher l'embryon et ceux comme suit :

-Première méthode : elle est trop facile mais un peut lente, on laisse décanter le liquide récolté et qui contient l'embryon équin dans une température ambiante de 25 dégrée a peut prés avant ça on laisse le liquide reposer pour quelque temps pour permettre a l'embryon qui est de poids lourd de sédimenté au fond ,les 900ml sont siphonné pour ne laisser que les 100 ml(50CC) contenant l'embryon a examiner sous la loupe(34) .

-Deuxième méthode : celle-ci est plus utilisée, c'est une méthode rapide et pratique consiste à faire passer le liquide récolter dans un filtre et ceci est fais immédiatement après récolte le filtre est de 67 µm (IMV, L'aigle) ; Après filtration, il ne reste plus qu'une 20ene de millilitres dans le filtre(4).

Le liquide obtenus après décantation ou celui qui reste après filtration est mis dans des boites de pétris quadrillées stériles et rondes (typiquement 100 à 150 mm de diamètre et 15 mm de

profondeur) et l'embryon est recherché au moyen d'une loupe binoculaire (grossissement x 40 à 80) (26).

III-3-2/évaluation

III-3-2-1/Stade de développement :

Bien que les embryons soient tous collectés à J7pour d'autre a 8 ou encore a 9jours (9 jours après ovulation constatée), Leur stades de développement peut être différent et est donc évalué, au début du développement l'embryon ne grossie presque pas Il passe de la taille de l'ovocyte (100 à 160 µm) à 120 à 180 µm au stade 16 cellules (Squires, 1995) (2), On peut repérer Éventuellement des ovocytes non fécondés qui pourraient être présents dans les cornes utérines dans 3% des cas (Squires, 1982) afin de ne pas les traiter.

La classification suivante est dérivée d'une classification bovine (Merton, 2002) (2,33). Les stades sont décrits dans l'ordre Chronologique de leur développement dans la cavité utérine et cela jusqu'à une limite extrême du jour de collecte :

- Morula, 5ème-6ème jours post ovulation :

Zone pellucide (ZP) épaisse, toujours visibles (Betteridge *et al*, 1982). Blastomères plus ou moins condensés, La taille de l'embryon est

Comprise entre 145 et 174 µm.

- Jeune blastocyste, 6ème-7ème jours :

Diminution de la ZP, apparition de la capsule (Oriol, 1994) entre la ZP et le trophoblaste,

Blastocœle présent (<50% du volume de l'embryon) (Merton, 2002).

- Blastocyste :

Zone pellucide devient de plus en plus fine et s'étire (McKinnon *et al*, 1989 et Hochi *et al*, 1993) Blastocœle >50%, masse cellulaire interne et trophoblaste bien discernables.

- Blastocyste épanoui, 7ème-8ème-9ème jours :

L'embryon sorti de sa zone pellucide est alors uniquement entouré de la capsule, structure particulière aux embryons équins (décrite ultérieurement) et il est alors appelé aussi blastocyste expansé

Disparition de la ZP, capsule intacte, augmentation de diamètre.

- Blastocyste éclos :

Forte augmentation de taille. L'embryon sorti de sa zone pellucide est alors uniquement entouré de la capsule, structure particulière aux embryons équins (décrite ultérieurement) et il est alors appelé aussi blastocyste expansée(4)

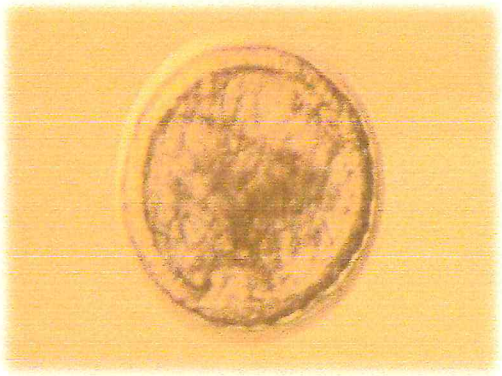


Figure.3 Photo d'un jour blastocyte équin [180µm] (Photo : A Allard)(4)

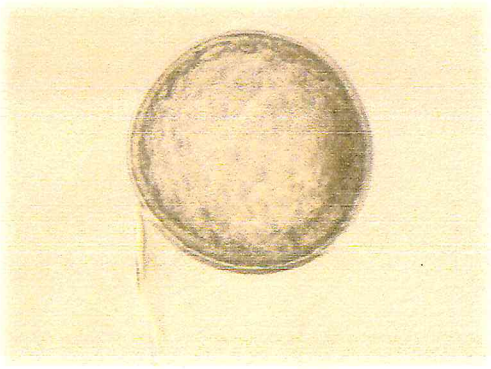


Figure.4 Photo d'un blastocyte équin en cours d'éclosion [310µm] (Photo : A Allard)(4)

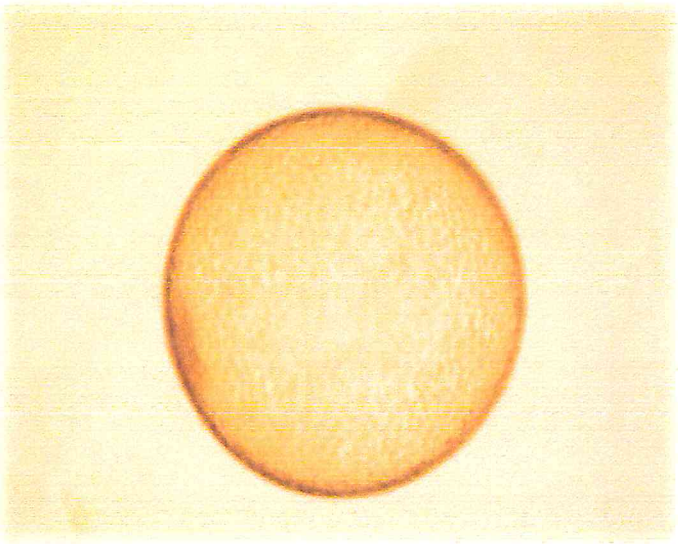


Figure.5 Photo d'un blastocyste expansé équin [660 µm] (photo A.Allard) (4)

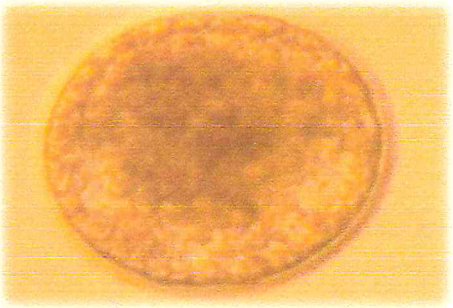
III-3-2-2/Evaluation qualitative :

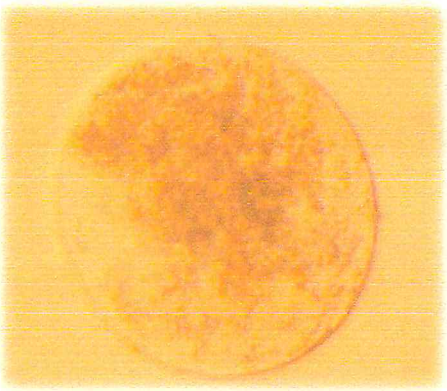
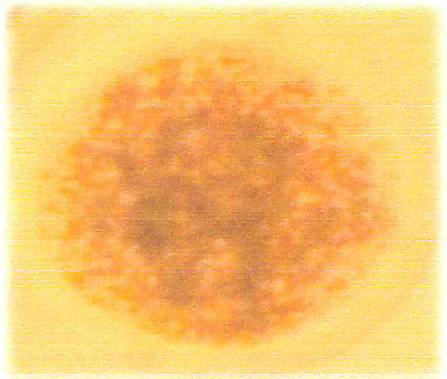
Une note de 1 à 5 (McKinnon et SQUIRES) (Betteridge 1989) est donnée après classification qualitative également réalisée selon les critères suivants:

La compaction des blastomères, l'expulsion des blastomères dans l'espace périvitellin, la couleur de l'embryon, la forme générale de l'embryon, les altérations de la ZP et de la capsule et la proportion de l'espace périvitellin occupé par la masse embryonnaire (Slade,1985 ; Squires, 1995)(4) l'évaluation permet d'éliminer les embryons de mauvaises qualités avec

lesquelles leur taux de sucées après transfert embryonnaire est diminué (17% pour un embryon de stade 4) Les variations notées sont dues soit à l'ajout du cryoprotecteur soit à la congélation/décongélation. Le tableau1 suivant montre les 4 grades de qualités(32) :

Tableau1 : Evaluation de l'embryon par : A. McKinnon et J.L.Voss et Febiger 1993 (4)

Embryons	Qualités et grades	Commentaires
	1 : excellent	Embryon idéal, sphérique, cellules de taille, couleur et texture uniformes
	2 : bon	Imperfections légères : quelques blastomères expulsés, forme de l'embryon irrégulière, séparation du trophoblaste
	3 : correct	Problèmes bien définis mais peu sévères : blastomères expulsés, cellules dégénérées, ou blastocœle collabé (embryon contracté)

	4 : médiocre	Problèmes sévères : blastocœle collabé, nombreux blastomères expulsés, cellules dégénérées mais masse embryonnaire apparemment viable
	5 : mauvais	Oocyte non fécondé ou embryon dégénéré

Des testes sont actuellement disponibles :

L'analyse morphologique (Squires et Garcia 1985) trop subjective, l'analyse histologique, fiable mais irréversible.Une étude comparant deux méthodes d'analyse : mesure du métabolisme embryonnaire et fluorescence des cellules mortes marquée au DAPI (Huhtinen *et al* 1995) a permis de montrer la fiabilité de ces deux tests indépendants. Ainsi, le test de marquage au DAPI, fiable, efficace, n'est pas préjudiciable pour l'embryon, puisque des gestations, des poulinages et des poulains totalement sains ont été obtenus avec des embryons préalablement testés (Huhtinen *et al* 1997, Lagneaux *et al* 1997) (11,18). Ce test est un outil indispensable pour tout progrès « de recherche sur l'embryon ».

III-3-3/diamètre et identification de l'embryon :

En cas ou on veut faire un transfert embryonnaire non immédiat et on doit avoir recours a la congélation, on étudie les différent diamètres celui interne (embryon sans la ZP et la capsule) et celui externe ;(4) que l'on traduit ensuite par des volumes dont on étudie les

variations, comme le reflet des flux osmotique au cours des différentes phases de la cryoconservation(13).

Ces volume sont relatifs aux volumes initiaux de chaque embryon qui sont comparés puisque aucun embryon on n'a la même taille a la collecte. Et pour cela Le dernier critère que l'on observe également au grossissement 90 à la loupe binoculaire est « le diamètre » ; appréciés à l'aide de graduations intégrées dans le système optique de la loupe.

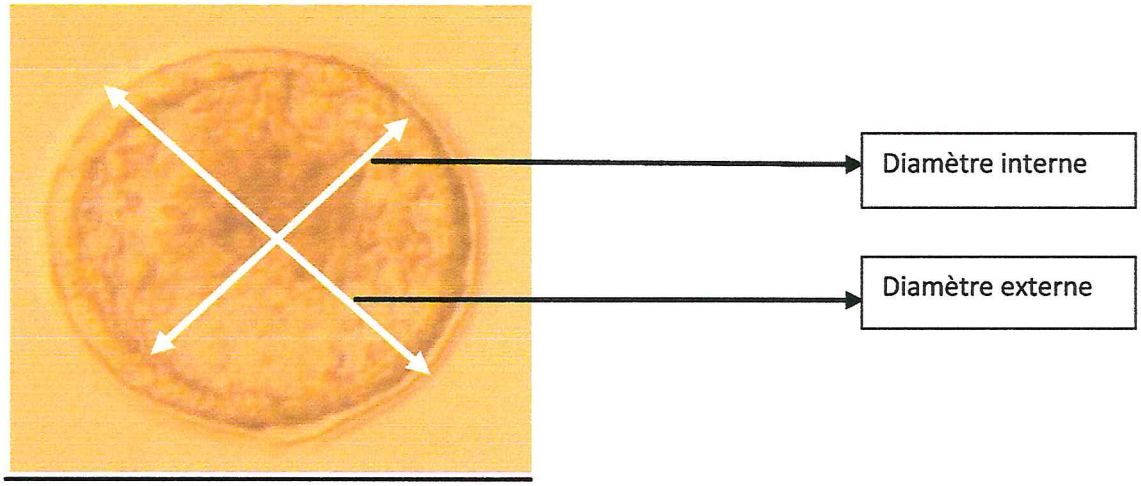


Figure .6 diamètre à évaluer au cours de l'expérimentation(4)

III-3-4/Traitement de l'embryon :

L'embryon est lavé successivement dans des bains « milieu stérile » identique dans sa composition au milieu de collecte (PBS). Il est transporté d'un bain à l'autre par des micropipettes stériles ce qui assure son rinçage et aussi une dilution successive des éventuels germes contaminants(11).

Un bon nombre de bains est essentiellement recommandé, c'est-à-dire une dizaine comme cela est préconisé pour les embryons bovins. On aspire l'embryon avec une petite quantité de son milieu de collecte et on le met dans une paillète stérile.

Pour garder cette stérilisation et pour un meilleur conditionnement il est préférable de réaliser toutes ces manipulations

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

III-4/Techniques du transfert d'embryons:

Il existe deux méthodes pour transférer l'embryon :

-une méthode chirurgicale.

-une méthode non chirurgicale par voie vaginale puis cervicale.

III-4-1/ méthode chirurgicale :

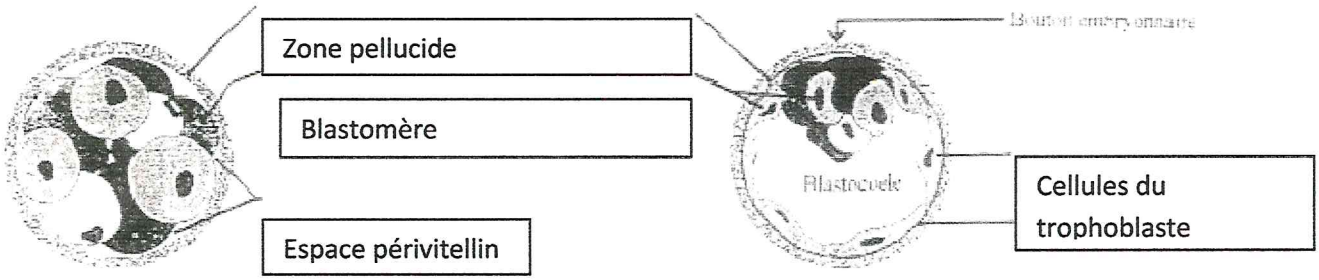
Cette méthode comme son nom l'indique est purement chirurgicale elle consiste à faire une incision médiane ventrale ou encore incision aux niveaux du creux du flanc(26), tout en respectant les conditions d'asepsie et tout ce qui prévoit une chirurgie c'est-à-dire une anesthésie.

Dans le cas ou on fait une incision médiane ventrale il est impérative de faire une anesthésie général et l'animal est donc couché, après l'incision réalisé par un bistouri émoussé on fait ressortir l'utérus (la corne utérine) et une incision et faite sur ce dernier ; l'embryon est maintenus dans une pipette stérile entre deux bulles d'aires, il est ensuite mis dans la lumière de la corne utérine.

L'incision dans le creux du flanc est une méthode moins traumatique adopté cette fois ci l'anesthésie est local et l'animal ainsi est debout, l'utilisation d'un tranquillisant générale est essentiel pour bien maintenir la jument. Une petite incision du creux du flanc est fait, on fait ressortir par la même technique la corne de l'utérus une incision punctiforme est réalisé sur cette dernière est l'embryon est ainsi placé dans la lumière utérine, La perforation utérine n'est refermée qu'avec une compression hémostatique de la paroi. Les plans musculaires, sous-cutanés et cutanés sont suturés, Des traitements anti-inflammatoire et antibiotique sont administrés pendant 3 à 5 jours post opératoire.

Cette méthode permet d'opérer dans des conditions strictement stériles et donc d'éviter toute contamination de la lumière utérine lors du dépôt de l'embryon, d'après (Iuliano et al) (24). Le pourcentage de cette méthode semble plus élevé que celui du transfert par méthode non chirurgicale.

Ils ont obtenu un taux de gestation de 72% avec la méthode chirurgicale significativement différent des résultats obtenus avec la méthode cervicale (45%) (6). Plus récemment, un récapitulatif de trois ans de transfert embryonnaire commercial à l'université du Colorado permet de confirmer ces résultats (58% versus 39% au 50ème jour de gestation). Elle nécessite cependant la mise en place d'une chirurgie techniquement plus lourde que la méthode cervicale Les deux méthodes consiste à faire implanté un embryon très jeune qui est âgée de 2à 4jours maximum, peut être mis dans la trompe de Fallope ou il accède seul a l'utérus(23).



Morula blastocyte

Figure.7 Structure histologique du jeune embryon équin : stade morula et blastocyste, d'après LAGNEAUX(11).

III-4-2/méthode non chirurgicale :

Chez cette espèce aussi le transfert embryonnaire par méthode non chirurgicale est similaire à celui fais chez d'autre espèces chatte et AL d'après Meira et Henry 1991(21).

Cette méthode consiste à l'utilisation d'un pistolet de transfert d'embryon stérile gainé. Il permet de limiter les contaminations apportées par le matériel de transfert en passant par le vagin et le cervix ; seule la partie recouverte stérile accède théoriquement au corps de l'utérus. Son ouverture latérale protège la paillette et l'embryon tout au long de leur progression vaginale et cervicale.

Le rectum de la receveuse est tout d'abord vidangé, la queue recouverte d'un gant long stérile est attachée en hauteur. La zone périnéale et vaginale est savonnée plusieurs fois avec un antiseptique et rincée. L'opérateur utilise lui aussi des gants stériles.

Malgré toutes ces précautions, cette technique donne encore des résultats inconstants : ils dépendent en fait de l'habitude et de l'habileté du technicien. Des infections par des germes non pathogènes ont notamment été décrites, ainsi qu'un relargage excessif de prostaglandine lors de la manipulation du col pouvant entraîner l'expulsion de l'embryon (13).

La méthode non chirurgicale est en réalité plus recommandée de nos jour elle est largement utilisée en pratique car, L'embryon transplanté est de l'âge de 5 à 8jours, le pourcentage de gestation de 40à70% été reporté par (Allen et Rowsn, 1975, Castle Berry et Al 1980, Oguri et Tsutsumi, 1980, Unilson et Al 1987) (25).

III-4-2-1 /transplantation de l'embryon état frais :

Les résultats varient selon les équipes et en fonction des techniques pratiquées (Bruyas et Lagneaux 1992) et des races utilisées (Lagneaux et Palmer 1989) (12). Le taux de collecte dépend de la fertilité de la jument donneuse et de l'étalon utilisé(10).

Le taux de gestation dépend de la qualité de la jument receveuse, de son degré de synchronisation avec la jument donneuse, mais aussi de la qualité intrinsèque de l'embryon. Les résultats récents des Haras Nationaux donnent un taux de collecte de 40-50 % et un taux de gestation à 15 jours par embryon transféré de 65 % (Lagneaux 1999) (12).

Le degré des synchronisations entre donneuse et receveuse est un facteur de réussite essentiel, des solutions palliatives permettent de contourner cette contrainte comme l'utilisation de receveuses ovariectomisées ou en anoestrus pour lesquels un traitement supplétif à base de progestatifs est nécessaire.

III-4-2-2/ transplantation de l'embryon état congelé :

La réfrigération des embryons, encore très peu utilisée, permet (en particulier aux Etats-Unis) de transporter des embryons dans un milieu de culture (Ham F10) à l'aide d'un container thermostaté (à 4°C) du lieu de récolte au lieu de présence de la porteuse(27).

La remise en place est différente de 24 à 48 heures, réalisée avec un taux de réussite comparable à celui qui est obtenu lors de transferts des embryons frais préliminaires ; ils ont montré l'importance du diamètre de l'embryon à la congélation

Seuls les Petits embryons - stade morula ou jeune blastocystes sont congelables. Le protocole de congélation des embryons équins est d'inspiration bovine.

Il nécessite l'emploi d'un cryoprotecteur (généralement du glycérol). Le refroidissement de l'embryon se fait par étapes : de 3 °C/min jusqu'à -7 °C, à cette température c'est-à-dire (-7 °C) seeding (terme anglais signifiant " ensemencement " ; il s'agit d'un acte technique permettant d'initier - ensemencer le premier cristal de glace dans un milieu liquide pour obtenir sa cristallisation (4) puis de 0,3 °C/min jusqu'à -30 °C, enfin stockage dans l'azote liquide à -196 °C. La décongélation est rapide dans un bain-marie à 37°C, pendant 30 secondes(4). Le nécessaire retrait du cryoprotecteur s'effectue par lavages successifs dans différents bains à concentrations décroissantes.

Le saccharose utilisé comme additif lors du retrait du cryoprotecteur prévient les risques d'éclatement cellulaire (Lagneaux *et al* 1997) (4).

Les résultats obtenus après transfert d'embryons congelés-décongelés sont actuellement inférieurs à ceux obtenus lors du transfert d'embryons frais : moins de 40 % (synthèse de Squires *et al* 1999) *vs* 65-70 %, même si de tout récents résultats permettent d'espérer des progrès intéressants(29).

PARTIE EXPERIMENTALE : récolte d'embryon

I- MATERIELS ET METHODE

1- Matériels :

1-1 lieu de l'expérimentation :

الفوج 11 للخيالة و المواكبة للحرس الجمهوري- الجيش الوطني الشعبي – برج الكيفان الجزائر

Le groupe 11 de cavalerie et de convoiement de la Garde Républicaine de l'ANP - Bordj El Kifane Alger

1-2/ Animaux :

1-2-1/ Juments :

09 juments ont été mises à notre disposition au niveau du Haras pour l'expérimentation. A partir de ce cheptel initial nous avons sélectionné 04 juments comme donneuses d'embryons. La sélection des femelles donneuses s'est faite sur la base d'un examen général, gynécologique et un suivi de la cyclicité.

Le signalement des femelles donneuses est porté sur le tableau :

Tableau 2: juments donneuses utilisées

Juments	Race	Age	Robe	Observations
Jument 1 : BARIKA	**Barbe**	**18 ans**	**grise**	**Déjà poulinée**
Jument 2 : SEDRATA (MINIA)	**Arabe Barbe**	**7 ans**	**grise pommelée**	**Déjà poulinée Réputée calme**
Jument 3 : SAMARA	**Arabe**	**15 ans**	**grise**	**Déjà poulinée Réputée dangereuse**
Jument 4 : DIHIA	**Arabe-Barbe**	**13 ans**	**grise**	**Déjà poulinée Réputée calme**

1-2-2/ Etalons :

Pour la saillie nous avons disposé de quatre étalons reproducteurs dont les antécédents de fertilité sont connus et deux étalons souffleurs pour la détection des chaleurs.

1-3/ Matériel et milieux de récolte :

Le matériel utilisé pour cette expérimentation est composé de :

- Sonde de récolte d'embryon à deux voies (type folley CH 18) : La première pour gonfler le ballonnet, la deuxième pour injecter et récupérer le liquide de rinçage de l'utérus ;
- Mandrin métallique pour sonde de récolte ;
- Microscope inversé pour la recherche des embryons ;
- Chemises sanitaires ;
- Boites de pétri quadrillées ;
- Plaque de culture cellulaire 24 puits ;
- Paillette 0,25 mm de diamètre ;
- PBS pour le rinçage de l'utérus ;
- Milieu de conservation pour embryons ;
- Bain marie ;
- Flacons stériles 1 litre ;
- Seringues de 60 ml pour gonfler le ballonnet ;
- Gants stériles et gants pour exploration rectale ;
- Compresses stériles et purifiées ;
- Perfuseurs ;
- Antibiotique ;
- Tranquillisant.

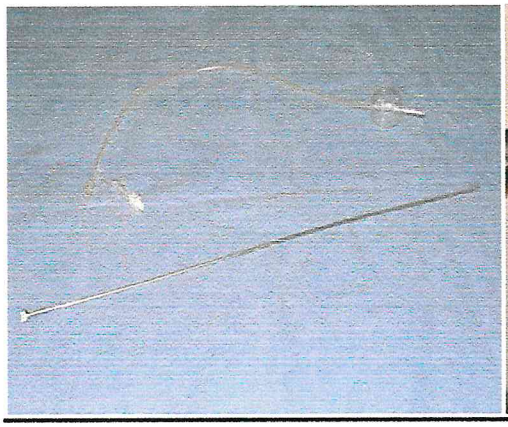


Figure.8 Sonde de récolte

figure.9 bain Marie + flacon contenant du PBS

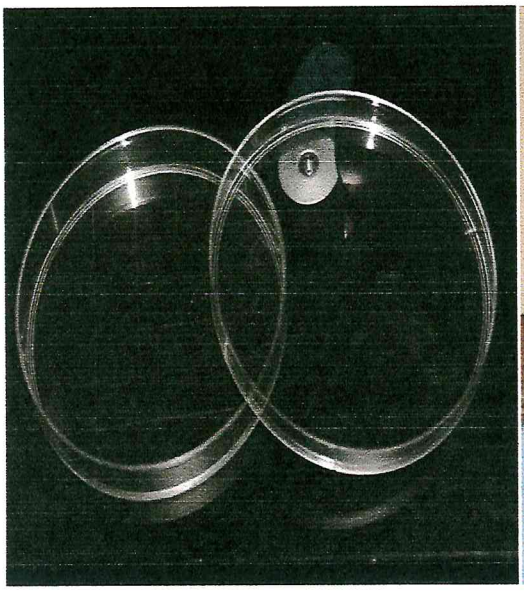


Figure. 10 Boite de pétri quadrillée

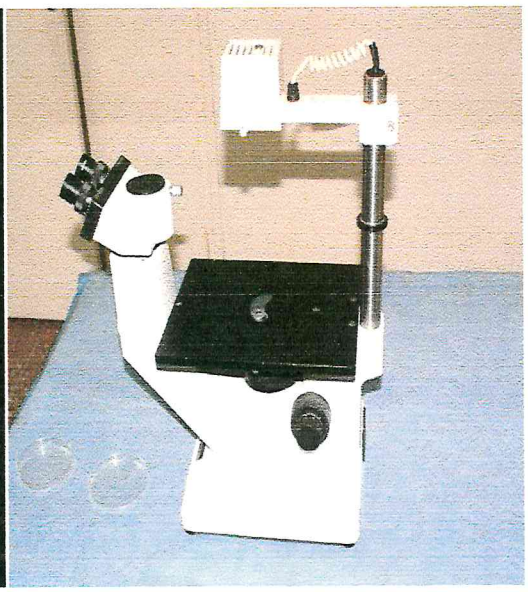


Figure.11 Microscope inversé

2-Méthode :

2-1/ Synchronisation des chaleurs :

Pour des raisons pratiques notamment le rapprochement des récoltes les juments donneuses ont été synchronisées grâce à deux (02) injections de prostaglandine F2α, à intervalle de 14 jours et à raison de deux (02) ml par injection. Pour le 2ème essai, une seule injection seulement de prostaglandine F2α.

2-2/ Détection des chaleurs :

Un test à la barre bi quotidien a été réalisé chez les donneuses à partir du cinquième jour suivant l'injection de prostaglandine F2α (quatrième jour pour le 1er essai). Une fois le test était positif, nous avons procédé à la saillie naturelle.

Figure.12 test à la barre positif (clignement de la vulve)

2-3/ Saillie :

Pour le bon déroulement des opérations de saillies, des mesures préventives ont été prises :

- Déferrage des sabots postérieurs chez les juments et des sabots antérieurs chez les étalons afin d'éviter toute blessure ;
- Bandage de la queue et désinfection de la région périnéale des juments ;

- Désinfection du fourreau et de la verge des étalons reproducteurs.

Figure.13 désinfection de la région périnéale

- Ensuite, nous avons procédé à la saillie en main des juments donneuses et ce toutes les 48 heures jusqu'au refus du mâle. Il est à noter que chaque saillie est précédée par un test positif à la barre.

Tableau3 : Programmes des saillies

Etalon	Jument	Date 1ère saillie	Date 2ème saillie	Date 3ème saillie
Ahmiri	Samara	22/02/2012	/	/
Amir	Barika	22/02/2012	/	/
Igli	Sedrata	22/02/2012	24/02/2012	/
Rendass	Sebdou	24/02/2012	26/02/2012	28/02/2012

Figure.14 approche de l'étalon

figure.15 Chevauchement de la jument

2-4/ Récolte et identification des embryons :

La récolte à été réalisée entre le 6ème et le 8ème jour après la dernière saillie pour les deux essais.

La technique utilisée consiste en plusieurs lavages-siphonages à partir du corps utérin (des cornes utérines lors du 1er essai) avec une solution de Phosphate Buffered Saline (PBS) en suivant cette chronologie :

- Lavage et désinfection de la région périnéale des juments donneuses

Figure.16 Elimination de toute trace de désinfectant

- Rinçage de la sonde de récolte par du PBS réchauffé à 37°c ;

- Exploration par voie transrectale de l'utérus ;

- Introduction, par voie vaginale, de la sonde placée dans une chemise sanitaire et maintenue dans la paume de la main jusqu'à atteindre le corps utérin ;
- Vérification par voie transrectale de l'emplacement idéal de la sonde dans le corps utérin puis retrait du mandrin et gonflage du ballonnet avec de l'air à raison de 60 ml pour garantir une meilleure fixité de la sonde avec fermeture hermétique de la lumière du corps utérin;

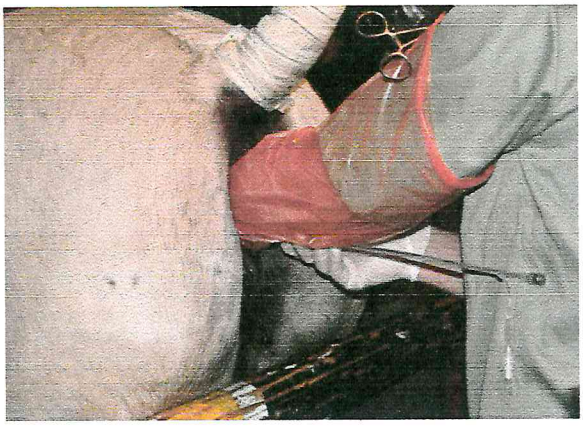


Figure.17 introduction de la sonde

Figure.18 gonflage du ballonnet

- Rinçage des cornes et du corps utérins avec une quantité de 1,5 litre de PBS par jument à raison de 500 ml par lavage;

- Massage de la corne par voie transrectale pour une bonne répartition du produit de récolte;

- Siphonage du produit de récolte dans un flacon stérile rincé au préalable avec du PBS et étiqueté (portant le nom de la jument donneuse en question) et enfin injection d'une quantité d'air (30 ml) pour récupérer le maximum du liquide de rinçage;

- Dégonflage du ballonnet et retrait de la sonde ;

- Maintien des flacons de récolte dans le bain marie à 37°C pour un temps ne dépassant pas les 04 heures;

- Couverture antibiotique pour les 03 juments.

2-5/ Recherche d'embryons :

Après décantation du produit récolté, nous avons procédé à :

- L'aspiration du surnageant à l'aide d'une canule;

- La récupération du culot qui est réparti dans les boites de pétri quadrillées ;

- L'observation minutieuse au microscope à un grossissement de 40 fois en balayant toute la boite.

2-6/ Traitement de l'embryon:

Après localisation et identification de l'embryon, ce dernier a été aspiré à l'aide d'une paillette de 0,25 ml relié à une seringue. Ensuite, il a été transféré dans des bains de rinçage à base de (milieu nutritif) afin d'éliminer toutes impuretés et enfin.

Figure.19 rinçage *de l'embryon*

II- RESULTATS ET INTERPRETATION :

Après la synchronisation des juments et le passage au test à la barre, cinq (05) ont manifesté des signes de chaleurs, soit un taux de 63 %.

En fonction des résultats obtenus, nous avons répartis les juments en quatre (04) donneuses et une (01) receveuse (03 donneuses et 02 receveuses lors du 1er essai) pour avoir plus de chance d'obtenir un embryon lors de la récolte, comme mentionné dans le tableau3 ci-dessous :

Tableau 4 :répartition des juments donneuses

Numéro	***Nom***	***Chaleurs***
01	***Samara***	+
02	***Barika***	+
03	***Sedrata***	+
04	***Dihia***	-

L'absence de signes de chaleurs chez les trois (03) juments (pour les deux essais) comme le montre le tableau ci-dessus peut s'expliquer par un anœstrus saisonnier prolongé ou d'un cas pathologique.

Sur les quatre (04) donneuses sélectionnées, nous avons réalisé la récolte que chez trois (03) juments qui étaient synchrones avec la receveuse (à la même phase du cycle), par ailleurs, une jument donneuse a été écartée étant donné qu'elle a présenté un œstrus plus long par rapport à la receveuse.

Après recherche minutieuse au microscope inversé, nous avons mis en évidence une structure sphérique régulière identifiée comme étant un embryon (figure 20) composée d'une

coque externe (zone pellucide) et une masse interne périphérique (trophoblaste) avec une grande cavité en son centre (blastocœle). L'embryon en question est issu de la récolte de la jument **Sedrata.** En revanche les autres récoltes étaient nulles sans embryons ce qui représente un taux de réussite de 16.6%.

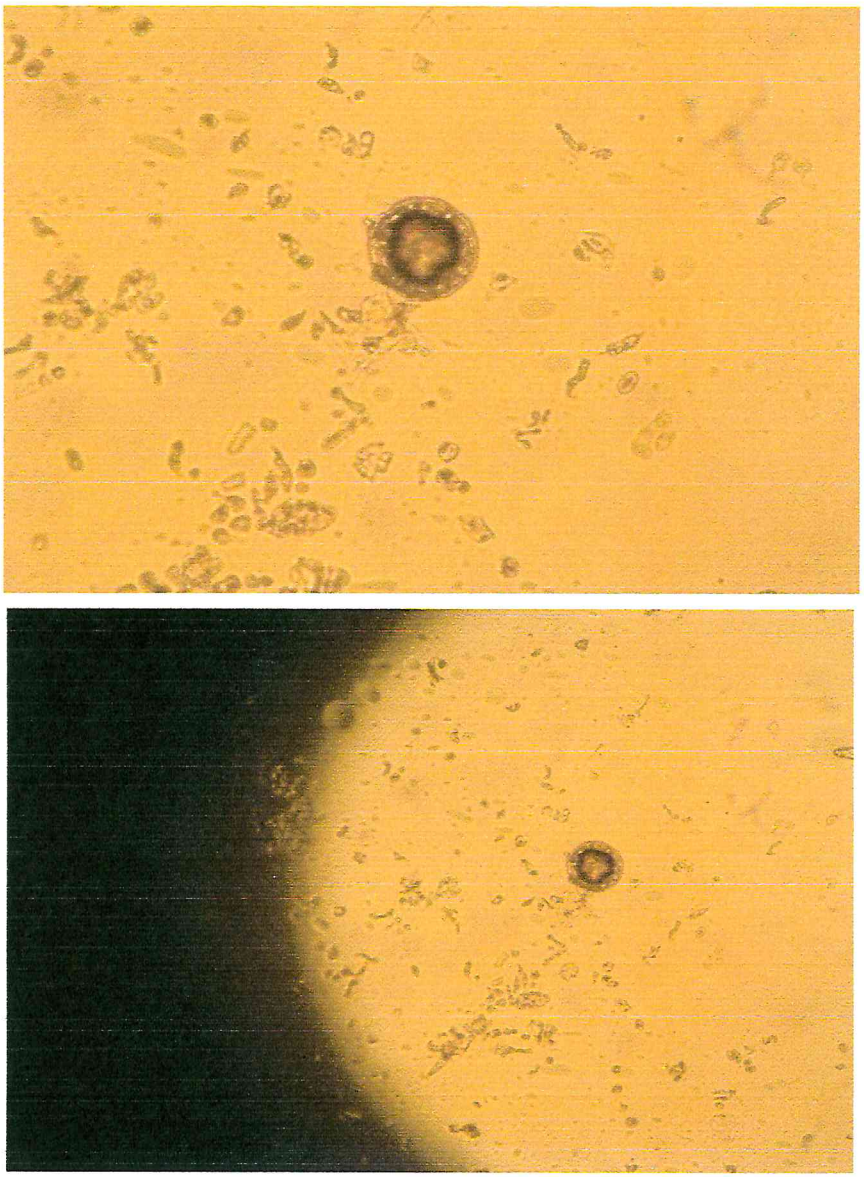


Figure.20 Embryon équin récolté vue au microscope (4x10)

III- DISCUSSION :

Notre travail avait comme objectif l'initiation à la technique de récolte d'embryon chez la jument, en l'absence de travaux dans ce domaine nous avons essayé d'adapter les méthodes déjà maitrisée chez les bovins ainsi que le matériel.

La technique en elle-même ne présentait pas de difficultés particulières en raison de l'emplacement de la sonde de récolte (au niveau du corps de l'utérus) contrairement à ce qui se fait chez la vache où le rinçage des cornes se fait individuellement.

Sur les six récoltes effectuées une seule était fructueuse et a donné un embryon ce qui représente un pourcentage de 16.6%, ce taux est relativement faible par rapport à ce qui est rapporté dans la bibliographie, des travaux récentes des haras nationaux ont obtenus entre 40 et 50%(10), par contre Bruyas et Lagneaux ont eu un résultat qui est de 34% ,(34) en utilisant un seule rinçage avec une quantité de PBS de 1 litre, ce taux a été amélioré en multipliant le nombre des rinçages avec un pourcentage d'environ 69% au deuxième rinçage et 91% au troisième rinçage.

Plusieurs facteurs peuvent expliquer ce faible taux de récolte :

- L'absence de suivi échographique des ovaires ne permet pas de déterminer avec précision le moment de l'ovulation, le moment optimal pour la saillie et le moment de la récolte
- Le matériel utilisé lors de la récolte n'est pas spécifique à l'espèce équine, la sonde de collecte est destinée au bovin
- Le volume de liquide utilisé est plus faible à ce qui est d'usage chez cette espèce avec 1.5 litre en trois rinçages de 0.5 litre chacun

C/ Conclusion :

L'optimisation du potentiel reproducteur prend toute son importance chez la jument compte tenu des enjeux économiques présents dans la filière équine. La maîtrise des nouvelles biotechnologies de reproduction assistée telles que le transfert d'embryons joue à ce titre un rôle primordial.

En terme simple ; le transfert d'embryons équins consiste à prélever par lavage utérin un embryon de 7 à 8 jours après ovulation à partir d'une jument dite donneuse et le placer dans l'utérus d'une jument dite receveuse qui se situe à la même phase du cycle œstral de la donneuse.

Notre expérience est une initiative en matière de reproduction équine en Algérie. Au fait c'est une étude qui souligne le rôle prépondérant du transfert d'embryons à satisfaire les exigences des éleveurs a obtenir un poulain à partir de juments âgées mais de haute valeur génétique ou commerciale ou bien des mères poursuivant leurs carrières sportives qui ne pouvant ou ne devant pas assurer une gestation , l'embryon récolté est donc confié à une receveuse qui portera le futur poulain jusqu'à terme et l'élèvera par la suite sans avoir aucun effet génétique sur ce dernier.

Le développement de cette technique reste limité en raison de son coût élevé et des lourdes contraintes techniques. La mise au point d'une technique fiable de congélation des embryons associée à un traitement efficace de super-ovulation sont les objectifs principaux des thèmes de recherches. Le test d'appréciation de la qualité des embryons, un outil efficace, doit permettre d'accélérer l'obtention de progrès significatifs. Enfin il faudra savoir réserver cette technique à la production de qualité en évitant la course à l'augmentation de la quantité; la transplantation embryonnaire restera alors ce qu'elle est dans les autres espèces animales : un outil de production pour reproducteurs d'élite.

BIBLIOGRAPHIE

1-VALERIE DOSTALER –TOUCHETTE .AGR : Le régie de la reproduction : ce que vous savoir pour réussir

2-ANNE LAMBERMONT FOR : mémoire : trouble de la jument en période d'œstrus : une approche ostéopathique (thèse) doctorat

3-T. SENDEL : anatomie, physiologie et reproduction de l'étalon (fiche technique)

4-AURELIE, Ingrid PLOTTO : la congélation de l'embryon équin :comparaison in vivo de l'effet de l'incorporation directe ou progressive de glycérol sur la viabilité de l'embryon .(thèse)doctorat

5-Centre de Formation SVT : la reproduction chez le cheval

6-STEPHANIE DURAND : contrebutions a l'étude des races équins miniatures (thèse) doctorat

7- VINCET PIERRE ANDRE DRUET : influences des facteurs environnementaux sur la reproduction de la jument

8- AXELLE MARIE DOMINIQUE Axelle, Marie, Dominique POISSONNIER et Caroline, Mỹ-Ngọc SCHWARTZ : AIDE A L'APPRENTISSAGE DE L'EXAMEN TRANSRECTAL DE LA JUMENT : REALISATION D'UNE BANQUE D'OVAIRES ET D'UTERUS ARTIFICIELS (these) doctorat vétérinaire

8- DELEUZE S.1, PONTHIER J.1, HANZEN C.2 : Reproduction assistée dans l'espèce équine : collecte, évaluation, maturation et utilisations d'ovocytes équins (Formation continue- Articles de synthèse)

9-Cécile, Marie, Anne PRADAL : INDUCTION ET SYNCHRONISATION DE L'OESTRUS CHEZ LA JUMENT (thèse) doctorat vétérinaire.

10-*D. LAGNEAUX,* Le transfert d'embryons chez les équidés *G. DUCHAMP (*344 / *EQUIPE REPRODUCTION EQUINE)*

11 -Philippe-Olivier, Michel, Marie MOZER : LA TRANSPLANTATION EMBRYONNAIRE CHEZ DES JUMENTS EN ANOESTRUS : ETUDE EXPERIMENTALE (thèse) doctorat vétérinaire

12-M.C.G. Davies Morel: Equine Reproductive Physiology, Breeding And Stud Management 2ed edition

13-Manuel de reproduction equine

14-V. GAYRARD : PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION DES MAMMIFERES

15-Dr. Mamadou MBAYE : L'AMÉLIORATION DES PRODUCTIONS ANIMALES AU SÉNÉGAL : RÔLES DE L'INSÉMINATION ARTIFICIELLE ET DU TRANSFERT D'EMBRYON

16-MAUD CAILLAUD :these pour l'obtention du grade de docteur de luniversité de tours Discipline : Sciences de la vie

17-E.PALMER : la reproduction chez la jument

18-encyclopédie du cheval : 4eme édition entretien revue mis-19jours par :pierre d'autherville avec collaboration de j-Silvestre p-Chambéry m-franc mètre j-a croquez

19-carnet de santé : reproduction. le transfert d'embryon une technique d'avenir

20-Dossier : Actualités en reproduction équine ;*Equipe Reproduction Equine, INRA-Haras Nationaux, PRMD, 37380 Nouzilly*

Haras nationaux :comité d'orientation scientifique et technique :recherche rélisé au sein des haras nationaux en 2003 et 2004

21-école national vétérinaire de toulouse :cours :la fonction ovarienne V. Gayrard

22-Section of Theriogenology Department of Large Animal Medicine and Surgery College of Veterinary Medicine

Texas A&M University : AN OVERVIEW OF EMBRYO TRANSFER IN HORSES

23-Patricia L. Sertich, MS, VMD : Transcervical embryo transfer in performance mares

24-EQUINE EMBRYO TRANSFER : veterenary association- British –equine

25-commercial embryo transfer in the united states

26-*Equine Reproduction Embryo Recovery ,Embryo Transfer : Equine Embryo Transfer Company in the United States*

27- Recipient mare and embryonic factors effecting pregnancy rates in equine embryo transfer.

28-Equine fertility Research Center. Equine Breeding Stud. Babugarh. Ghaziabad U.P. 245201 India Devender Kumar, Naveen Kumar and Dinesh Jhamb

29- par :Dr. William B. Ley, DVM, MS, DACT.htm Sur le site www.wahorsvet.com/mares.htm partie embryo transfer

30- The University of Tennessee Agricultural Extension Service : titre : Embryo Transfer in Mares par *Fred M. Hopkins, Professor, Large Animal Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine and Animal Science Doyle G. Meadows, Professor, Animal Science*

31- par haley frazel titre : embryo transfer - ressource : http://www.answers.com/topic/embryo-transfer

-32- Equine ovm news magazine decembrer2006: embryo shipping, cost and success rates. By Elizabeth martinsen .

33- Ecuer Emilie, Apport des techniques de reproduction assistée dans le cadre de la conservation des équidés sauvages : Exemple de transfert d'embryon interspécifique, thèse ENVL 2005, p 5

34-*M. MAGISTRINI :article dans : INRA-Haras Nationaux, PRMD, Equipe Reproduction Equine, 37380 Nouzilly*

35- OGURY N., TSUTSUMI Y: Non surgical transfert in equine embryos. *Arch. embryology*, 1980, **5**, 108-110

36- (Lagneaux 1999). Cité dans Bruyas J.F., Lagneaux D., 1992. Transplantatio embryonnaire équine. Rec. Med. Vet., 168, 11-12, 937-946

37- Briant C., 1999. La superovulation chez la jument : point sur les techniques et débouchés potentiels. 25e journée de la recherche équine, Paris, Institut du cheval, DEFI, 3 mars 1999, 69-75.

38-Mc Kinnon A., Figueroa S., Skidmore J., Vasey J.R., Trigg T., 1993. Predictable ovulation in mares treated with an implant of the GnRH analogue Deslorelin. Equine Vet. J., 25, 321-323.

39-Mc Kinnon A., Vasey J., Lescun T., Trigg T., 1997. Repeated use of a GnRH analogue Deslorelin (Ovuplant) for hastening ovulation in the transitional mare. Equine Vet. J., 29, 153-155.

40-HINRICHS K., RIERA F.L. : Effect of administration of prostaglandin F2α on embryo recovery from the uterus on day 5 after ovulation in mares. *Am. J. Vet. Res.*, 1990, **51**, 451-453

41-CARNEVALE E.M., RAMIREZ E.J., SQUIRES E.L., ALVERENGA M.A., VANDERWALL D.K., McCUE P.M. : Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. *Theriogenology*, 2000, **54**, 965-979

42- LAGNEAUX D. : Transfert d.embryons-aspects techniques. *In : Compte rendu de la 25ème journée d'étude du CEREOPA*, Paris, 3 Mars 1999. Paris : Institut du cheval, 1999, 61-67

43-EAST L.M., VAN SAUN R.J., VANDERWALL D..K. : Equine embryo transfer. Embryo recovery and transfer techniques. *Equine Practice*, 1999, **21**, 8-12

44-SQUIRES E.L., IMEL K.J., IULIANO M.F., SCHIDELER R.K. : Factors affecting reproductive efficiency in an equine embryo transfer program. *J. Reprod. Fert.*, 1982, **suppl.32**, 409-414

45-HINRICHS K. : A simple technique that may improve the rate of embryo recovery on uterine flushing in mares. *Theriogenology*, 1990, **33**, 937-942

46-Insémination artificielle équine - Guide Pratique - 1996. Edition Institut du Cheval, Paris , 292 p.

47-IULIANO M.F., SQUIRES E.L., COOK V.M. : Effect of age ef equine embryos and method of transfer on pregnancy rate. *J. Anim. Sci.*, 1985, **60**, 258-263

49-EAST L.M., VAN SAUN R.J., VANDERWALL D..K. : Equine embryo transfer. Donor and recipient selection and preparation. *Equine Practice*, 1998, **20**, 16-20

48-BATTUT I., COLCHEN S., FIENI F., TAINTURIER D., BRUYAS J.F. : Success rates when attempting to nonsurgically collect equine embryos at 144, 156 or 168 hours after ovulation. *Equine vet. J.*, 1998, **suppl. 25**, 60-62

50-SCHMIDT A.R., THAYER J., CARLETON C.L. : Stored, cooled embryos : A successful alternative to immediate embryo transfer. *Veterinary Medicine*, 1995, **90**, 381-386

51-Magistrini M., Vidament M., 1992. L'insémination artificielle chez les équidés. Rec. Méd. Vét., 168, spécial
Reproduction des Equidés, 959-967.
52-BRUYAS J.F., FIENI F., ALLAIRE F., TAINTURIER D. : Maîtrise du cycle .œstral de la jument. *Rec. Med. Vét.*, 1992, **168**, 937-946

53-SQUIRES E.L., GARCIA R.H., GINTHER O.J.: Factors affecting success of equine embryo transfer. *Equine Vet. J.*, 1985, **suppl. 3**, 92-95