



OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible

This is an author's version published in: <http://oatao.univ-toulouse.fr/26872>

To cite this version:

Godderis, Lucie . *Suivis gynécologiques de juments dans le cadre d'une clientèle vétérinaire : analyse des performances de reproduction*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT, 2020, 91 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: tech-oatao@listes-diff.inp-toulouse.fr

SUIVIS GYNECOLOGIQUES DE JUMENTS DANS LE CADRE D'UNE CLIENTELE VETERINAIRE : ANALYSE DES PERFORMANCES DE REPRODUCTION

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Lucie GODDERIS

Née le 17 mai 1993 à MONTMORENCY (95)

Directrice de thèse : Mme. Nicole HAGEN-PICARD

JURY

PRÉSIDENT :

M. Jean PARINAUD

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

Mme Nicole HAGEN

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Mme Véronique GAYRARD

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Membre invitée :

Mme Elodie CHOLLET

Docteure à Ménéval en Seine-Maritime



**MINISTÈRE
DE L'AGRICULTURE
ET DE L'ALIMENTATION**

*Liberté
Égalité
Fraternité*

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Directeur : Professeur Pierre SANS

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Pharmacologie – Thérapeutique*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1° CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie Vétérinaire*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

PROFESSEURS 2° CLASSE

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
- M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*

PROFESSEURS CERTIFIÉS DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur*
- M. **d'Anglais**
- SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAÎTRES DE CONFÉRENCES (HORS CLASSE)

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*

- M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
- Mme **PRIYENKO Nathalie**, *Alimentation*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*

MAÎTRES DE CONFÉRENCES (CLASSE NORMALE)

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme **BOHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **DANIELS Hélène**, *Immunologie-Bactériologie-Pathologie infectieuse*
- Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
- Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
- Mme **GRANAT Fanny**, *Biologie médicale animale*
- Mme **JOURDAN Géraldine**, *Anesthésie – Analgésie*
- Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des Equidés*
- Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
- M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
- M. **LHERMIE Guillaume**, *Economie de la santé animale*
- M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
- Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
- Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
- M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire – Maladies animales règlementées*
- Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT CONTRACTUELS

- M. **DIDIMO IMAZAKI Pedro**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- M. **LEYNAUD Vincent**, *Médecine interne*
- Mme **ROBIN Marie-Claire**, *Ophthalmologie*
- Mme **ROMANOS Lola**, *Pathologie des ruminants*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mme **BLONDEL Margaux**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie-Imagerie médicale*
- M. **COMBARROS-GARCIA Daniel**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **GAIDE Nicolas**, *Histologie, Anatomie Pathologique*
- M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- M. **LESUEUR Jérémy**, *Gestion de la santé des ruminants – Médecine collective de précision*
- M. **TOUITOU Florian**, *Alimentation animale*

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Jean PARINAUD,

Professeur des Universités

Praticien hospitalier

Biologie du développement et de la reproduction

Qui nous fait l'honneur d'accepter la présidence de jury de cette thèse,
Hommage et remerciements respectueux.

A Madame le Professeur Nicole HAGEN-PICARD,

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie de la reproduction

Pour avoir accepté d'encadrer cette thèse,
Mes plus sincères et respectueux remerciements.

A Madame le Professeur Véronique GAYRARD,

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Spécialisée en Physiologie de la Reproduction et Endocrinologie,

Pour avoir accepté le rôle d'assesseur de cette thèse,
Je vous présente toute ma reconnaissance.

A Madame le Docteur Elodie CHOLLET,

Docteur vétérinaire à Ménerval, Seine-Maritime,

Qui a permis la réalisation de ce travail en me transmettant ses suivis de
reproduction et en ayant répondu à mes nombreuses questions,
Sincères remerciements.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	13
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	14
I. L'élevage équin en France	14
a. Organisation de l'élevage en France	14
1. Le cheptel français	14
2. Les éleveurs et les élevages en France	14
II. La reproduction chez la jument	16
a. Le cycle œstral	16
b. Les techniques de reproduction : de la monte naturelle au transfert d'embryon ...	18
1. La monte naturelle	18
2. L'insémination artificielle (IA)	18
3. Le transfert d'embryon	20
4. Techniques de reproduction équine utilisées en France	22
c. La gestion des juments mises à la reproduction	23
1. Traitement de synchronisation des chaleurs	23
2. Traitement d'induction de l'ovulation	24
PARTIE EXPERIMENTALE	25
I. Matériels et méthodes	25
a. Enregistrement des suivis de reproduction	25
b. Techniques de reproduction pratiquées au Haras du Petit Hautier	27
c. Critères échographiques des suivis gynécologiques	27
d. Traitements de maîtrise des cycles	28
1. Synchronisation des chaleurs	28
2. Induction de l'ovulation	28
e. Traitement progestagène de soutien de la gestation	28
f. Prévention, diagnostic et traitement des endométrites	29
g. Interruption de la gestation	30
h. Collecte d'embryons	30
i. Analyse des données	31
j. Population étudiée	33
II. Description de la population de juments étudiées et des paramètres de la gestion de la reproduction	36
a. Description des juments et des suivis de reproduction	36
1. Age et statut physiologique des juments	36

2.	Exploitation des cycles et causes de non utilisation des chaleurs.....	39
b.	Les différents modes de reproduction et suivi de l'ovulation	40
c.	Description de l'ovulation	46
d.	Traitement de maîtrise des cycles.....	47
e.	Description des pathologies utérines.....	50
III.	Analyse des performances des juments mises à la reproduction classique	55
a.	Taux de gestation par cycle	55
b.	Taux d'avortement embryonnaire et foetal	56
1.	Avortements spontanés.....	56
2.	Avortements induits	57
c.	Influence de l'âge et du statut physiologique	58
1.	Influence du statut physiologique	58
2.	Influence de l'âge.....	61
d.	Influence d'une ovulation double	62
e.	Influence de l'aspect piqueté des follicules pré-ovulatoires.....	64
f.	Influence de la taille du follicule pré-ovulatoire	64
g.	Influence des traitements de maîtrise des cycles	65
1.	Traitement d'induction de l'ovulation	65
2.	Traitement de synchronisation des chaleurs.....	66
h.	Influence du mode de reproduction	67
i.	Influence du nombre d'inséminations et du moment de l'insémination lors de l'utilisation de la semence congelée.....	68
j.	Influence de la supplémentation en progestérone comme soutien de la gestation	69
k.	Influence des endométrites.....	70
IV.	Analyse des performances de reproduction pour la collecte d'embryons	73
a.	Taux de succès par cycle et taux de collecte d'embryons par cycle	73
b.	Influence de l'âge et du statut physiologique	76
1.	Influence de l'âge.....	76
2.	Influence du statut physiologique	77
c.	Influence d'une ovulation double	78
d.	Influence de l'induction de l'ovulation.....	80
e.	Influence du mode de reproduction	80
f.	Influence des endométrites.....	81
g.	Influence d'une collecte supplémentaire.....	82
	CONCLUSION	84
	BIBLIOGRAPHIE.....	86

LISTES DES FIGURES

Figure 1: Répartition des types d'équidés au sein du cheptel français en 2016.	14
Figure 2 : Nombre d'étalons actifs et nombre de saillies dans les cinq régions accueillant le plus grand nombre de naissances en 2018.	15
Figure 3: Répartition des techniques de reproduction équine utilisées en France en 2018... ..	22
Figure 4: Exemple de fiche gynécologique provenant du logiciel Gynebase®	26
Figure 5: Distribution des juments suivies en reproduction classique en fonction de leur âge entre 2014 et 2018.	36
Figure 6: Distribution des juments suivies pour une collecte d'embryons en fonction de leur âge entre 2014 et 2018.	37
Figure 7: Répartition des juments suivies pour une reproduction classique entre 2014 et 2018, en fonction du nombre de cycle(s).	38
Figure 8: Répartition des juments suivies pour la collecte d'embryons entre 2014 et 2018 en fonction du nombre de cycle(s).	38
Figure 9: Répartition des 368 cycles en fonction des origines de non exploitation pour l'insémination, pour les juments en suivi de reproduction entre 2014 et 2018.	40
Figure 10: Répartition des 1242 cycles exploités en fonction du mode de reproduction utilisé (IA ou monte naturelle) et du type de semence (IA en semence congelée (IAC), réfrigérée (IAR) ou fraîche (IAF) pour la reproduction classique et la collecte d'embryons entre 2014 et 2018.....	41
Figure 11: Répartition des 933 follicules pré-ovulatoires en fonction de leur diamètre au dernier examen échographique avant une ovulation simple et du mode de reproduction pour les juments suivies pour la reproduction classique et la collecte d'embryons.....	46
Figure 12: Taux de gestation par cycle exploités entre J14-J20 post-ovulation entre 2014 et 2018.....	55
Figure 13: Taux de poulains nés par juments mises à la reproduction entre 2014 et 2018....	56
Figure 14: Taux d'avortement embryonnaire et fœtal des juments entre 2014 et 2018.	57
Figure 15: Taux de collecte d'embryons par cycle et taux de succès par cycle pour 29 juments donneuses d'embryons, collectées après 67 chaleurs sur la période de 2014 à 2018.	74
Figure 16: Répartition des cycles à ovulation double en fonction du nombre d'embryons collectés entre 2014 et 2018.....	79

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Nombre de juments suivies par année entre 2014 et 2018.....	34
Tableau 2: Nombre de cycles suivis par année (hors collecte d'embryons) entre 2014 et 2018.	34
Tableau 3: Nombre de cycles suivis pour la collecte d'embryons par année entre 2014 et 2018.....	34
Tableau 4 : Nombre de juments mises à la reproduction entre 2014 et 2018 par race.....	35
Tableau 5: Distribution des juments suivies pour la reproduction classique et la collecte d'embryons entre 2014 à 2018, en fonction et de leur statut physiologique.....	37
Tableau 6: Répartition du nombre de cycles exploités avec de la semence fraîche, en fonction de son traitement (pure et/ou diluée) pour les juments suivies pour la reproduction classique et la collecte d'embryons entre 2014 et 2018.	42
Tableau 7: Répartition des cycles en fonction du nombre d'inséminations/saillies effectuées au cours d'un même cycle pour les juments mises à la reproduction classique et pour la collecte d'embryons, sur la période entre 2014 et 2018.....	42
Tableau 8: Répartition des 1200 cycles en fonction du mode de reproduction et de l'intervalle des examens échographiques à l'approche de l'ovulation pour les juments suivies pour la reproduction classique et la collecte d'embryons entre 2014 et 2018.....	44
Tableau 9: Répartition des 1201 cycles exploités en fonction du mode de reproduction et de l'administration de traitement d'induction de l'ovulation des juments suivies pour la reproduction classique et la collecte d'embryons (présenté en italique).	48
Tableau 10: Répartition des cycles exploités pour la reproduction classique et la collecte d'embryons en fonction de la présence de liquide utérin et de la réalisation de lavage utérin en phase post-IA/saillie selon le mode de reproduction.	51
Tableau 11: Répartition des cycles exploités pour la reproduction classique et la collecte d'embryons en fonction de l'administration de traitement d'endométrie sur un total de 1240 cycles.	52
Tableau 12: Taux de gestation par cycle des juments en fonction de leur statut physiologique.	59
Tableau 13: Répartition des juments vides après deux cycles exploités selon leur statut physiologique entre 2014 et 2018.	60
Tableau 14: Taux de gestation par cycle des juments en fonction de leur classe d'âge entre 2014 et 2018.....	61
Tableau 15: Répartition des juments vides après deux cycles exploités selon leur classe d'âge entre 2014 et 2018.....	62
Tableau 16: Taux de gestation entre 14 et 20 jours en fonction du nombre d'ovulations pour 481 juments suivies en reproduction classique sur la période entre 2014 et 2018.....	62
Tableau 17: Taux de gestation par cycle en fonction de l'aspect piqueté ou non du follicule pré-ovulatoire des juments mises à la reproduction classique entre 2014 et 2018.	64
Tableau 18: Répartition des taux de gestation entre J14 et J20 en fonction du diamètre du follicule pré-ovulatoire lors d'ovulation simple de 2014 à 2018.	65
Tableau 19: Répartition des taux de gestation entre J14 et J20 en fonction des traitements d'induction de l'ovulation entre 2014 et 2018.....	65
Tableau 20: Répartition des taux de gestation entre J14 et J20 en fonction des traitements de synchronisation des chaleurs par administration d'analogues de prostaglandine F2 α entre 2014 et 2018.....	66

Tableau 21: Répartition des taux de gestation par cycle entre J14 et J20 en fonction du mode de reproduction et du type de semence pour les juments suivies entre 2014 et 2018.....	68
Tableau 22: Taux de gestation des juments mises à la reproduction classique en fonction du nombre de paillettes utilisées et du moment de l'insémination entre 2014 et 2018.	68
Tableau 23: Taux de gestation par cycle des juments en fonction de l'administration de traitements d'endométries en phase pré-IA/saillie entre 2014 et 2018.....	71
Tableau 24 : Taux de gestation par cycle des juments en fonction de l'administration de traitements d'endométries en phase post-IA/saillie entre 2014 et 2018.	71
Tableau 25 : Résultats des collectes d'embryons pour chaque jument en fonction du rang du cycle exploité entre 2014 et 2018.	76
Tableau 26: Taux d'embryons collectés par cycle et taux de succès par cycle en fonction de la classe d'âge de la jument donneuse (2-9 ; 10-16 et >17 ans) sur la période de 2014 à 2018.	76
Tableau 27: Taux de collecte d'embryons par cycle et taux de succès par cycle en fonction du statut physiologique des juments entre 2014 et 2018.	77
Tableau 28: Taux de collecte d'embryons par cycle et par ovulation et taux de succès par cycle en fonction du nombre d'ovulations par cycle entre 2014 et 2018.	78
Tableau 29: Taux de collecte d'embryons par cycle et par ovulation et taux de succès en fonction de l'administration d'un traitement d'induction de l'ovulation.	80
Tableau 30: Taux d'embryons collectés par cycle et taux de succès par cycle en fonction de la conservation de la semence pour les juments collectées entre 2014 et 2018.	81

LISTES DES ABREVIATIONS

AQPS : Autre Que Pur-Sang

CSO : Concours de Saut d'Obstacles

DG : Diagnostic de Gestation

DG+ : Diagnostic de Gestation positif

eCG : equine Chorionic Gonadotropin

FADETEQ : fédération des acteurs du développement des techniques modernes de reproduction équine

FAH : Follicule Anovulatoire Hémorragique

FIV : Fécondation In Vitro

FSH : Follicle-Stimulating Hormone

GnRH : Gonadotropin Releasing Hormone

hCG : human Chorionic Gonadotropin

ICSI : Intra-Cytoplasmic Sperm Injection

IFCE : Institut Français du Cheval et de l'Équitation

IA : Insémination Animale

IAC : Insémination Artificielle en semence Congelée

IAF : Insémination Artificielle en semence Fraîche

IAR : Insémination Artificielle de semence Réfrigérée

LH : Luteinising Hormon

MN : Monte Naturelle

PGF2 α : Prostaglandine F2 α

REQ: Reproduction Equine Qualité Services

INTRODUCTION

Le secteur équin est organisé en quatre sous-filières (les courses, le sport-loisir, le travail et la production de viande) et regroupe des enjeux sociaux-économiques importants. Selon l'observatoire économique et social du cheval de l'institut français du cheval et de l'équitation, il représentait en 2018, 30 417 éleveurs et environ 66 000 emplois en activité principale et environ 11 milliards d'euros de flux ont été générés par les activités équines en 2017, majoritairement par le secteur des courses.

Optimiser les performances de reproduction des juments constitue donc un enjeu majeur pour les éleveurs et un défi pour les vétérinaires car le cheval est une espèce saisonnière et en cela, le nombre de cycles exploitables chaque année est limité, d'autant plus que la jument produit dans la plupart des cas un seul poulain par an. Les techniques de reproduction assistée telles que le transfert d'embryon sont en plein essor en France en permettant la multiplication du nombre de produits issus d'une mère de haute valeur génétique et la préservation de la carrière sportive des juments.

Dans les bassins d'élevage équin, la reproduction des juments sur le terrain est généralement gérée par des cabinets vétérinaires ou par des centres de reproduction. Cependant, il existe peu d'études de terrain analysant les performances de reproduction des juments en France et les facteurs qui influencent la fertilité des juments. De même, la production d'embryons, réalisée par des centres privés, est une technique de reproduction dont l'utilisation est encore marginale en France comparativement à l'insémination animale ou à la saillie naturelle et pour laquelle il est difficile d'analyser les différents facteurs ayant une influence sur la production d'embryons. Cette thèse a pour objectif d'évaluer la gestion de la mise à la reproduction des juments ainsi que d'étudier les répercussions de certains facteurs sur leur fertilité. Dans le même esprit, ce travail évaluera la production d'embryons et les facteurs de variation, dans le cadre d'un centre de reproduction.

Dans ce cadre, nous avons analysé les données de suivis de reproduction des juments réalisés sur les cinq dernières années (de 2014 à 2018) dans un centre de reproduction, implanté en Seine Maritime (Normandie) par le Docteur Chollet, vétérinaire et chef de centre, pratiquant l'insémination artificielle et la collecte d'embryons.

La première partie est une synthèse bibliographique sur la dynamique de l'élevage équin français au cours des dernières années, les principales techniques de reproduction pratiquées en France, ainsi que les moyens techniques à disposition des vétérinaires pour la gestion des cycles de reproduction. La seconde partie expérimentale présentera l'analyse de 734 suivis de reproduction afin de dégager et de discuter des facteurs influençant la fertilité chez la jument. De la même façon, les résultats de 35 suivis gynécologiques menés pour la production d'embryons seront analysés.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. L'élevage équin en France

a. Organisation de l'élevage en France

1. *Le cheptel français*

Selon l'Institut Français du Cheval et de l'Équitation (IFCE), la France détenait en fin d'année 2016 environ 1 060 000 équidés sur son territoire, comprenant 68% de chevaux de selle et poneys, 16% de chevaux de course et 16% de chevaux de trait et ânes (*Figure 1*).

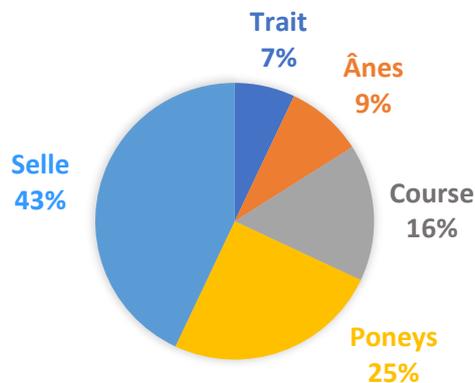


Figure 1: Répartition des types d'équidés au sein du cheptel français en 2016.

La France est le deuxième pays d'Europe pour la production d'équidés après l'Allemagne (1 300 000 équidés en 2017) et 31% d'entre eux se situent dans les régions de Normandie, des Pays de la Loire et de Bretagne. En 2018, 47 771 équidés sont nés et ont été identifiés sur le territoire français. Néanmoins, le cheptel est en baisse depuis 2012 avec une diminution du nombre de naissances (-22% entre 2009 et 2018) et d'importations (-18% entre 2012 et 2018) (Dornier, 2019).

2. *Les éleveurs et les élevages en France*

L'IFCE définit l'éleveur comme « tout propriétaire d'au moins une jument ayant été conduite à la saillie au cours de l'année ». Sur un total de 30 453 éleveurs d'équidés en France en 2018, plus de 75% d'entre eux ne possèdent qu'une à deux poulinières.

L'IFCE définit les lieux d'élevage comme des : « lieux sur lesquels a été déclaré au moins une naissance ». Le nombre d'élevage français est en baisse depuis plusieurs années. Il a diminué d'environ 30% en l'espace de 10 ans, passant de 27 128 élevages en 2008 à 19 114 élevages en 2018. Aujourd'hui, près d'un élevage sur quatre se situe dans l'ouest (Normandie, Bretagne, Pays de la Loire). La Normandie, première région d'élevage équin française, est le

territoire accueillant le plus grand nombre d'élevages (3 650 en 2018), notamment de chevaux de course pour plus de la moitié des élevages. Le nombre d'élevages Normands est en nette diminution, d'environ 20% en 10 ans. Les deux tiers des chevaux nés sur le territoire français en 2018 sont des chevaux de course et des chevaux de selle de race française et environ 25% sont nés en Normandie (Stats & cartes - Haras-nationaux, 2018).

L'année 2018 a enregistré 6417 étalons en activité « ayant réalisé au moins une saillie l'année considérée ». Les étalons de trait, représentant environ un quart des étalons en activité en 2018, sont les plus nombreux et assurent un total de 17 014 saillies tandis que les étalons de course sont les moins nombreux (12% du nombre total d'étalons) mais avec le plus grand nombre de saillies (27 080). La Normandie accueille le plus grand nombre d'étalons en activité (Figure 2) qui assurent 24 559 saillies, dont près de 75% pour les chevaux de course.

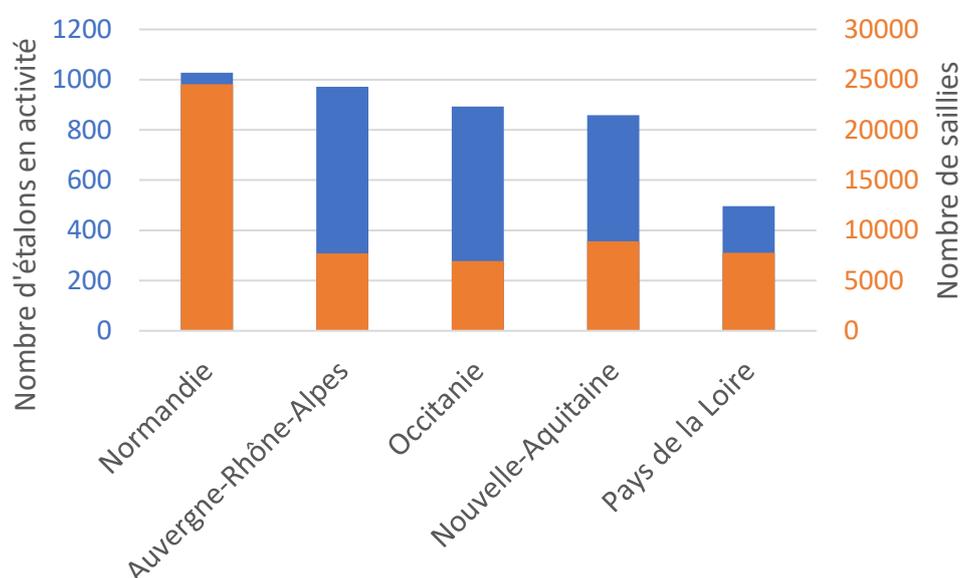


Figure 2 : Nombre d'étalons actifs et nombre de saillies dans les cinq régions accueillant le plus grand nombre de naissances en 2018. (Stats & cartes - Haras-nationaux, 2018)

Au total, 70 761 juments ont été saillies sur tout le territoire français en 2018. Le nombre de juments saillies ne cesse de diminuer année après année, correspondant à une diminution de 27% depuis 2008 (Stats & cartes - Haras-nationaux, 2018). Le nombre de juments saillies en France ainsi que le nombre de naissances sont enregistrés sur la base données de l'IFCE et permettent le calcul du pourcentage de poulains nés par jument mise à la reproduction, qui a peu varié entre 2014 et 2018, de 66,8% à 67,2% (Stats & cartes - Haras-nationaux, 2018).

II. La reproduction chez la jument

a. Le cycle œstral

La jument présente une reproduction saisonnière et est une espèce polyoestrienne. Après une période d'anœstrus hivernal, l'activité ovarienne reprend au printemps. Le cycle œstral comprend une phase folliculaire incluant la période d'œstrus pendant laquelle la jument est sexuellement réceptive à l'étalon, et une phase lutéale qui prend fin avec la lutéolyse induite par la prostaglandine F2 α . La durée moyenne du cycle œstral est de 21 à 22 jours (pouvant s'étendre de 18 à 24 jours). La durée de la période d'œstrus est plutôt variable, elle dure en moyenne 4 à 7 jours mais peut être réduite à seulement 2 jours ou inversement s'étaler sur plus de 12 jours. Au contraire, la phase lutéale a une durée plus constante, 14 à 15 jours en moyenne.

o La phase folliculaire

Le déroulement du cycle œstral met en jeu diverses hormones produites par l'épiphysse (glande pinéale), l'hypothalamus, l'hypophyse, les ovaires et l'endomètre utérin. Durant la phase folliculaire, l'hypothalamus produit la GnRH (Gonadotropin-Releasing Hormone) libérée dans le système porte hypothalamo-hypophysaire qui transporte l'hormone jusqu'à l'adénohypophyse ou anté-hypophyse. La GnRH stimule la production et la libération de FSH (Follicle-Stimulating Hormone) et de LH (Luteinizing Hormone) par l'adénohypophyse. Ces hormones libérées dans la circulation systémique agissent au niveau des ovaires. La FSH induit le recrutement d'un groupe de follicules dont la croissance d'un ou de deux d'entre eux (rarement plus) surpasse celle des autres. Les œstrogènes et l'inhibine produits par les follicules sélectionnés exercent un rétrocontrôle négatif sur la libération de FSH. Le follicule sélectionné continue de croître et devient dominant tandis que les follicules non sélectionnés dégèrent. La LH est ensuite responsable de la maturation folliculaire terminale. A partir d'un certain seuil, les œstrogènes sécrétés par le follicule dominant exercent un rétrocontrôle positif sur la sécrétion de LH qui est responsable de l'ovulation et de la lutéinisation du follicule. Les œstrogènes produits par les follicules en croissance et plus particulièrement par le follicule dominant sont responsables du comportement œstral de la jument, et l'ovulation se produit généralement dans les 48 heures précédant la fin de l'œstrus. Au sein des races légères, le diamètre des follicules à l'ovulation atteint généralement 40 à 45 mm. Les follicules préovulatoires ont un diamètre inférieur ou égal à 30 mm pour les poneys et les races miniatures, alors qu'il est supérieur à 45 mm pour les femelles de races lourdes. En complément des signes comportementaux de la jument, l'œstrus peut être mis en évidence à l'échographie et à la palpation transrectale par la présence de follicules en croissance, un utérus et un col relâchés et un endomètre utérin œdématisé (Brinsko et al., 2011).

Après l'ovulation, l'ovocyte descend dans l'ampoule de l'oviducte dans les 30 à 45 minutes. Sa viabilité maximale est maintenue dans les 6 et 12 heures post-ovulation (Mourrier, 2010). Passé ce délai, sa capacité à être fécondé diminue et si la fécondation a lieu, la viabilité de l'embryon diminue également. Une partie des spermatozoïdes déposés dans l'utérus lors de la saillie ou de l'insémination, remonte l'oviducte dans les 4 à 8 heures pour rejoindre la jonction utéro-tubaire, lieu de stockage des spermatozoïdes durant 7 jours pour

le sperme ou la semence fraîches. Le temps nécessaire pour la capacitation des spermatozoïdes n'est cependant pas connu. Ainsi, le moment optimal de l'insémination dépend de la durée de vie des spermatozoïdes une fois déposés dans l'utérus, du temps de remontée des spermatozoïdes jusqu'à l'ampoule et à la durée de la viabilité de l'ovocyte après ovulation (Mourrier, 2010).

- La phase lutéale et la gestation

La phase lutéale est initiée par la formation du corps jaune sécrétant de la progestérone. La concentration en progestérone atteint son maximum 6 jours après l'ovulation. Chez la jument non gravide, une décharge de prostaglandine F2 α est sécrétée par l'endomètre utérin entre le 13^{ème} et le 16^{ème} jour après l'ovulation et provoque la lutéolyse ce qui entraîne la chute de la concentration en progestérone circulante (Brinsko et al., 2011).

Chez la jument gravide, l'embryon arrive dans la lumière utérine environ 6 jours après l'ovulation. Entre J₁₂ et J₁₅, la mobilité de l'embryon induite par les contractions utérines et le signal hormonal, permet la reconnaissance maternelle et empêche la production de prostaglandine F2 α . Vers J₁₆, la vésicule embryonnaire s'immobilise à la base d'une corne utérine (Collectif, 2019). Le corps jaune se maintient et continue de sécréter de la progestérone, indispensable au maintien de la gestation. Aux environs du 40^{ème} jour de gestation, des corps jaunes secondaires et accessoires se mettent en place et contribuent à la sécrétion en progestérone (Brinsko et al., 2011). La vésicule embryonnaire est d'une taille suffisante (3 à 4 mm) pour être observée à l'échographie à partir de J₁₀ mais sa visualisation est plus fiable à partir de J₁₄, où elle mesure environ 16 mm. La durée de la gestation est assez variable chez la jument : entre 310 jours et 374 jours et en moyenne 340 jours (Collectif, 2019).

- Les phases de transition

L'activité de l'axe hypothalamo-hypophysaire est directement dépendant de la photopériode. Le message photopériodique est traduit en un message hormonal, le rythme de sécrétion de mélatonine par la glande pinéale. En effet, cette hormone est produite pendant la phase obscure du nyctémère. Ces modifications de rythme de sécrétion de mélatonine vont entraîner des modifications de la pulsativité de GnRH, mais avec un certain décalage de 40 à 60 jours. Ainsi, une photopériode longue constante ne permet pas d'induire une activité sexuelle constante. En transition automnale, les jours raccourcissent, ainsi que la durée nyctémérale de sécrétion de mélatonine, ce qui entraîne une inhibition de la pulsativité de GnRH en période de jours courts. Dans l'hémisphère nord, 85% des juments présentent une période d'inactivité ovulatoire qui débute à la fin de l'automne ou en l'hiver. La transition printanière se produit lorsque la longueur des jours augmente. Avant la première ovulation de l'année, l'activité ovarienne peut reprendre avec des vagues de croissance folliculaire anovulatoires. Chez ces juments, des chaleurs erratiques anovulatoires de durée variable mais fréquemment longues (elle peuvent durer parfois plus d'un mois) peuvent être observées (Brinsko et al., 2011). Il n'existe actuellement aucune méthode pour prévoir la fin de l'inactivité sexuelle. En janvier et février, les juments avec de petits ovaires fermes portant de follicules de diamètre inférieur à 15 mm sont considérées comme en inactivité profonde. A partir de fin février et mars, les juments présentant de gros ovaires avec des follicules de 25 à 30 mm sont considérées en phase de transition. Lors de ces chaleurs anovulatoires, l'utérus n'a cependant pas l'aspect œdématisé caractéristique de l'œstrus et qui signe l'imminence de

l'ovulation (Guillaume et al., 2010). Généralement, après la première ovulation de la saison et la formation d'un corps jaune, la durée des cycles suivants se régularise, même si l'œstrus peut être d'une durée augmentée en début de printemps (> 10 jours). Le mois de juin (mois pendant lequel les jours sont les plus longs) est théoriquement la période de l'année pendant laquelle la durée des chaleurs est la plus courte et le taux d'ovulation le plus élevé (Brinsko et al., 2011).

b. Les techniques de reproduction : de la monte naturelle au transfert d'embryon

1. *La monte naturelle*

Lors de monte en liberté, un étalon s'accouple avec des juments sans intervention de l'homme. Cette pratique s'organise généralement en groupe composé d'un étalon et d'un nombre variable de juments. Pour la monte en main, l'étalon est amené par l'étalonnier à la jument en chaleur qui est tenue en longe. Contrairement à la monte en liberté, la jument peut être préparée avec une bande de queue, un lavage de la région génitale, une protection de garrot mais aussi différents types d'entraves afin de ne pas blesser l'étalon. L'étalonnier planifie les sauts en fonction du nombre de juments à saillir. Un suivi échographique des juments peut s'avérer nécessaire pour choisir le moment le plus opportun pour la saillie (Doligez, Margat, 2017).

2. *L'insémination artificielle (IA)*

L'insémination artificielle peut être pratiquée par les titulaires d'une licence d'inséminateur ou par un chef de centre d'insémination. La licence d'inséminateur équin est délivrée par le préfet de région aux titulaires d'un certificat d'aptitude aux fonctions d'inséminateur ou sur titre, aux titulaires du diplôme de docteur vétérinaire ou de la licence de chef de centre pour les espèces équine ou asine (d'après l'arrêté du 21 janvier 2014 relatif aux certificats d'aptitude aux fonctions d'inséminateur et de chef de centre d'insémination artificielle dans les espèces équine et asine, disponible sur LEGIFRANCE).

Les avantages de l'IA sont nombreux. Tout d'abord elle permet de saillir plusieurs juments avec un éjaculat. Elle permet également de séparer dans le temps et dans l'espace le prélèvement des étalons et l'insémination des juments. Au niveau sanitaire, l'IA supprime le risque de transmission de maladie en raison de l'absence de coït et de la limitation des mouvements ou du contact entre animaux. La contamination de l'utérus est également diminuée par rapport à la monte naturelle. Pour l'étalon, l'IA permet la diminution du risque de blessures par les juments mises à la reproduction et de réduire ou optimiser le nombre de sauts par la production de doses et de paillettes. Il est aussi possible d'exploiter pour la production de semence, les étalons non utilisables pour la monte naturelle pour différentes raisons : la difficulté de manipulation (comportement), leur indisponibilité lors de carrière sportive ou leur décès (Collectif, 2009).

Néanmoins, l'IA représente un coût financier plus élevé que la monte naturelle. Un autre inconvénient est l'impossibilité de congeler ou de réfrigérer la semence de certains

étalons qui supporte mal les variations de température. On estime qu'environ 25% des étalons de sang présenteraient une semence non réfrigérable et que la moitié posséderaient une semence non congelable (Collectif, 2019). La fertilité des juments par cycle est réduite si on utilise de la semence congelée par rapport à la semence fraîche ou à la monte naturelle et le suivi échographique est nécessairement plus rigoureux (Collectif, 2009).

- L'IA de semence Fraîche (IAF)

L'insémination en semence fraîche nécessite que l'étalon et la jument soient proches. Lors d'une IA « immédiate », la semence est mise en place dans le tractus génital de la jument dans l'heure qui suit la récolte. La semence peut être mise en place pure et l'insémineur dispose alors de quelques minutes entre la récolte et l'insémination. Au-delà de ce délai, la semence sera filtrée pour extraire la fraction gélifiée du sperme, puis diluée avec du lait demi-écrémé. L'objectif est d'obtenir une dose d'environ 10 mL contenant au moins 200 millions de spermatozoïdes. La dose, conditionnée dans une seringue, peut être conservée pendant 1 heure à température ambiante. En moyenne, un éjaculat permet de produire 25 doses (Margat, Doligez, 2017).

- L'IA de semence réfrigérée (IAR)

Lorsque la jument et l'étalon ne se trouvent pas à proximité l'un de l'autre lors de la récolte, la semence peut-être réfrigérée 12 à 24 heures à 4°C et transportée. Différents dilueurs peuvent être utilisés comme le lait demi-écrémé, des milieux à base de lait (INRA82®) ou le milieu INRA96® contenant la fraction purifiée des caséines du lait (Vidament et al., 2019). Le milieu INRA96®, classiquement utilisé, contient un mélange de sels et de sucres, du phosphocaseinate natif (fraction purifiée des caséines) ainsi que des antibiotiques (pénicilline et gentamycine), et un antifongique (amphotéricine). Si le lait demi-écrémé ou l'INRA82® sont utilisés en tant que dilueur, des antibiotiques, habituellement de la gentamycine et de l'amoxicilline, sont ajoutés (Margat et al., 2018). Selon l'IFCE, les doses réfrigérées moins de 12 heures doivent contenir au moins 200 millions de spermatozoïdes. Les doses maintenues réfrigérées plus de 12h (donc les doses utilisées le lendemain de la récolte après transport) contiennent entre 200 et 400 millions de spermatozoïdes (Vidament et al., 2019). Pour le transport, les tubes de semence sont disposés dans un container spécial Equitainer® maintenant une température à 4°C pendant 48 heures (Collectif, 2014).

Lors de saillie naturelle ou d'insémination de sperme frais ou réfrigéré à 4°C durant moins de 12 heures, la fertilité par cycle est de 50 à 60% (Mourrier, 2010). Pour le sperme conservé 24 heures et plus ou le sperme congelé, la fertilité par cycle est diminuée et est très variable d'un étalon à l'autre, elle peut chuter jusqu'à 25 % pour la semence réfrigérée 24 heures (Collectif, 2014). Cette baisse de fertilité serait dû à un épuisement des ressources métaboliques des spermatozoïdes et à une désorganisation de la membrane plasmique lors de la baisse de température (Collectif, 2019).

- IA de semence congelée (IAC)

La semence est tout d'abord filtrée, puis diluée une première fois avec un milieu à base de lait. Le mélange est centrifugé pour éliminer le plasma séminal. Le culot est ensuite dilué avec un milieu de congélation auquel on ajoute du jaune d'œuf ou du plasma de jaune d'œuf

ainsi qu'un agent cryoprotecteur, le plus utilisé étant le glycérol chez le cheval (agent pénétrant qui réduit la formation de cristaux intracellulaires). Plusieurs milieux de congélation peuvent être utilisés tels que l'INRA 96® ou l'INRA Freeze®. Le sperme est ensuite refroidi jusqu'à 4°C et conditionné en paillette de 0,5 mL contenant 50 millions de spermatozoïdes. Les paillettes sont mises au congélateur pour atteindre -140°C puis dans l'azote liquide, à -196°C, dans lequel elles sont stockées. La congélation entraîne des dommages cellulaires et biochimiques des spermatozoïdes, en raison notamment de la formation de cristaux intracellulaires et de la déshydratation intracellulaire. Des ROS (Reactive oxygen species) peuvent être produites et entraîner la fragmentation de l'ADN. La congélation entraîne également des réactions acrosomiales prématurées et une augmentation de la proportion de spermatozoïdes capacités après décongélation. Il en résulte une diminution de leur capacité à féconder l'ovocyte au-delà de 12 à 24 heures (Ponthier et al., 2014).

L'IFCE conseille d'utiliser 8 paillettes pour chaque insémination, soit 400 millions de spermatozoïdes (Vidament et al., 2017). Cependant, le nombre de paillettes prévu dans les contrats de saillie est de plus en plus réduit et parfois, une seule paillette est disponible par IA. La mise en place de la semence est réalisée dans le corps utérin ou en haut de la corne utérine ipsilatérale au follicule pré-ovulatoire (insémination profonde). L'objectif étant de déposer la semence au plus près de la jonction utéro-tubaire, lieu de stockage des spermatozoïdes dans l'appareil génital de la jument (Vignaud, Marnay, 2017).

Lorsque la semence est réfrigérée plus de 12 heures ou congelée, on peut espérer une fertilité par cycle entre 40 et 50% (Mourrier, 2010).

3. Le transfert d'embryon

Le transfert d'embryon est une technique de reproduction assistée consistant à prélever l'embryon dans l'utérus d'une jument « donneuse » pour le transférer dans l'utérus d'une jument « receveuse » (ou « porteuse ») qui assurera la gestation jusqu'au terme. Cette technique représente de nombreux avantages. Elle permet d'obtenir plus d'un poulain par an issu d'une mère de haute valeur génétique mais également d'éviter une gestation et ses risques associés sur les juments âgées, trop jeunes ou dans un état ne leur permettant pas mener une gestation. Elle permet également de maintenir la carrière sportive des juments dont le propriétaire souhaite un poulain (McCue, Squires, 2015).

La jument donneuse est saillie lors de sa chaleur. Après la fécondation, l'embryon quitte la région ampullaire de l'oviducte (lieu de fécondation) et arrive dans l'utérus entre 144 heures (6 jours) et 156 heures (6,5 jours) post-ovulation (McKinnon et al., 2011). Le taux de collecte embryonnaire est le plus élevé lorsque la collecte est effectuée entre J₇ et J₉ post-ovulation (avec J₀ le jour de l'ovulation) qu'à J₆ (Collectif, 2019). Les collectes sont habituellement réalisées entre J₇ et J₈ car à J₉, l'embryon est souvent d'une taille trop importante et est plus fragile (McCue, Squires, 2015). Entre J₆ et J₉ la taille de l'embryon est extrêmement variable. A J₇, il peut mesurer entre 160 et 840 µm et à J₈ entre 380 et 1640 µm. Le jour de la collecte doit être adapté à la jument. Chez les juments de plus de 15 ans, les juments inséminées en phase post-ovulation ou les juments toujours en activité sportive susceptibles de présenter un stress, la descente de l'embryon dans l'utérus peut être retardée

jusqu'à 8 jours après l'ovulation. Il convient alors d'effectuer une collecte plus tardive, à J₈ voire J_{8,5} (Collectif, 2019).

D'un point de vue pratique, la collecte est réalisée par voie vaginale et consiste à réaliser des lavages successifs de l'utérus sans toutefois être capable de déterminer au préalable qu'un embryon est bien présent dans l'utérus car il n'existe pas de méthode pour diagnostiquer avec certitude une gestation aussi précoce. Une sonde à deux voies (air et liquide) est introduite par voie vaginale dans le corps utérin, le ballonnet est gonflé et plaqué contre le col. Le milieu de lavage est introduit et collecté par gravité : la collecte en poche ou en bouteille consiste à relier le milieu de collecte à l'utérus par une sonde simple. L'utérus est rempli en plaçant le récipient en hauteur puis le liquide est récupéré lorsque la bouteille ou la poche sont placées en dessous du niveau de l'utérus. Cette opération doit être réalisée au moins 3 fois. Le liquide de lavage collecté peut être filtré au laboratoire dans un deuxième temps pour rechercher le(s) embryon(s). Une autre méthode plus rapide consiste à installer un filtre relié à la sonde, en amont du récipient de collecte (Collectif, 2019).

Le liquide de collecte peut être un milieu tampon spécifique du commerce pouvant contenir des antibiotiques et une source protéique, ou du Ringer lactate supplémenté ou non en sérum de veau ou en albumine de sérum bovin. Ce liquide de collecte peut être préalablement chauffé jusqu'à 37°C. Le nombre de lavages et la quantité introduite à chaque lavage dépend généralement du praticien et du volume de l'utérus. La recherche d'embryon(s) peut se faire par un examen visuel (le stade blastocyste peut-être visible à l'œil nu) ou réalisée à la loupe binoculaire au terme de chaque siphonnage ou une fois la totalité de la filtration achevée (McCue, Squires, 2015). La recherche de l'embryon doit se faire dans l'heure suivant la collecte, à température ambiante (20-25°C) et sous hotte à flux laminaire (Collectif, 2019).

Après la collecte, il est conseillé d'administrer un analogue de prostaglandine F_{2α} à la jument donneuse. Leur effet lutéolytique permet la réduction de la durée de la phase lutéale, facilite l'évacuation de liquide restant dans l'utérus et évite une éventuelle gestation non désirée dans le cas d'échec de la collecte d'un embryon (McCue, Squires, 2015).

L'embryon collecté est ensuite lavé dans des bains successifs (l'IFCE recommande 10 bains) pour éliminer les desquamations utérines et les éventuelles bactéries. Le liquide de collecte ou un milieu tampon spécifique du commerce tel que l'Embryo Holding[®] peuvent être utilisés pour ces lavages. L'embryon est directement transféré dans l'utérus de la femelle porteuse ou réfrigéré entre 5 et 8°C pendant 24 heures lorsque la jument porteuse n'est pas sur place. L'embryon peut être également congelé dans de l'azote liquide. La baisse de la température peut être effectuée progressivement et par palier ou de manière ultra rapide (vitrification) (McCue, Squires, 2015). En France, les techniques de congélation des embryons équins ne sont pas suffisamment maîtrisées pour être utilisées sur le terrain. La principale difficulté est la grande taille de l'embryon à la collecte qui est généralement supérieure à 300 µm à J₇ ou J₈ et la capsule qui empêche la pénétration du cryoprotecteur dans l'embryon, ce qui rend plus difficile sa congélation. En 2014, les travaux de recherche menés par l'INRA et la Jumenterie du Pin ont néanmoins abouti à la naissance des quatre premiers poulains issus d'embryons cryoconservés en France (Collectif, 2019).

Selon McCue et Squires, (2015), le taux de collecte par cycle est de 50 à 65% mais varie en fonction de la fertilité de la donneuse, de l'étalon et du type de semence utilisée. Le taux de gestation des juments porteuses après transfert est quant à lui satisfaisant (entre 70 et 90%). Ainsi, le taux de succès d'un transfert d'embryon (taux de gestation précoce des receveuses) se situe entre 35 et 59%. A cela s'ajoute un taux d'avortement de 8 à 10% entre le diagnostic de gestation précoce et le terme, similaire à ce qui est observé pour une gestation de son propre produit).

Selon les réponses à un sondage diffusé à 11 centres de reproduction français pour les saisons 2014 et 2015, il semble que les pratiques de la collecte d'embryons sont relativement similaires entre les praticiens. Quelques divergences ont été relevées concernant des points spécifiques tels que la nature du milieu de collecte utilisé, le nombre de lavages utérins par session de collecte (de 4 à 6 litres), l'utilisation ou non d'ocytocine pendant la procédure ainsi que de sédatifs ou d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (Bruyas, Autard de Bragard, 2018).

4. Techniques de reproduction équine utilisées en France

En 2018, les trois principales techniques de reproduction équine en France sont la monte en main (32,8%), l'insémination artificielle immédiate (25,3%) et la monte en liberté (23,9%) (Figure 3).

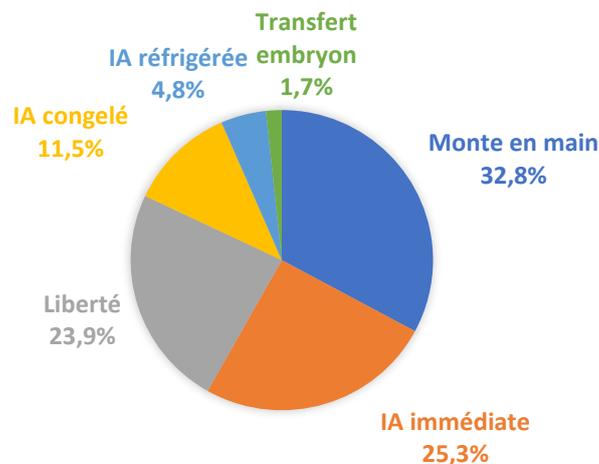


Figure 3: Répartition des techniques de reproduction équine utilisées en France en 2018. (Stats & cartes - Haras-nationaux, 2018)

Les stud-books de chaque race fixent les conditions d'approbation, c'est-à-dire les conditions d'autorisation des étalons et des juments à produire dans la race, et définissent les techniques de reproduction autorisées. Par exemple, afin d'assurer une diversité génétique, les stud-book français du cheval Pur-Sang et de l'AQPS (race Autre Que Pur-Sang) interdisent l'insémination artificielle et le transfert d'embryons. Seuls les produits issus d'une saillie naturelle de la poulinière par un étalon sont inscriptibles au stud-book (d'après le règlement du stud-book du Pur-Sang et de l'AQPS (FRANCE GALOP, 2018)). Chez le Trotteur Français, la collecte d'embryons est également interdite et seules l'IAF et l'IAR non transportée sont

autorisées, l'étalon doit donc être sur place (d'après le règlement du stud-book du Trotteur Français, (LeTrot, 2019)).

Pour les races françaises de selle, on retrouve des techniques de reproduction diversifiées avec 31,8% d'IA en congelé, 22,3% de monte en main, 17,9% de reproduction de liberté, 13,2% d'IA immédiate, 10,6% d'IA réfrigérée et 4,1% de transfert d'embryon (556 transferts en 2018). Chez les poneys, 55% de la reproduction concerne la monte en liberté et 23% la monte en main. Si l'insémination est pratiquée, c'est principalement avec de la semence congelée. Il en est de même pour les chevaux de trait pour lesquels 59,1% de la mise à la reproduction est effectuée en liberté en 2018 et 36,5% en monte en main. L'insémination reste rare pour ces races (Stats & cartes - Haras-nationaux, 2018).

Le transfert d'embryon est une technique de plus en plus utilisée depuis quelques années. Le nombre de juments donneuses a presque doublé en l'espace de 4 ans passant de 462 en 2013 à 802 juments donneuses en 2017. Le nombre de poulains nés de transfert d'embryon est également passé de 559 en 2013 à 838 poulains en 2017. Les donneuses proviennent en majorité du grand-Ouest et c'est également dans ces régions que se trouvent les plus grands centres de transferts embryonnaires. Les jeunes juments trotteuses réformées sont actuellement privilégiées comme porteuses (Collectif, 2019).

c. La gestion des juments mises à la reproduction

1. *Traitement de synchronisation des chaleurs*

Le contrôle du moment de la survenue des chaleurs peut être intéressant pour la synchronisation d'un groupe de juments appartenant à un même propriétaire, pour la réduction du temps de pension de juments placées dans un haras ou de l'intervalle de temps entre les saillies. Plusieurs stratégies sont possibles.

La première méthode consiste à utiliser de la prostaglandine F_{2α} (PGF_{2α}) et ses analogues pendant la phase lutéale en induisant la régression du corps jaune et la chute de la progestéronémie en 48 heures. Ceci permet de supprimer le rétrocontrôle négatif induit par les progestagènes sur l'axe hypothalamo-hypophysaire. Les traitements à base de PGF_{2α} doivent être administrés lorsque le corps jaune est suffisamment mature, soit à partir du 5^{ème} jour post-ovulation. Pour une administration entre le 6^{ème} et le 8^{ème} jours post-ovulation, le début de l'œstrus apparaît en moyenne dans les 3 à 5 jours suivants, mais la réponse de la jument dépend des stades auxquels se trouvent ses follicules ovariens au moment de l'injection.

La seconde méthode utilise des traitements à base de progestagènes pour mimer la phase lutéale. A l'arrêt du traitement, la progestéronémie chute, l'inhibition de l'axe hypothalamo-hypophysaire est levée et l'œstrus débute.

Enfin, il est possible d'associer un traitement à base de progestagènes durant 7 à 10 jours et une injection de prostaglandine au terme de cette période. L'œstrus débute dans les

3 jours suivants. La survenue de l'œstrus dépend du stade de la vague folliculaire (Bruyas, 2017).

2. Traitement d'induction de l'ovulation

Il est classiquement préconisé d'induire l'ovulation lorsque la jument présente un follicule ovarien d'un diamètre supérieur ou égal à 35 mm. Plusieurs spécialités de GnRH ou d'analogues (la buséréline, gonadoréline et desloréline) peuvent être utilisées en injection intra-veineuse, sous-cutanée ou sous forme d'implant sous-cutané. Leur administration permet une augmentation des concentrations circulantes en LH et induit l'ovulation majoritairement entre 24 et 48 heures après l'administration.

Une gonadotrophine chorionique humaine (hCG, human Chorionic Gonadotropin) peut également être utilisée. L'ovulation se produit dans les 36 à 48 heures après l'injection (Choppin de Janvry, 2018).

PARTIE EXPERIMENTALE

Cette partie expérimentale a pour objectifs de décrire, dans le cadre d'un centre de reproduction du Docteur Chollet en Normandie, la gestion de la reproduction de 734 juments mises à la reproduction et la production d'embryons in vivo de 35 juments, et les facteurs de variation de la réussite de ces biotechnologies.

I. Matériels et méthodes

a. Enregistrement des suivis de reproduction

Les suivis de reproduction étudiés dans cette étude ont été effectués par le Docteur Chollet entre 2014 à 2018. Pour 10 des 1242 cycles exploités pris en compte, l'insémination a été réalisée par un autre vétérinaire (dont 2 cycles pour le transfert d'embryons). Les diagnostics de gestation ont été effectués par le Docteur Chollet ou par un autre vétérinaire en fonction du propriétaire.

Le Haras du Petit Hautier est labélisé REQS3 (Reproduction équine qualité services niveau 3). Les labels REQS ont été mis au point par la FADETEQ (Fédération des acteurs du développement des techniques de reproduction équine) avec l'aide de l'IFCE et regroupent trois niveaux : REQS1, REQS2 et REQS3 le plus exigeant. Ce label certifie une haute qualité d'hygiène des pratiques et des infrastructures, et assure les bonnes pratiques du suivi des juments, de la préparation et du contrôle des doses et des paillettes, et des inséminations. Il garantit également un niveau de bien-être optimale pour les juments et les étalons hébergés au sein de l'établissement avec des infrastructures de qualité.

La clientèle du haras est essentiellement composée de propriétaires possédant des chevaux de sport (chevaux de CSO et de dressage) ainsi que des poneys. Selon les préférences des propriétaires, les juments étaient logées au haras durant tout le suivi jusqu'au diagnostic de gestation.

Les suivis de reproduction ont été enregistrés sur le logiciel Gynebase® permettant de centraliser et de stocker les fiches gynécologiques de chaque jument. Un exemple de fiche gynécologique est présenté sur la *Figure 4*.

Ces fiches comportent :

- Les coordonnées des propriétaires,
- Le signalement des juments (nom, N° SIRE, origine : père et mère),
- Le nom de l'étalon choisi,
- La date de premier saut (DPS),
- L'ensemble des suivis échographiques de la saison. Pour chaque suivi, il est noté :
 - la date et l'heure de l'examen gynécologique,
 - la présence ou non de follicule(s) sur chaque ovaire ainsi que leur taille et leur forme,
 - le degré d'infiltration de l'utérus,

- les traitements de maîtrise des cycles administrés (synchronisation des cycles et induction de l'ovulation),
- les traitements du trouble de la reproduction (lavage utérin, ocytocine, cloprosténol, antibiotiques...),
- les autres traitements (vermifuges, vaccins, collyre ophtalmologique...),
- les inséminations : technique choisie (IAF, IAR, IAC), le volume des doses ou le nombre de paillettes utilisées,
- les actes réalisés : insémination (technique choisie, nombre de paillettes utilisées), pose d'agrafes, vulvoplastie, examens complémentaires,
- le résultats des ou du diagnostic(s) de gestation ainsi que la taille de l'embryon,
- les autres commentaires : aspect échographique de l'utérus, état du col utérin, livraison de la semence retardée...

Suivi gynécologique		
Diagnostic de gestation	Terme	Nb chaleurs exploitées
DG2 + le le 28/09/2018	27/04/2019	2
Date	Acte	Commentaire
28/09/2018	DG +	
06/06/2018	DG +	Commentaire : VESICULE 18,2 MM
24/05/2018	E	Heure : 04:42 OG : OV OD : RAS Uterus : +/- Commentaire : AGRAFAGE VULVE
24/05/2018	OV	
23/05/2018	E	Heure : 12:02 OG : 50DEF OD : POLY Uterus : +/-
23/05/2018	IA Rt	Heure : 12:10 Commentaire : IAR 15 ML BONNE SEMENCE
22/05/2018	E	Heure : 08:11 OG : 48 DEF OD : RAS Uterus : ++
22/05/2018	Ic	Commentaire : CHORULON 1500 IV
21/05/2018	E	Heure : 05:41 OG : 47,POLY OD : POLY Uterus : +++ Commentaire : a voir demain
19/05/2018	DG -	Commentaire : VIDE
19/05/2018	E	Heure : 10:32 OG : 41, POLY

Figure 4: Exemple de fiche gynécologique provenant du logiciel Gynebase®.

b. Techniques de reproduction pratiquées au Haras du Petit Hautier

Le Docteur Chollet est chef de centre d'insémination et pratique l'insémination, la collecte d'embryons mais également la récolte, le conditionnement et le stockage de semence fraîche, réfrigérée et congelée.

Les techniques de reproduction utilisées sont :

- La monte naturelle,
- L'insémination de sperme frais non dilué dans les 10 à 15 minutes suivant sa récolte,
- L'insémination de semence fraîche diluée avec un dilueur INRA 96® dans l'heure qui suit sa récolte,
- L'insémination de semence réfrigérée préparée par le Docteur Chollet ou commandée dans la matinée à J₀, reçue et mise en place 24 heures plus tard (J₁),
- L'insémination de semence congelée. Les IAC sont toujours pratiquées avec la sonde spécifique pour l'insémination profonde,
- La collecte d'embryons. Les embryons sont ensuite réfrigérés et transportés vers d'autres haras pour être transférés sur des femelles porteuses.

Le contrôle de la qualité de la semence est systématiquement réalisé avant chaque insémination quelle que soit la technique de reproduction utilisée.

c. Critères échographiques des suivis gynécologiques

Lorsque des propriétaires souhaitent faire reproduire leur(s) jument(s), le Docteur Chollet procède à un premier examen échographique au haras afin de déterminer à quel stade du cycle la jument se situe. Suite à cet examen, selon le stade du cycle et les préférences du propriétaire, la jument est hébergée au haras pour poursuivre le suivi lorsque les chaleurs sont proches, ou alors un rendez-vous est pris pour un examen échographique ultérieur.

Les critères du suivi échographique permettant d'évaluer la proximité de l'œstrus sont :

- L'évolution de l'infiltration utérine,
- Un follicule d'un diamètre supérieur ou égal à 30 mm.

Les critères échographiques permettant de définir l'œstrus sont:

- Un utérus infiltré,
- Un follicule de diamètre supérieur ou égal à 35 mm associé une croissance folliculaire,
- En cas de doute, un examen du vagin et du col utérin est effectué : la présence de mucus vaginal et le relâchement du col utérin confirment le diagnostic d'œstrus.

d. Traitements de maîtrise des cycles

1. *Synchronisation des chaleurs*

Les analogues de la prostaglandine F2 α et les spécialités utilisées sont :

- Le luprostiol, PROSOLIN[®] (Virbac, Carros, France, AMM équin) : 2 ml en injection intramusculaire,
- Le cloprostenol, ESTRUMATE[®] (MSD Santé Animale, Beaucouze, France, AMM équin) : 0,25 mg soit 1 ml en injection intramusculaire.

2. *Induction de l'ovulation*

Les molécules et spécialités utilisées sont :

- Des gonadotropines chorioniques (hCG), CHORULON[®] (MSD Santé Animale, Beaucouze, France, AMM équin), à la posologie de 1500 UI par voie intraveineuse.
- Des analogues de synthèse de la GnRH sont particulièrement utilisés sur les juments qui n'ovulent pas après une administration de CHORULON[®] ou pour limiter l'immunisation des juments contre cette spécialité après 1 à 2 injection(s) dans la saison. Les différentes molécules et spécialités utilisées sont :
 - la desloréline avec l'OVUPLANT[®] (Dechra Veterinary Products, Montigny-le-Bretonneux, France, AMM équin) : implant sous-cutané à 2,1 mg, disposé au niveau de la sous-muqueuse vulvaire et laissé en place,
 - la buséréline avec le SUPREFACT[®] (Sanofi-Aventis, Paris, France, spécialité humaine utilisée hors AMM) : à la posologie de 6 mg en injection sous-cutanée, soit 6ml. Sa commercialisation a pris fin en 2016 mais la spécialité a été utilisée par le Docteur Chollet jusqu'en 2017,
 - la triptoréline avec le DECAPEPTYL 0,1 MG[®] (Ipsen, Boulogne-Billancourt, France, spécialité humaine utilisée hors AMM) : à la posologie de 0,1 mg en injection sous-cutanée, en remplacement du SUPREFACT[®] après l'arrêt de sa commercialisation.

e. Traitement progestagène de soutien de la gestation

Du REGUMATE[®] Equin 2,2 mg/ml (MSD Santé Animale, Beaucouze, France), contenant de l'altrénogest, analogue de la progestérone, est donné par voie orale à raison de 10 ml de solution buvable pour 500 kg, soit 0,044 mg/kg par jour aux juments suspectées de présenter une insuffisance lutéale en raison d'un échec de gestation. L'administration de REGUMATE[®] débute dès l'ovulation ou à partir du premier diagnostic de gestation et est poursuivie durant les 100 premiers jours de la gestation.

f. Prévention, diagnostic et traitement des endométrites

Les éléments de suspicion ou de diagnostic clinique d'inflammation utérine sont :

- La présence de liquide utérin à l'examen échographique,
- Une muqueuse utérine d'échogénicité hétérogène précocement par rapport au stade du cycle, c'est-à-dire avant la survenue des chaleurs,
- Un liquide de lavage utérin trouble,
- Du pus à la vulve,
- Des échecs répétés de gestation sur des chaleurs bien exploitées.

Les examens complémentaires réalisés en cas de suspicion d'endométrite sont :

- La cytologie utérine : elle a notamment été utilisée en cas de suspicion d'endométrite subclinique responsable d'infertilité,
- La bactériologie utérine : notamment réalisée lors d'une cytologie positive (présence de 2 à 3 polynucléaires neutrophiles par champ, au grossissement 40). Elle est utile lors d'infection utérine suite à une endométrite persistante, mais également lors de saillie naturelle,
- La biopsie utérine : des biopsies ont été réalisées le plus souvent en début de saison pour des juments avec un historique de vacuité ou d'interruption de gestation répétée ou en fin de saison après plusieurs échecs de gestation. Elle permet d'apprécier d'éventuelles lésions de dégénérescence de l'endomètre et de préciser le pronostic reproducteur.

Les signes d'inflammation utérine ont été prises en charge avec :

- L'injection isolée ou répétée d'ocytocine, (BIOCYTOCINE[®], Biové, Arques, France) au cours du cycle, à raison de 2 ml par voie intra-musculaire (soit 20 UI pour 500 kg) ou 1 ml par voie intra-veineuse (10 UI pour 500 kg) ou les deux voies associées. L'ocytocine entraîne la contraction des muscles lisses de l'utérus permettant sa vidange. Le cloprostenol (ESTRUMATE[®], 0,25 mg par jument soit 1 ml en injection intramusculaire) ayant un effet utérotonique, a également pu être utilisé. L'ocytocine est utilisée lors d'accumulation de liquide utérin au cours du cycle mais peut également être administrée à titre préventif.
- Des lavages utérins au cours de la chaleur, associés à l'administration de BIOCYTOCINE[®] ou d'ESTRUMATE[®]. Avant l'ovulation, des lavages au Ringer lactate contenant de la VETEDINE[®] solution, diluée à 2 ml/L (dilution à 0,2%), sont effectués. Après l'ovulation, les lavages sont réalisés sans VETEDINE[®] solution (Vetoquinol, Lure, France). Le volume intra-utérin injecté dépend du gabarit de la jument. Le nombre de lavages dépend de la réponse clinique de la jument au traitement : les lavages sont arrêtés lorsque le liquide utérin redevient clair. Les lavages post-insémination sont effectués au plus tôt 4 heures après l'insémination, notamment pour des juments avec un historique de forte réaction inflammatoire à l'insémination. Lors d'endométrite persistante, les lavages peuvent être répétés quotidiennement durant toute la période de chaleur, aucune insémination n'est alors réalisée et la jument ovule naturellement sans déclenchement médicamenteux.
- L'administration d'anti-inflammatoires non stéroïdiens ou de glucocorticoïdes (dexaméthasone) avec le RAPIDEXON[®] (Dechra Veterinary Products, Montigny-le-Bretonneux) à 0,08 mg/kg, l'AZIUM[®] (MSD Santé Animale, Beaucouze, France) à 0,1

mg/kg ou la flunixin, FLUNIJECT® (Bimeda Animal Health, Dublin, Irlande) à 1 mg/kg. Leur administration se réalise simultanément à l'insémination et est associée à un lavage post-saillie au plus tôt 4 heures après l'insémination. Ce traitement est mis en place pour les juments ayant un historique connu de forte réaction inflammatoire à l'insémination,

- Une antibiothérapie locale avec 10 ml de MARBOCYL 10%® (Vetoquinol, Lure, France) solution injectable diluée dans 250 ml de Ringer lactate lors de suspicion d'endométrite infectieuse. L'antibiotique est laissé en place dans l'utérus sans administration d'ocytocine. Le traitement est renouvelé quotidiennement pendant 3 à 5 jours. Avant chaque administration intra-utérine d'antibiotique, un lavage utérin au Ringer lactate est systématiquement réalisé.
- L'insémination de semence pur sans dilueur,
- La réalisation de vulvoplastie ou la pose d'agrafes sur la vulve.

g. Interruption de la gestation

Lors de diagnostic de gestations gémellaires, l'élimination d'une des deux vésicules embryonnaires est réalisée par un squeezing qui consiste en un écrasement manuel par voie transrectale. Cet acte est associé ou non à une injection d'ESTOCELAN® (Boehringer, Lyon, France) contenant du butylbromure de scopolamine et du métamizole, à la posologie de 1 à 1,5 ml pour 100 kg par voie intra-veineuse, soit 0,40 mg à 0,60 mg de butylbromure de scopolamine et 50 à 75 mg de métamizole par kg de poids vif. L'administration d'ESTOCELAN® permet de relâcher le rectum pour faciliter les manipulations transrectales effectuées sur l'utérus.

h. Collecte d'embryons

La collecte est effectuée à l'aide d'une sonde simple à deux voies et à ballonnet type Bivona® (IMV technologies, France) avec 4 à 5 litres de Ringer lactate, assistée ou non d'une administration d'ocytocine (BIOCYTOCINE®), 2 ml par voie intra-musculaire (soit 20 UI pour 500 kg) ou 1 ml par voie intra-veineuse (10 UI pour 500 kg) ou les deux voies associées). Le volume initial de liquide instillé dans l'utérus dépend de la taille de ce dernier et se situe entre 1 et 2L. L'objectif étant de dilater la lumière utérine pour permettre au liquide d'atteindre l'ensemble de l'utérus. L'utérus de la jument donneuse est lavé quatre fois, par séquence de 1 litre de Ringer lactate. Après la collecte complète du liquide de siphonage de l'utérus, ce dernier est filtré au laboratoire. L'embryon est ensuite rincé 10 fois à l'Embryo Holding Medium® (IMV technologies, France), puis conditionné dans une fiole d'Embryo Holding Medium® et disposé dans une boîte réfrigérée pour être envoyé aux centres pratiquant le transfert dans l'utérus de juments receveuses.

Après la collecte, des analogues de la prostaglandine F2 α ont été généralement administrés aux juments.

Le délai entre l'ovulation et la collecte n'a pas été indiqué pour une jument sur deux cycles, car elle a été suivie par un autre vétérinaire. Pour les 65 autres cycles, le délai entre l'ovulation et la collecte est connu.

- Pour 64 cycles, la collecte d'embryons a été effectuée entre J₈ et J₉ après constatation de l'ovulation :
 - o Constatation de l'ovulation à J₀ au matin et collecte à J₈ au matin (49 cycles) ou constatation de l'ovulation en début d'après-midi et collecte à J₈ en début d'après-midi.
 - o Constatation de l'ovulation au cours de l'après-midi ou de la soirée de J₀ lorsque des examens échographiques rapprochés ont été nécessaires, notamment lors de l'utilisation de semence congelée, et collecte à J₉ dans la matinée (15 cycles).
- Pour un cycle d'une jeune jument de 10 ans, la collecte a été réalisée à J₇.

Une seconde collecte a été effectuée pour 15 cycles (22,4% des cycles exploités) lorsque la première collecte s'est révélée infructueuse et les chaleurs avaient été particulièrement bien exploitées et avec de la semence de bonne qualité. Ces collectes supplémentaires ont été effectuées :

- Le même jour que la première collecte pour 3 cycles, chez de jeunes juments (5 ans, 8 ans, 11 ans respectivement)
- Le lendemain de la première collecte pour 11 cycles, chez des juments plus âgées (moyenne d'âge de 16,1 ans pour les 7 juments concernées).
- Deux jours après la première collecte pour le cycle dont la première collecte a été effectuée à J₇.

i. Analyse des données

L'ensemble des informations contenues dans les suivis de reproduction ont été enregistrées dans un tableau Excel[®]. Chaque ligne correspond à un cycle. Le tableau a été divisé en deux grandes sections correspondant au suivi pré-ovulatoire et post-ovulatoire ou pré-insémination/saillie et post-insémination/saillie, le cas échéant, et ce jusqu'au dernier diagnostic de gestation.

Pour chaque jument, les caractéristiques suivantes sont enregistrées :

- Son nom, son âge, sa race, son statut physiologique (maiden, vide ou suitée, selon la base de données de l'IFCE et les informations indiquées sur les fiches gynécologiques),
- La date de son poulinage si la jument est suitée.

Pour chaque cycle, est enregistré :

Dans la section pré-ovulatoire,

- Le rang du cycle suivi,
- La date du début du suivi du cycle,
- Les commentaires rapportant les anomalies constatées par le Docteur Chollet : kyste utérin, la présence de liquide dans la lumière utérine...,

- Les traitements de synchronisation des chaleurs : ESTRUMATE® ou PROSOLVIN®,
- Les traitements d'induction de l'ovulation : CHORULON®, DECAPEPTYL®, OVUPLANT®, SUPREFACT®,
- Concernant les traitements préventifs ou curatifs des endométrites :
 - o les moyens de prévention : vulvoplastie ou pose d'agrafes,
 - o le nombre de lavages utérins effectués,
 - o l'administration d'ocytocine,
 - o l'administration d'antibiotiques (MARBOCYL®),
 - o l'administration d'anti-inflammatoires (FLUNIJECT®, RAPIEXON®, AZIUM®),
 - o les examens complémentaires effectués : cytologie, biopsie et bactériologie utérine,
- Les autres traitements : vermifuges, vaccins...
- La taille et la forme du follicule pré-ovulatoire à la dernière échographie avant la constatation de l'ovulation,
- L'aspect échographique du follicule pré-ovulatoire s'il est anormal : follicule piqueté, contenant des filaments anéchogènes, lutéinisé ou hémorragique,
- La taille et la forme des follicules secondaires et tertiaires avant leur ovulation le cas échéant,
- La date de la mise en évidence de l'ovulation,
- L'intervalle des examens échographiques (48 heures, 24 heures, < 12 heures) à l'approche de l'ovulation,
- Concernant la mise à la reproduction:
 - o le rang de la mise à la reproduction,
 - o la technique utilisée : monte naturelle, IA en semence fraîche pure ou diluée, IAR ou IAC,
 - o le nombre d'IA au cours du cycle ainsi que leur date de réalisation,
 - o le nombre de paillettes utilisées s'il s'agit d'IAC.

Dans la section post-ovulatoire ou post-saillie,

- Les anomalies constatées (kyste, liquide utérin...)
- Concernant les endométrites :
 - o les moyens de prévention : vulvoplastie ou pose d'agrafes,
 - o le nombre de lavages utérins effectués,
 - o l'administration d'ocytocine,
 - o l'administration d'antibiotiques (MARBOCYL®),
 - o l'administration d'anti-inflammatoires (FLUNIJECT®, RAPIEXON®, AZIUM®)
 - o les examens complémentaires effectués et les résultats: cytologie, biopsie et bactériologie utérine,
- Les autres traitements : vermifuges, vaccins...
- Les traitements progestatifs de soutien de la gestation,
- La date et le résultat du diagnostic précoce de gestation et des diagnostics de gestation ultérieurs,
- La mort embryonnaire ou fœtale :
 - o l'âge de l'embryon
 - o s'il s'agit d'une mort spontanée ou provoquée ou d'une réduction embryonnaire manuelle, les traitement médicamenteux associés (ESTOCELAN®),

- La naissance d'un poulain d'après la base de donnée de l'IFCE ou les informations indiquées sur les suivis.

j. Population étudiée

Les suivis pris en compte dans cette étude concernent les juments dont le suivi échographique a été effectué par le Docteur Chollet, l'insémination étant réalisée par le Docteur Chollet ou dans un autre haras pour dix cycles pour lesquels une insémination en semence fraîche a été choisie. L'insémination a été réalisée par un autre vétérinaire au cours de 8 cycles pour la reproduction classique et pour 2 cycles pour la collecte d'embryons.

Les juments pour lesquelles les suivis de reproduction étaient incomplets, interrompus ou ponctuels n'ont pas été prises en compte (115 juments). De même, les juments décédées avant leur premier diagnostic de gestation ou le terme de leur gestation (5 juments) ont été écartées de l'étude.

Les répercussions des différentes caractéristiques des cycles ou des juments sur leur fertilité ainsi que la relation entre la gestion de la mise à la reproduction et les performances de reproduction des juments ont été évaluées par le test de Fisher exact en intégrant une correction de Bonferroni en cas de comparaison multiple. Des différences au seuil de 5 % ($p \leq 0,05$) ont été considérées significatives. Le fait d'exploiter plusieurs cycles d'une jument au cours d'une même saison n'a pas été pris en compte dans cette étude. De même la mise à la reproduction d'une même jument au cours de plusieurs saisons n'a pas été prise en compte.

L'effectif de la population est variable en fonction des facteurs étudiés car les caractéristiques de certaines juments (telles que l'âge ou le statut physiologique par exemple) et/ou de certains cycles (telles que l'induction de l'ovulation lorsque l'insémination a été réalisée par un autre vétérinaire par exemple) sont inconnues.

Entre 2014 et 2018, 494 juments représentant 769 suivis de reproduction dont 35 suivis de juments venues pour la collecte d'embryons ont donc été prises en compte (*Tableau 1, 2 et 3*). Durant cette période, 319 juments ont été suivies durant une seule saison, 106 juments ont été suivies deux saisons, 28 juments ont été suivies trois saisons, 26 juments ont été suivies quatre saisons et 10 juments ont été suivies au cours des cinq saisons. Dans la suite de cette étude, on nommera les juments suivies pour une gestation et non pour une collecte d'embryons comme les juments mises à la reproduction « classique ».

Saison	Nombre de juments suivies pour la reproduction classique	Nombre de juments suivies pour la collecte d'embryons	Nombre total de juments en suivi de reproduction
2014	116	8	124
2015	145	7	152
2016	141	3	144
2017	175	6	181
2018	157	11	168
Total	734	35	769

Tableau 1 : Nombre de juments suivies par année entre 2014 et 2018.

Saison	Nombre de juments suivies pour la reproduction classique	Nombre de cycles suivis
2014	116	242
2015	145	302
2016	141	284
2017	175	390
2018	157	313
Total	734	1531

Tableau 2: Nombre de cycles suivis par année (hors collecte d'embryons) entre 2014 et 2018.

Saison	Nombre de juments suivies pour la collecte d'embryons	Nombre de cycles suivis
2014	8	18
2015	7	15
2016	3	7
2017	6	8
2018	11	31
Total	35	79

Tableau 3: Nombre de cycles suivis pour la collecte d'embryons par année entre 2014 et 2018.

Près de 80% de la population étudiée est constituée de juments de selle dont la moitié est de race Selle Français (Tableau 4)

Race Cheval de Selle	Effectif total : 389 juments
Selle Français	257
Koninklijk Warmbloed Paard Nederland	18
Quater Horse	15
Arabe	12
Belgian Warmblood	9
Zangersheide	8
Frison	7
Origine Non Constatée Selle	7

Anglo-Europ Sport Horse	6
Oldenburg	6
Cheval de Selle	5
Paint Horse	5
Hanovrien	4
Anglo-Arabe	3
Westfalen Riding Horse	3
Origine Etrangère Selle	2
Holsteiner Warmblut	2
Irish Sport Horse	2
Origine Constatée Selle	2
Rocky Mountain Horse	2
Selle Luxembourgeois	2
Trakehner	2
Anglo-Arabe de complément	1
Anglo-Arabe de croisement	1
Cheval de Sport Belge	1
Deutsche Pferde	1
Hessen Horse	1
Pure Race Espagnole	1
Sachsen-Anhalten	1
Selle Italien	1
Shagya	1
Traditional Gypsy Cob	1
Poney	Effectif total : 67
Poney Français de Selle	20
Poney	11
Connemara	9
Welsh Pony	5
New Forest	4
Poney Origine Non Constatée	4
Poney Origine Constatée	3
Welsh Cob	3
Deutsches Reitpony	2
Welsh Mountain Pony	2
Welsh Part-Bred	2
Poney Connemara	1
Poney Landais	1
Cheval de Course	Effectif total : 16
Trotteur Français	9
Pur-Sang	4
Autre Que Pur-Sang	3
Cheval de Trait	Effectif total : 12
Boulonnais	9
Cob Normand	2
Cheval de Trait	1
Juments de race inconnue	Effectif total : 10
Inconnue	10

Tableau 4 : Nombre de juments mises à la reproduction entre 2014 et 2018 par race.

II. Description de la population de juments étudiées et des paramètres de la gestion de la reproduction

a. Description des juments et des suivis de reproduction

1. Age et statut physiologique des juments

Les juments mises à la reproduction classique ont entre 2 ans pour les plus jeunes, et 25 ans pour la plus âgée (*Figure 5*). La moyenne d'âge est de $11,7 \pm 4,8$ ans et la médiane est de 10 ans. Quarante pour cent des juments ont moins de 11 ans. La proportion de juments de plus de 16 ans est de 20 %. Dix juments sont d'âge inconnu (2 en 2014, 3 en 2015, 3 en 2017, 2 en 2018), il s'agit de juments pour lesquelles aucun numéro de SIRE n'a été enregistré, rendant impossible leur recherche sur la base de donnée de l'IFCE.

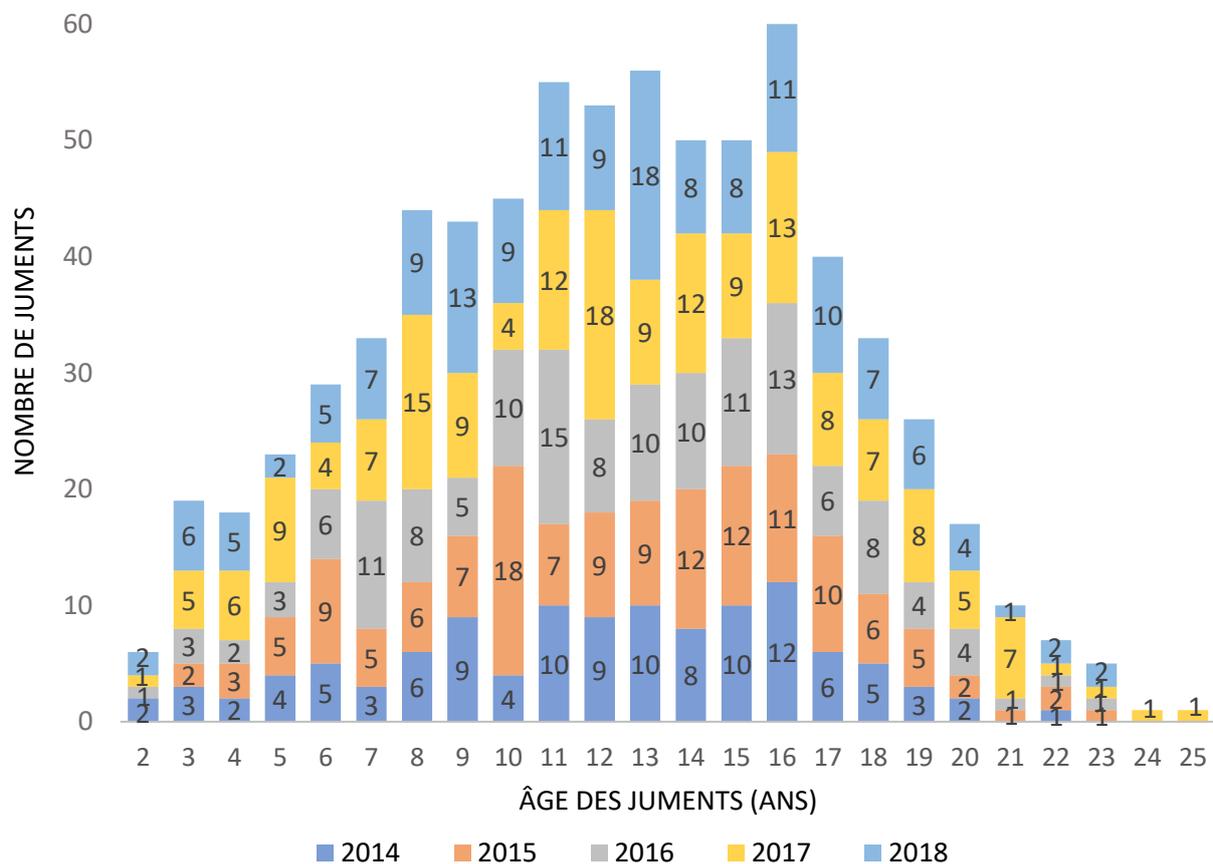


Figure 5: Distribution des juments suivies en reproduction classique en fonction de leur âge entre 2014 et 2018.

Les juments suivies pour la collecte d'embryons ont en moyenne $8,2 \pm 6,9$ ans et la médiane est à 8 ans (*Figure 6*). La proportion de juments âgées de plus de 16 ans représente 20% de la population. 40% des juments suivies pour la collecte ont moins de 7 ans.

La distribution des juments suivies pour la collecte d'embryons est plus étalée que celles suivies pour la reproduction classique et globalement, les juments suivies pour collecte sont plus jeunes.

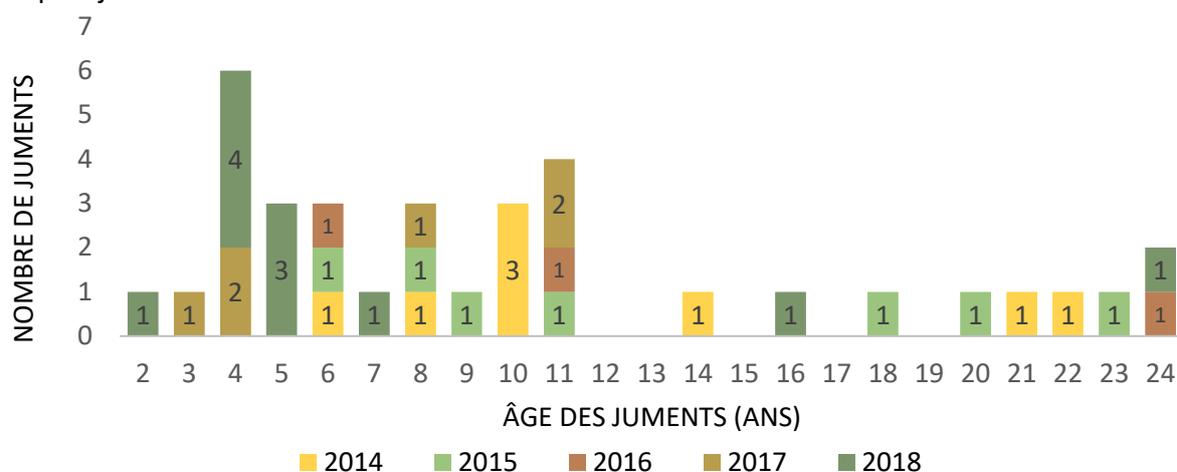


Figure 6: Distribution des juments suivies pour une collecte d'embryons en fonction de leur âge entre 2014 et 2018.

Les juments suitées sont les plus nombreuses parmi les juments suivies pour la reproduction classique (40,9% contre 20% pour la collecte d'embryons) (Tableau 5). Les juments vides représentent près de la moitié des juments suivies pour la collecte d'embryons. Vingt-sept juments ont un statut physiologique inconnu, il s'agit de juments pour lesquelles aucun numéro de SIRE n'était enregistré sur le suivi gynécologique ou pour lesquelles la section « Reproduction » n'était pas accessible sur la fiche de l'IFCE de la jument.

Statut physiologique	Effectifs des juments suivies pour la reproduction classique (proportion %)	Effectifs des juments suivies pour la collecte d'embryons (proportion %)	Total (proportion)
Maiden	159 (21,7%)	9 (25,7%)	168 (21,9%)
Vide	250 (34,0%)	17 (48,6%)	267 (34,7%)
Suitée	300 (40,9%)	7 (20,0%)	307 (39,9%)
Inconnu	25 (3,4%)	2 (5,7%)	27 (3,5%)
Total	734 (100%)	35 (100%)	769 (100%)

Tableau 5: Distribution des juments suivies pour la reproduction classique et la collecte d'embryons entre 2014 à 2018, en fonction et de leur statut physiologique.

Pour 71,0% des juments venues pour une mise à la reproduction classique (521 mises à la reproduction sur 734), 1 à 2 cycles ont été suivis (Figure 7).

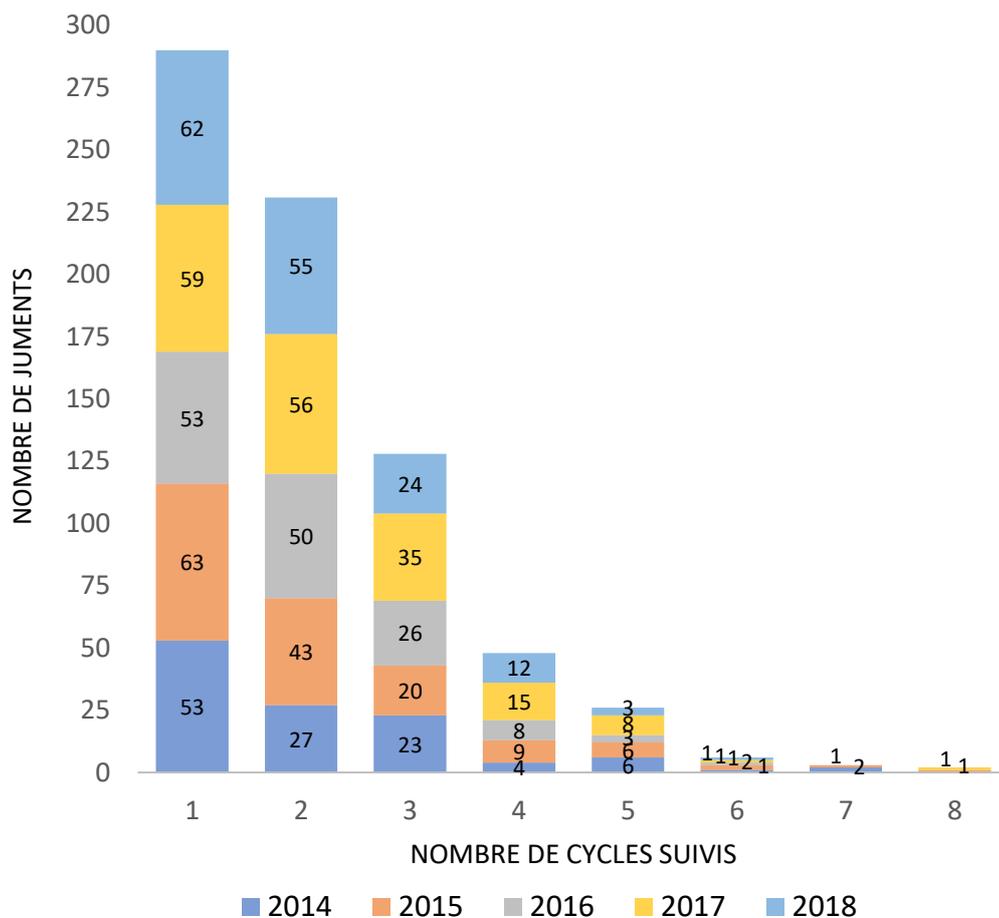


Figure 7: Répartition des juments suivies pour une reproduction classique entre 2014 et 2018, en fonction du nombre de cycle(s).

De même, 74% des juments venues au haras pour un transfert d'embryon(s) ont été suivies sur 1 à 2 cycles (Figure 8).

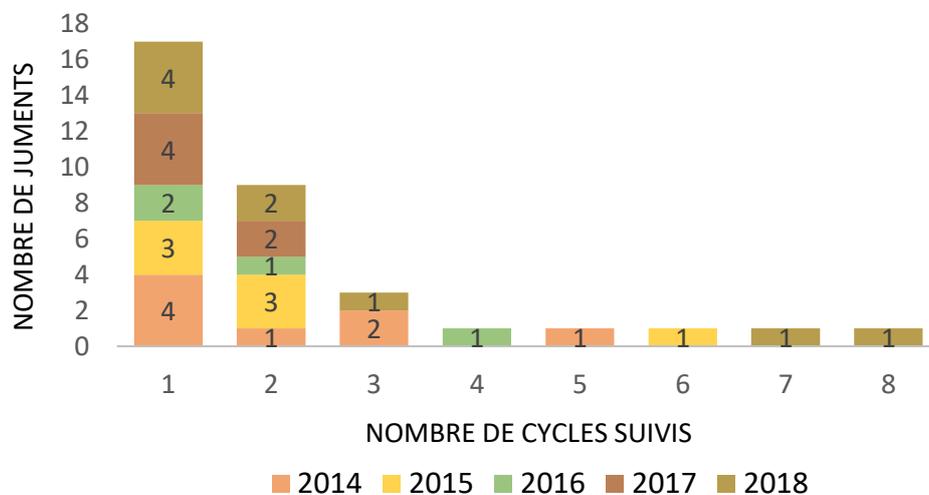


Figure 8: Répartition des juments suivies pour la collecte d'embryons entre 2014 et 2018 en fonction du nombre de cycle(s).

2. Exploitation des cycles et causes de non utilisation des chaleurs

Au cours des 5 années étudiées, 1242 cycles ont été exploités (1175 pour la gestation classique et 67 pour la collecte d'embryons). Au cours d'une saison, 1 à 5 cycles par jument ont été exploités et en moyenne, $1,6 \pm 0,8$ cycles (médiane de 1) en reproduction classique. Concernant la collecte d'embryons, 1 à 7 cycles par jument ont été exploités avec en moyenne $1,9 \text{ cycles} \pm 1,6$ (médiane de 1 cycle) exploité et en moyenne $1,2 \pm 0,4$ collectes d'embryons par cycle. Le nombre moyen de collecte d'embryons par jument et par saison est de $2,3 \pm 2,1$ collectes. Dans notre étude, le nombre de collectes a été ajusté en fonction de la production d'embryons par rapport aux objectifs du propriétaire.

Sur 1610 cycles suivis au total (1531 pour la reproduction classique et 79 pour la collecte d'embryons), 368 cycles, soit 22,8%, n'ont pas été exploités. L'analyse des suivis gynécologiques a permis de relever les principales origines de non utilisation des cycles (*Figure 9*) :

- Risques de dégradation de la fertilité (28,8%) :
 - Lors des premières chaleurs après la mise-bas appelées chaleurs de poulinage ou chaleurs de lait (70 cycles),
 - Lors de réception de semence de mauvaise qualité (1 cycle),
 - Lors de chaleurs de mauvaise qualité : une croissance folliculaire suivie d'une ovulation a été observée mais le col est resté fermé, tendu, le vagin sec et l'utérus n'était pas infiltré (28 cycles),
 - Lorsque le follicule pré-ovulatoire apparaît piqueté, résillé (contenant des filaments anéchogènes en son sein) ou hémorragique à l'examen échographique (7 cycles).
- Evaluation de la cyclicité (71 cycles, 19,3%) :
 - Lors de l'évaluation de la cyclicité ovarienne chez les juments ne présentant pas de corps jaune à leur arrivée ou en transition printanière (71 cycles).
- Problèmes de gestion de la semence (23,6%) :
 - Lorsque la semence est indisponible (10 cycles),
 - Lors du retard de la livraison de la semence (4 cycles),
 - Lors d'une ovulation précoce par rapport aux signes échographiques ou à la planification de l'insémination (73 cycles). Pour 49 de ces cycles, l'ovulation, spontanée ou induite par l'hCG ou la GnRH administrées 24 heures auparavant, a été constatée le matin même de l'insémination programmée.
- Pathologies génitales(16,6%) :
 - Lors de pathologie utérine suspectée ou avérée, certaines chaleurs sont utilisées pour le lavage de l'utérus (60 cycles). Lors de ces cycles, les juments ont reçu jusqu'à 8 lavages utérins. Près de 60% d'entre elles ont reçu 3 ou 4 lavages. Sept juments ont également reçu une antibiothérapie par voie locale avec du MARBOCYL® au cours de ces cycles
 - Lors de la présence d'un hématome ovarien (1 cycle)

- Origine inconnue (11,7%, 43 cycles) : la cause de non utilisation de certaines chaleurs n'a pas pu être déterminée à partir des suivis gynécologiques pour un certain nombre de cycles.

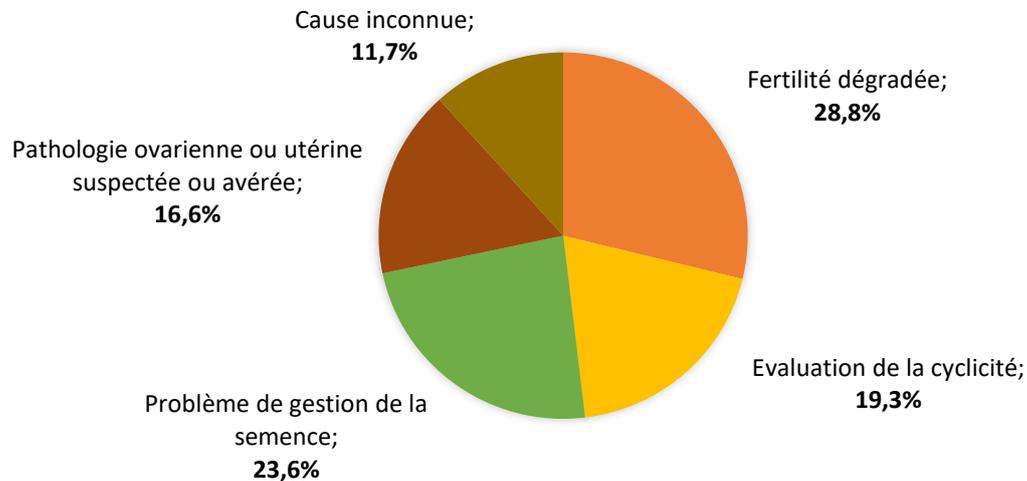


Figure 9: Répartition des 368 cycles en fonction des origines de non exploitation pour l'insémination, pour les juments en suivi de reproduction entre 2014 et 2018.

Un peu plus d'un cycle sur cinq n'a pas été exploité. Pour les cycles dont la cause de non utilisation a pu être déterminée, environ $\frac{3}{4}$ d'entre eux n'ont pas été utilisés pour des raisons physiopathologiques (risque de dégradation de la fertilité, évaluation de la cyclicité, pathologie utérine et ovarienne suspectée ou avérée) et $\frac{1}{4}$ n'ont pas été utilisés à cause de problème de gestion de mise à la reproduction ou de la semence.

b. Les différents modes de reproduction et suivi de l'ovulation

La *Figure 10* présente la répartition des cycles exploités en fonction du mode de reproduction utilisé pour la reproduction classique et la collecte d'embryons. Sur l'ensemble des cycles exploités (1242 cycles), l'insémination est le mode de reproduction le plus employé (1235 cycles sur 1242, soit 99,4% des cycles). La semence congelée a été le type de semence le plus utilisé, que ce soit pour la reproduction classique (520 cycles sur 1175, soit 44,3% des cycles), ou pour la collecte d'embryons (26 cycles sur 67, soit 38,8% des cycles). L'insémination de semence fraîche et réfrigérée représente chacune environ $\frac{1}{4}$ des modes de reproduction, que ce soit pour la reproduction classique (27,0% et 25,4% des cycles respectivement) ou la collecte d'embryons (23,9% et 26,9% des cycles respectivement). La monte naturelle ne représente que 0,6% des modes de reproduction choisis en reproduction classique, avec seulement 6 juments saillies en main. Le type de semence utilisée n'a pas été précisé sur deux suivis gynécologiques.

Deux modes de conservation de la semence ont été utilisés au cours d'un même cycle (IA mixte) pour 30 cycles en reproduction classique (2,6% des cycles dont 15 cycles exploités avec de la semence fraîche et réfrigérée, 14 cycles exploités avec de la réfrigérée et congelée et 1 cycle exploité avec de la semence fraîche et congelée) et pour 7 cycles exploités pour la collecte d'embryons (7% des cycles dont 5 cycles exploités avec de la semence fraîche et réfrigérée et 2 cycles exploités avec de la semence réfrigérée et congelée).

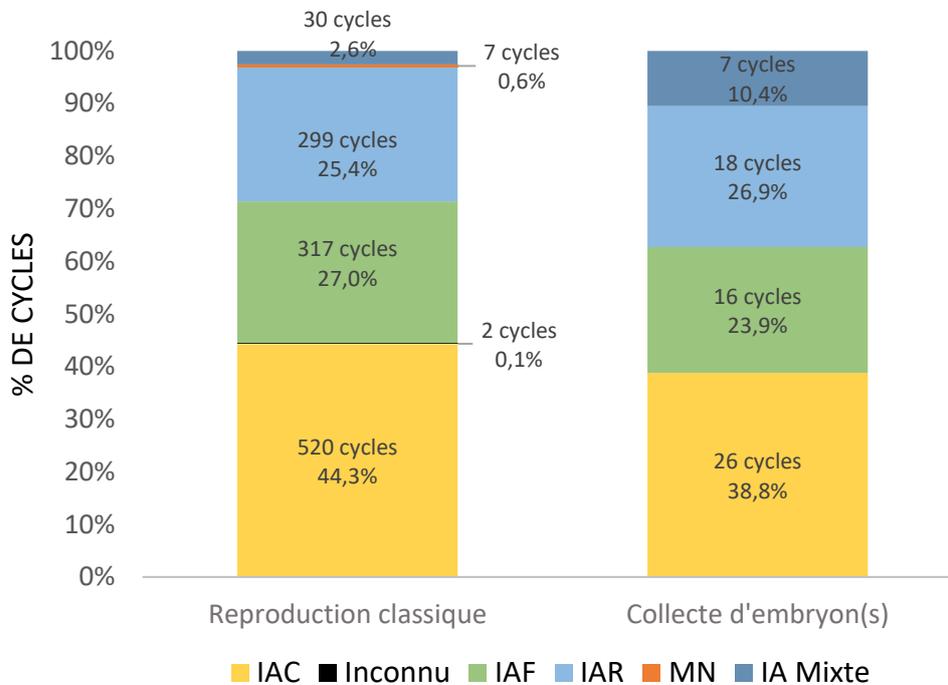


Figure 10: Répartition des 1242 cycles exploités en fonction du mode de reproduction utilisé (IA ou monte naturelle) et du type de semence (IA en semence congelée (IAC), réfrigérée (IAR) ou fraîche (IAF) pour la reproduction classique et la collecte d'embryons entre 2014 et 2018.

La semence a été mise en place pure (sans diluant) dans les 10 à 15 minutes après la collecte pour la moitié des cycles exploités avec uniquement de la semence fraîche. La semence diluée a été utilisée dans l'heure qui suit la collecte de sperme pour environ un quart des IAF. Pour 12,9% des cycles, les deux types de semence fraîche, pure ou diluée, ont été utilisés. Pour 41 cycles, le type de semence fraîche utilisé (pure ou diluée), n'a pas été enregistré (Tableau 6).

Type de semence	Semence pure	Semence diluée	Semence diluée et pure	Traitement de la semence non déterminé	Total
Nombre de cycle exploités avec de la semence fraîche pure et/ou diluée <i>(% sur le nombre total de cycles exploités avec de la semence fraîche seule)</i>	168 <i>(50,5)</i>	81 <i>(24,3)</i>	43 <i>(12,9)</i>	41 <i>(12,3)</i>	333 <i>(100)</i>

Tableau 6: Répartition du nombre de cycles exploités avec de la semence fraîche, en fonction de son traitement (pure et/ou diluée) pour les juments suivies pour la reproduction classique et la collecte d'embryons entre 2014 et 2018.

Le *Tableau 7* présente la répartition des cycles en fonction du nombre d'inséminations/saillies effectuées au cours d'un même cycle pour les juments mises à la reproduction classique et pour la collecte d'embryons.

Nombre de cycles exploités <i>(% sur le nombre total de cycles exploités par mode de reproduction)</i>	IAF	IAR	IAC	MN	Total
1 Insémination ou saillie	243 <i>(73,0%)</i>	259 <i>(81,7%)</i>	430 <i>(78,9)</i>	6 <i>(100)</i>	938 <i>(78,1%)</i>
2 Inséminations	82 <i>(24,6%)</i>	55 <i>(17,4%)</i>	107 <i>(19,6)</i>	-	244 <i>(20,3%)</i>
≥ 3 inséminations	8 <i>(2,4%)</i>	3 <i>(0,9%)</i>	8 <i>(1,5)</i>	-	19 <i>(1,6%)</i>
Total	333 <i>(100%)</i>	317 <i>(100%)</i>	545 <i>(100%)</i>	6 <i>(100%)</i>	1201 <i>(100%)</i>

Tableau 7: Répartition des cycles en fonction du nombre d'inséminations/saillies effectuées au cours d'un même cycle pour les juments mises à la reproduction classique et pour la collecte d'embryons, sur la période entre 2014 et 2018.

Pour l'ensemble des modes de reproduction, une seule insémination ou saillie a été réalisée pour la majorité des cycles : 73,0% des cycles pour l'IAF, 81,7% pour l'IAR, 78,9% pour l'IAC et 100% pour la monte naturelle. Deux inséminations ont été réalisées pour 20,3% des cycles en moyenne (entre 17,4% et 24,6% suivant le mode de reproduction). Trois

inséminations ou plus au cours d'un même cycle ont été réalisés seulement sur 1,6% des cycles (entre 0,9% et 2,4% suivant le mode de reproduction). Une seule jument a été inséminée 4 fois au cours d'un même cycle avec de la semence congelée.

Après correction de Bonferroni, la répartition des cycles à 1 et 2 insémination(s) n'a pas significativement différencié entre l'IAF et l'IAC ($p=0,075$), entre l'IAR et l'IAC ($p=0,42$), et l'IAR et l'IAF ($p=0,02$).

Pour la semence congelée, la survie des spermatozoïdes dans les voies génitales des juments après décongélation se situe entre 12 et 24 heures. L'objectif est donc d'inséminer dans les 12 heures précédant l'ovulation (Mourrier, 2010). Les Haras Nationaux recommandent d'inséminer les juments tous les jours à partir de l'observation d'un follicule pré-ovulatoire supérieur à 35 mm de diamètre et ce, jusqu'à l'ovulation. Dans notre étude, lorsque la première insémination de semence congelée a été réalisée à J_0 , la seconde IA a été réalisée à J_1 pour 89,0% des cycles (moyenne à $1,1 \pm 0,6$, médiane de 1 jour), la troisième à J_2 (8 cycles) et la quatrième à J_3 (1 cycle). Les Haras Nationaux recommandent également d'effectuer au moins deux inséminations par cycle et d'utiliser 8 paillettes à chaque insémination. Une fertilité optimale est obtenue avec un traitement hormonal d'induction de l'ovulation, avec une première insémination dans les 6 heures puis une seconde insémination 24 à 30 heures après l'induction. L'ovulation a lieu alors dans les 6 à 12 heures après la seconde insémination (Barrier-Battut, 2010). Néanmoins, les contraintes sont de plus en plus fortes pour les inséminateurs car certains contrats de saillie, notamment pour des étalons élites, fournissent moins de 8 paillettes, voire une seule paillette. Dans cette étude, sur 42 cycles exploités, une seule paillette a été utilisée par insémination (38 cycles pour la reproduction classique et 4 cycles pour la collecte d'embryons). De plus, lorsqu'une seule insémination de semence congelée a été réalisée au cours du cycle, un faible nombre de paillettes a généralement été utilisé, en moyenne $4,9 \pm 2,3$ paillettes (médiane de 5 paillettes, étendue de 1 à 10 paillettes). Moins de 8 paillettes ont été utilisées par insémination pour 83,8 % de ces cycles. Dans ces conditions, le protocole d'insémination nécessite un suivi échographique rigoureux pour cibler l'ovulation et n'utiliser qu'un nombre réduit de paillettes juste avant, voire en post-ovulation.

Lorsque de la semence fraîche est choisie par le propriétaire, les contraintes sont moins importantes pour l'inséminateur car les spermatozoïdes survivent en moyenne 48h et jusqu'à 7 jours dans le tractus génital de la jument. L'induction de l'ovulation n'est pas considérée comme indispensable et la date d'ovulation étant moins précise, ceci favorise la réalisation de plusieurs inséminations au cours d'un même cycle. Ceci explique probablement le fait que les cycles à 2 inséminations soient plus nombreux en semence fraîche qu'en semence réfrigérée ou congelée, même si la différence n'est pas significative. Il est ainsi recommandé d'inséminer ou de faire saillir les juments toutes les 48 heures à partir de l'observation d'un follicule pré-ovulatoire de 35 mm et ce, jusqu'à l'ovulation (Barrier-Battut, 2010). Dans notre étude, lorsque les juments ont été inséminées deux fois ou plus au cours d'un cycle, si la première IA de semence fraîche a été réalisée à J_0 , la seconde a été effectuée à J_2 pour 68,1% des cycles (moyenne à $2,1 \pm 0,8$ jours, médiane de 2) et la troisième en moyenne à $4 \pm 1,1$ jours, médiane à 3,5 jours).

Lorsque la semence est réfrigérée plus de 12 heures, il convient d'inséminer au plus proche de l'ovulation, au maximum dans les 24 heures précédant l'ovulation et l'induction de

l'ovulation est recommandée (Mourrier, 2010). Dans notre étude, l'induction de l'ovulation et la commande de la semence ont classiquement été effectuées le même jour, pour une réception de la semence le lendemain. L'insémination a donc lieu à la réception de la dose, soit 24 heures après l'induction, et l'ovulation survient généralement 36 heures après l'induction, soit 12 heures après l'insémination, permettant la réduction du nombre de doses utilisées. Par ailleurs, lorsque la première insémination a été réalisée à J₀ la seconde IA a été réalisée à J₂ pour 56,9% des cycles (moyenne à 2,3 ± 0,7, médiane à 2 jours) et la troisième entre J₃ et J₅ (3 cycles).

Parmi les 5 juments en monte naturelle dont le nombre de saillies a été enregistré, toutes n'ont été saillies qu'une fois au cours de leur chaleur. L'induction de l'ovulation associé à un suivi échographique a permis de suivre rigoureusement l'imminence de l'ovulation et l'organisation d'une seule saillie par cycle.

La répartition des cycles en fonction du mode de reproduction et du suivi gynécologique est présenté dans le *Tableau 8*. En IAF et IAR, la majorité des juments ont été suivies quotidiennement (75,4% et 90,9% respectivement). L'intervalle des examens échographiques à l'approche de l'ovulation a été significativement différent selon le type de semence (Fisher exact, p <0,0001), avec davantage de cycles suivis toutes les 12 heures ou moins en IAC (97,4 %) par rapport à l'IAF (20,1 %, p <0,0001) et l'IAR (7,9%, p <0,0001). Peu de juments ont été suivies toutes les 48 heures que ce soit en IAF, IAR ou IAC.

Nombre de cycles exploités (% du nombre total de cycles exploités par mode de reproduction) Intervalle entre les examens échographiques pour cibler l'ovulation	IAF	IAR	IAC	MN	Total
≤ 12 heures	67 (20,1%)	25 (7,9%)	531 (97,4%)	2 (40%)	625 (52,1%)
24 heures	251 (75,4%)	288 (90,9%)	14 (2,6%)	3 (60%)	556 (46,3%)
≥ 48 heures	15 (4,5%)	4 (1,3%)	0 (0%)	-	19 (1,6%)
Total	333 (100%)	317 (100%)	545 (100%)	5 (100%)	1200 (100%)

Tableau 8: Répartition des 1200 cycles en fonction du mode de reproduction et de l'intervalle des examens échographiques à l'approche de l'ovulation pour les juments suivies pour la reproduction classique et la collecte d'embryons entre 2014 et 2018.

La congélation altère les structures membranaires des spermatozoïdes, diminuant ainsi leur capacité à se fixer aux cellules épithéliales de l'oviducte et leur survie dans le tractus génital de la jument. Ainsi les Haras nationaux recommandent de réaliser idéalement l'insémination dans les 12 heures maximum qui précèdent l'ovulation, nécessitant un suivi échographique rapproché pour suivre la croissance et la déformation du follicule (Barrier-Battut, 2008). Ceci est en accord avec les pratiques de cette étude. Cependant lorsqu'un nombre limité de paillettes est à disposition de l'insémineur, une seule insémination par chaleur est généralement possible. Dans ces cas, une insémination après l'ovulation est le moyen le plus sûr de maîtriser l'intervalle de temps entre l'ovulation et l'insémination. Une fertilité optimale est obtenue en inséminant dans les 6 heures après l'ovulation, ce qui nécessite un suivi échographique toutes les 6 heures (Mourrier, 2010). Dans notre étude, l'insémination a été réalisée en phase post-ovulatoire pour 31,2% des cycles au cours desquels une seule IA de semence congelée a été réalisée (134 cycles sur 430, dont 121 pour la reproduction classique et 13 pour la collecte d'embryons). Par ailleurs, lorsqu'une seule paillette a été utilisée au cours du cycle, l'insémination a été réalisée après l'ovulation dans 57,1% des cas (24 cycles sur 42).

Les cycles suivis quotidiennement ont été plus nombreux lors d'utilisation de semence réfrigérée que lors de l'utilisation de semence fraîche ou congelée. Environ 1 cycle sur 5 exploité avec de la semence fraîche a justifié des examens échographiques à intervalle de 12 heures ou moins à l'approche de l'ovulation. Ce suivi rapproché pourrait concerner les juments susceptibles de développer des inflammations utérines post-insémination et pour lesquelles l'utilisation de semence fraîche a été privilégiée à la semence réfrigérée ou congelée. En effet, sur l'ensemble des cycles suivis à intervalle de 12 heures et exploités avec de la semence fraîche de dilution connue (59 cycles), environ 2/3 d'entre eux (39 cycles), ont été exploités avec de la semence pure, probablement destinée à des juments dont un historique d'inflammation utérine post-insémination est connu. De plus, pour environ 80% de ces cycles (31 cycles sur 39), un ou plusieurs lavage(s) utérin(s) ont été réalisés post-insémination.

Les juments en monte naturelle ont pour la plupart été suivies quotidiennement. De même, deux juments ont été suivies sur un intervalle de moins de 12 heures pour évaluer l'état de l'inflammation de l'utérus quelques heures après la saillie.

La semence congelée a été le type de semence le plus utilisé dans notre étude (environ 2 cycles sur 5). L'IAF et l'IAR représentent chacune environ ¼ des modes de reproduction. Une seule insémination ou saillie a été réalisée pour la majorité des cycles, quel que soit le mode de reproduction.

L'utilisation de semence congelée a nécessité un suivi échographique toutes les 12 heures ou moins afin de cibler la survenue de l'ovulation mais le nombre de paillettes à disposition du vétérinaire est un facteur limitant important au respect des recommandations des Haras nationaux (utilisation d'au moins 8 paillettes par insémination).

Pour la plupart des cycles exploités avec de la semence fraîche ou réfrigérée, les juments ont été suivies quotidiennement. Environ 1 cycle exploité sur 5 avec de la semence fraîche a nécessité une échographie de contrôle dans les heures suivant l'insémination afin d'évaluer l'état inflammatoire de l'utérus des juments prédisposées à développer des endométrites persistantes post-IA.

c. Description de l'ovulation

Sur 1175 cycles utilisés pour la reproduction classique, le nombre d'ovulations est inconnu pour 14 d'entre eux car l'ovulation des deux follicules observés n'a pas été suivie. Une absence d'ovulation a été observée sur 8 cycles. Ainsi, sur 1153 ovulations, 77,4% d'entre elles sont des ovulations simples (893 ovulations), 21,3% des ovulations doubles (246 ovulations soit 95,7% des ovulations multiples), 1,1% sont des ovulations triples (13 ovulations soit 5,1% des ovulations multiples) et 0,09% sont des ovulations quadruples (1 ovulation soit 0,4% des ovulations multiples). Des proportions similaires sont constatées pour les cycles utilisés pour la collecte d'embryons de notre étude, et dont l'ovulation a été constatée (65 cycles sur 67) : 72,3% d'ovulation simple (47 cycles), 26,1% d'ovulation double (17 cycles) et 1,5% d'ovulation triple (1 cycle). Ces taux sont comparables aux données trouvées dans la littérature rapportant un taux d'ovulation double entre 15 et 30% et 1 à 10% d'ovulation triples parmi les ovulations multiples (Vagner, 2017). Dans notre étude, le taux de double ovulation bilatérale (52,1%), est comparable au taux de double ovulation homolatérale (48,3%). Parmi les cycles à ovulations double suivis quotidiennement permettant de déterminer la date de l'ovulation (235 cycles sur 246), environ ¾ des ovulations doubles (78,3%) ont été synchrones et 21,7% ont été asynchrones. Ces résultats sont en accord avec un taux de 60 à 80% d'ovulations synchrones rapporté par Vagner (2008).

La *Figure 11* présente la répartition de la taille des follicules pré-ovulatoires au dernier examen échographique avant l'ovulation. Seules les ovulations simples des cycles exploités ont été prises en compte. Le diamètre des follicules pré-ovulatoires observés au dernier examen échographique avant l'ovulation s'étend de 27,5 mm à 60 mm, avec une moyenne de $43,7 \pm 4,7$ mm. La répartition du diamètre des follicules pré-ovulatoires dans les différentes catégories de taille n'est pas significativement différente entre les différents modes de reproduction (test du khi-2, $p=0,2$).

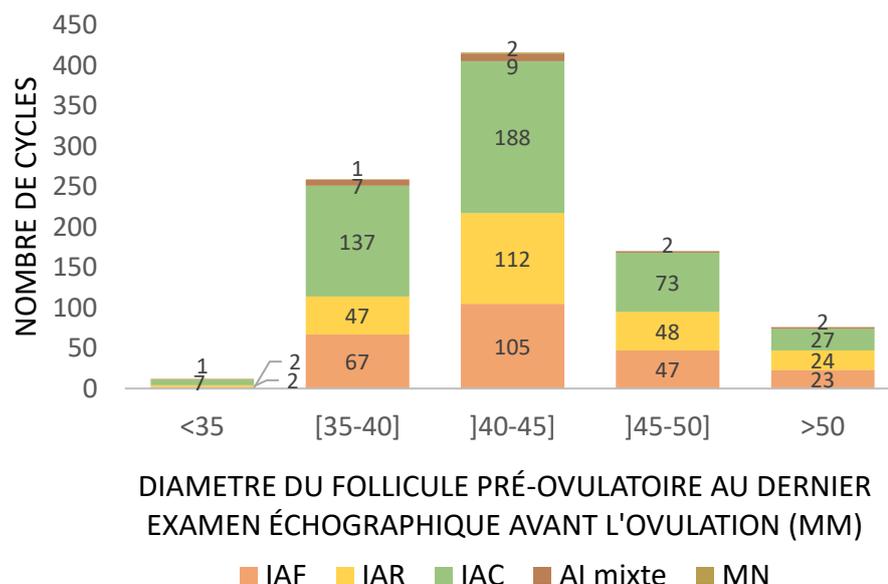


Figure 11: Répartition des 933 follicules pré-ovulatoires en fonction de leur diamètre au dernier examen échographique avant une ovulation simple et du mode de reproduction pour les juments suivies pour la reproduction classique et la collecte d'embryons.

Aucune ovulation du follicule pré-ovulatoire n'a été constatée pour 8 cycles exploités suivis pour la reproduction classique : 5 d'entre eux ont évolué en follicules hémorragiques anovulatoires et un follicule s'est lutéinisé sans avoir ovulé. Pour 33 juments, correspondant à 37 cycles à ovulation simple, le follicule présentait un aspect piqueté (34 cycles pour la reproduction classique et 2 cycles pour la collecte d'embryons) ou résillé (1 cycle):

- 9 follicules pré-ovulatoires d'aspect piqueté ont présenté un retard de l'ovulation spontanée (1 follicule) ou après une non réponse à l'induction de l'ovulation (8 follicules).
- 28 follicules ont ovulé normalement, après un traitement hormonal (23 follicules) ou sans induction (4 follicules).

Un aspect piqueté de l'antrum des follicules pré-ovulatoires est classiquement rapporté comme un indicateur précoce du développement de follicules hémorragiques anovulatoires (FHA). D'autres signes échographiques caractérisent la formation d'un FHA tels qu'un réseau de filaments échogènes tremblant au ballotement (appelés follicules « résillés » dans cette étude). Les juments âgées de plus de 20 ans sont davantage prédisposées à développer des FHA (Paul-Jeanjean, 2008). Dans notre étude, la moyenne d'âge des juments ayant présenté un follicule piqueté lors d'ovulation simple est de 14,4 ans (± 6 ans et médiane à 16,5 ans). Les mécanismes physiopathologiques qui conduisent à la formation des FHA sont peu connus, mais pourraient faire intervenir des concentrations élevées d'œstradiol, qui ont un effet vasodilatateur. Le follicule se remplit de sang, sans que l'ovocyte ne soit retrouvé dans l'oviducte. Les juments traitées à l'hCG ne semblent pas développer davantage de FHA par rapport aux juments non traitées (Ginther et al., 2007) mais les FHA apparaissent insensibles à l'administration d'hCG ou de desloréline (Brinsko et al., 2011). Cependant, dans notre étude, 28 follicules sur 37, à l'aspect piqueté, ont ovulé, ce qui pose la question de la spécificité de cet indicateur de FHA.

d. Traitement de maîtrise des cycles

Quel que soit le mode de reproduction, l'ovulation a été induite pour 87,8% des cycles exploités pour la reproduction classique et la collecte d'embryons confondues (1089 cycles sur 1240 cycles), ce taux est similaire pour la reproduction classique (1033 cycles sur 1175, soit 87,9%) et la collecte d'embryons (56 cycles sur 65, soit 86,2%), (Fisher exact, $p=0,7$). Pour ces cycles, l'hCG (CHORULON[®]) a été la molécule la plus utilisée : 684 cycles sur 1089, soit 62,8%. La GnRH ou des analogues ont été utilisés pour 35,8% des cycles (390 cycles sur 1089) avec l'utilisation de SUPREFACT[®], DECAPEPTYL[®] et OVUPLANT[®] pour 20,6%, 10,2% et 5,0% de ces cycles respectivement. Selon un sondage auquel 65 vétérinaires sur le territoire français ont répondu, le CHORULON[®] est la spécialité la plus utilisée (dans 78,2% des cas), devant le SUPREFACT[®] (dans 18,2% des cas) et les autres analogues de la GnRH (Loigerot, 2017). Dans notre étude, les analogues de la GnRH semblent néanmoins avoir été davantage utilisés (35,8% versus 21,8% selon les pratiques des vétérinaires français).

Pour 15 cycles (1,4% des cycles pour lesquelles l'ovulation a été induite), une non réponse à l'induction de l'ovulation a justifié l'administration d'hCG ou de GnRH dans les 48

heures après l'administration de CHORULON® (8 cycles), de SUPREFACT® (4 cycles), de DECAPEPTYL® (2 cycles) et d'un implant d'OVUPLANT® (1 cycle). Plusieurs études (McCue et al., (2004) et Wilson et al., (1990)), ont mis en évidence la perte de l'efficacité de l'hCG lors d'injections répétées au cours d'une même saison de reproduction et ce, quel que soit l'âge des juments. Wilson et al., (1990) ont mis en évidence une augmentation significative du taux d'anticorps anti-hCG chez certaines juments dès la première injection d'hCG. Dans une autre étude plus récente, (Siddiqui et al., 2009), sur 38 juments exposées une ou deux fois à l'hCG, 42% présentaient des anticorps anti-hCG les rendant réfractaires à un nouveau traitement à l'hCG (taux d'hCG plasmatique indétectable après une nouvelle induction). Ainsi, il est classiquement recommandé de ne pas utiliser l'hCG plus de deux fois par saison et d'administrer une autre molécule pour les inductions répétées (Palmer, Chavatte-Palmer, 1998). Il faut noter que lors de cette étude, 4 juments ayant reçu deux spécialités différentes pour l'induction de l'ovulation au cours d'un même cycle présentaient un follicule pré-ovulatoire piqueté. Leur non réponse à l'induction serait donc imputable à une anomalie des follicules plus qu'à une immunisation. Au l'instar de l'hCG, il est rapporté des échecs d'induction de l'ovulation en réponse à des agonistes de la GnRH dans 10 à 25% des cas. L'origine de ces échecs pourrait être liée à une maturation folliculaire insuffisante au moment de l'induction (Bruyas, 2008).

Le *Tableau 9* présente la répartition des cycles exploités en fonction du mode de reproduction et de l'administration de traitement d'induction de l'ovulation des juments suivies pour la reproduction classique et la collecte d'embryons.

Nombre de cycles exploités (% du nombre total de cycles exploités)	IAF	IAR	IAC	MN
Traitement d'induction de l'ovulation	233 (73,5%)	275 (92,0%)	493 (94,8%)	6 (85,7%)
	9 (64,3%)	16 (88,9%)	24 (92,3%)	-
Pas d'induction de l'ovulation	84 (26,5%)	24 (8,0%)	27 (5,2%)	1 (14,3%)
	5 (43,8%)	2 (11,1%)	2 (7,7%)	-
Total	331 (100%)	317 (100%)	546 (100%)	7 (100%)

Tableau 9: Répartition des 1201 cycles exploités en fonction du mode de reproduction et de l'administration de traitement d'induction de l'ovulation des juments suivies pour la reproduction classique et la collecte d'embryons (présenté en italique).

L'ovulation a été induite pour la majorité des cycles exploités pour la reproduction classique ou la collecte d'embryons, quel que soit le mode de reproduction. Pour la reproduction classique, l'utilisation de traitement d'induction a été significativement différente selon le type de semence (Fisher exact, $p < 0,0001$). L'induction de l'ovulation a été utilisée pour une plus faible proportion de cycles lorsque de la semence fraîche a été utilisée par rapport à la semence congelée ($p < 0,0001$) et réfrigérée ($p < 0,0001$). En revanche, il n'y a pas de différence significative de l'utilisation de l'induction de l'ovulation entre l'IAR et l'IAC ($p = 0,88$). Ces résultats sont en accord avec les recommandations des Haras Nationaux selon lesquelles, l'induction de l'ovulation n'est pas indispensable en semence fraîche, mais permet de limiter le nombre d'inséminations au cours du cycle. De plus, le fait de mieux cibler la survenue de l'ovulation permet d'organiser les récoltes de sperme des étalons. Pour les doses réfrigérées, il est recommandé d'induire l'ovulation pour diminuer le nombre de commandes de semence au cours du cycle et pour inséminer dans les 24 heures précédant l'ovulation. Concernant la semence congelée, l'induction est considérée comme indispensable pour inséminer au plus proche de l'ovulation ou juste après l'ovulation (Barrier-Battut, 2010). Dans notre étude, l'ovulation a été induite pour plus de 9 cycles sur 10 lors d'utilisation ou de semence congelée ou réfrigérée.

Pour la collecte d'embryons, l'induction de l'ovulation a été utilisée dans 86,2% des cycles exploités. D'après le sondage diffusé dans 11 centres français pratiquant le transfert d'embryon, l'induction de l'ovulation des juments donneuses est pratiquée dans la majorité des structures, bien qu'elle ne soit pas réalisée de manière systématique (Autard de Bragard, 2016). Le pourcentage de cycles dont l'ovulation a été induite n'est pas significativement différent en fonction du type de semence (Fisher exact, $p = 0,09$). Le transfert d'embryons nécessite une parfaite synchronisation entre la jument donneuse et la jument porteuse. L'IFCE recommande de transférer l'embryon chez une receveuse ayant ovulé en même temps que la donneuse, le lendemain ou le surlendemain. En pratique, lorsque la donneuse a ovulé (J_0), l'ovulation est induite chez la receveuse. Ainsi, la receveuse sera à J_5 (ou J_6) lorsque la donneuse sera à J_7 (ou J_8) (Collectif, 2019). La gestion des cycles des juments donneuses ne diffère donc pas de celle des juments mises à la reproduction classique et ne requiert pas d'avantage l'induction de l'ovulation.

Concernant la synchronisation de l'œstrus, des analogues de prostaglandine $F2\alpha$, ont été administrés pour environ la moitié des cycles exploités (636 cycles sur 1241 soit 51,2%), avec majoritairement l'utilisation de luprostirol (97,3%) et de façon plus limitée, de cloprosténol (ESTRUMATE®). Environ la moitié des praticiens ont recours à la synchronisation de l'œstrus, seulement 27,7% d'entre eux utilisent des analogues de prostaglandine, les autres utilisent des progestagènes associées à des prostaglandines (Loigerot, 2017).

Les cycles pour lesquels l'œstrus a été synchronisé ont été significativement plus nombreux lors de la collecte d'embryons que lors de la reproduction classique (Fisher exact, $p = 0,002$). Des analogues de la prostaglandine ont été administrés pour 50,2% des cycles exploités pour la reproduction classique (590 cycles sur 1175) et pour 70,0% des cycles exploités pour la collecte d'embryons (soit 46 cycles sur 66). En effet, la lutéolyse est induite de manière plus systématique à la suite des collectes d'embryons, pour éviter une gestation

non désirée et réduire l'inter-œstrus, afin d'utiliser un plus grand nombre de cycles. Dans notre étude, des analogues de la prostaglandine ont été administrés après 76,1% des collectes d'embryons (51 sur 67 cycles).

L'utilisation des progestagènes a été beaucoup plus ponctuelle, sur deux juments, une en début de saison sexuelle et l'autre en anœstrus post-partum. Pour les juments poulinant en hiver voire en début de printemps, la lumineothérapie constitue un moyen efficace d'éviter un anœstrus post-partum (Bruyas, 2003). Dans notre étude, elle n'a été utilisée que pour une seule jument maiden, présentée pour une collecte d'embryons au cours du mois de mars. Dans l'enquête de Loigerot (2017), environ 44% des vétérinaires induisent l'œstrus en début de saison sexuelle, la plupart en utilisant un traitement lumineux et seulement 6,3% d'entre eux en utilisant les progestagènes. L'induction de l'œstrus tôt en saison sexuelle permet de disposer de cycles supplémentaires pour mettre la femelle à la reproduction mais également de faire naître un poulain au début de l'année suivante. Ceci est intéressant pour la filière très compétitive des courses. En effet, les poulains plus âgés de quelques mois sont potentiellement plus performants lors de leur participation aux qualifications qui peuvent débiter dès l'âge de 2 ans. Dans notre étude, la clientèle est majoritairement constituée d'amateurs de CSO et avancer le début de la saison de reproduction représente peu d'intérêts.

L'ovulation a été induite pour près de 9 cycles sur 10 pour la reproduction classique et la collecte d'embryons. En accord avec les recommandations, afin de cibler la survenue de l'ovulation ou d'organiser les commandes de semence, l'induction de l'ovulation a été davantage utilisée pour l'IAC et l'IAR que pour l'IAF.

La gestion des cycles des juments donneuses d'embryons est similaire à celle des juments mises à la reproduction classique mais les chaleurs ont été davantage induites pour la collecte d'embryons pour éviter une gestation non désirée.

Représentant peu d'intérêt pour une clientèle d'amateurs, les moyens d'induction de l'œstrus en début de saison ont été peu utilisés dans notre étude.

e. Description des pathologies utérines

Dans cette étude, des signes d'inflammation utérine ont pu être observés :

- La présence de liquide utérin en pré et/ou post-insémination/saillie pour 45,7% des cycles exploités (567 cycles sur 1240), majoritairement observé en post-IA/saillie (357 cycles soit 28,8% des cycles), puis à la fois en pré et post-IA/saillie (119 cycles soit 9,6%) et en pré-IA/saillie uniquement (100 cycles soit 8,1%). Néanmoins, il faut noter que la présence de liquide utérin n'est pas toujours pathologique. Il peut s'agir d'une accumulation de liquide utérin physiologique produit au moment des chaleurs, notamment quand le col est encore fermé ou lors d'un défaut de vidange utérine.
- Du pus dans le corps utérin ou à la vulve : 7 juments.

Le nombre de cycles au cours desquels il a été observé du liquide utérin après l'insémination ou la saillie a été significativement plus élevé pour l'IA de semence fraîche par rapport à l'IAR (Fisher exact, $p < 0,0001$) et à l'IAC (Fisher exact, $p < 0,0001$) (Tableau 10). De même, un ou plusieurs lavages utérins en post-IA ont été réalisés pour un plus grand nombre de cycles exploités avec de la semence fraîche par rapport à la semence réfrigérée (Fisher exact, $p < 0,0001$) et congelée (Fisher exact, $p < 0,0001$). Ces proportions pourraient s'expliquer par le choix de semence fraîche pour les juments prédisposées à développer une endométrite post-IA.

Nombre de cycles exploités (% du nombre total de cycles exploités selon le mode de reproduction)	IAF	IAR	IAC	MN
Présence de liquide en phase post-IA	166 (50,0%)	103 (32,5%)	175 (32,1%)	3 (42,8%)
Réalisation de lavage(s) utérin(s) en phase post-IA	145 (43,7%)	99 (31,2%)	157 (28,8%)	4 (57,1%)
Total	332 (100%)	317 (100%)	545 (100%)	7 (100%)

Tableau 10: Répartition des cycles exploités pour la reproduction classique et la collecte d'embryons en fonction de la présence de liquide utérin et de la réalisation de lavage utérin en phase post-IA/saillie selon le mode de reproduction.

Les endométrites sont la première cause d'infertilité chez la jument. Chaque insémination ou saillie occasionne une réaction inflammatoire physiologique de l'endomètre utérin. En conditions physiologiques, les sécrétions inflammatoires sont évacuées par les contractions utérines et l'inflammation disparaît en quelques heures. Certaines juments présentent un défaut de vidange utérine traduisant un défaut de contraction de l'utérus, un utérus pendulaire ou un défaut de drainage lymphatique. Une endométrite post-IA/saillie peut alors devenir une endométrite persistante post-IA/saillie. Ces endométrites persistantes peuvent par la suite se compliquer avec une composante infectieuse par l'entrée de germes dans l'utérus lors de l'œstrus, favorisée par une saillie naturelle, une anomalie de conformation de la vulve ou une incompétence de la commissure des lèvres vulvaires. Les vulvoplasties sont effectuées dans le but de renforcer l'étanchéité vulvaire et dans cette étude, la réalisation d'une vulvoplastie en prévention des endométrites a concerné 199 cycles et 193 juments, soit 9,3% de l'ensemble des cycles utilisés (1242 cycles).

En l'absence de prise en charge thérapeutique, les endométrites persistantes créent un environnement peu propice à la survie de l'embryon, menant à sa mort au moment de son arrivée dans l'utérus. Chez ces juments, le défaut de vidange utérine peut se traduire par une accumulation excessive de sécrétions physiologiques utérines durant l'œstrus tandis que pour d'autres, aucun signe ne survient avant l'insémination ou la saillie. Une hauteur de liquide

utérin de plus de 2 cm à l'examen échographique doit être considérée comme pathologique pendant l'œstrus (Bruyas et al., 2013). Dans notre étude, lorsque du liquide intra-utérin était observé avant l'insémination ou la saillie, un traitement tel que l'administration d'un utérokinétique ou au moins un lavage utérin a été effectué dans 84,5% des cas (176 cycles sur 219) en phase post-IA/saillie contre 71,5% (732 cycles sur 1023) des cas lors d'absence de liquide utérin en phase pré-IA. En somme, ces juments avaient 1,8 fois plus de risques de nécessiter un traitement après l'insémination ou la saillie ($p < 0,003$, Odds Ratio = 1,8, Risque relatif = 1,12) et 3,1 fois plus de chance de nécessiter au moins un lavage utérin en phase post-IA/saillie ($p < 0,0001$, Odds Ratio = 3,08, Risque relatif = 1,92).

Le *Tableau 11* présente la répartition des cycles en fonction de l'administration de traitement d'endométrie. L'administration d'ocytocine ou de cloprostenol a concerné 939 cycles exploités sur 1240 (soit 75,7%). Ces utérokinétiques ont été utilisés lors de défaut de vidange utérine, lors d'accumulation de liquide inflammatoire après insémination mais également à titre préventif.

La réalisation de lavage(s) utérin(s) a concerné plus d'un tiers des cycles exploités (455 cycles sur 1240 soit 36,7%) et 78,0% d'entre eux ont été effectués après l'insémination ou la saillie (544 lavages en post-IA/saillie sur 697 lavages au total). Les juments ont pu recevoir 1 à 5 lavages utérins au cours de leur cycle. Pour la plupart de ces cycles, 1 unique lavage a été réalisé (299 cycles soit 65,9% des cycles exploités au cours desquels au moins 1 lavage a été effectué), 2 lavages ont été réalisés pour 100 cycles (22,0%), et 3 lavages ou plus pour 56 cycles (12,3%).

Nombre de cycles exploités (% du nombre total de cycles exploités)	Phase pré-IA/saillie	Phase post-IA/saillie	Phase pré et post-IA/saillie	Total
Administration d'ocytocine ou de cloprostenol (avec ou sans lavage(s) utérin(s))	27 (2,2%)	743 (59,9%)	169 (13,6%)	939 (75,7%)
Réalisation de lavage(s) utérin(s) associés ou non à de l'ocytocine ou du cloprostenol	32 (2,6%)	351 (28,3%)	72 (5,8%)	455 (36,7%)

Tableau 11: Répartition des cycles exploités pour la reproduction classique et la collecte d'embryons en fonction de l'administration de traitement d'endométrie sur un total de 1240 cycles.

Parmi les cycles exploités, une seule jument a reçu des antibiotiques (marbofloxacin, Marbocyl®) par instillation utérine. Au total, sur 5 cinq ans, des antibiotiques ont été administrés à seulement 8 juments (8 cycles au total dont 7 non exploités). Lors d'endométrie post-IA/saillie, même persistante, le traitement de choix est la réalisation de simples lavages utérins au sérum physiologique ou au Ringer lactate à partir de 4 heures post-IA/saillie. La mise en place d'une antibiothérapie par voie locale n'est justifiée que lors de complications infectieuses. Ces lavages sont à renouveler jusqu'à l'obtention d'un milieu de siphonnage limpide (Bruyas, 2005). Il n'est recommandé d'appliquer par voie locale pendant 4 à 10 jours des antiseptiques ou des antibiotiques qu'en présence d'endométrie puerpérale ou

infectieuse chronique avérées. Dans ces deux derniers cas, des lavages quotidiens à la polyvinylpyrrolidone iodée diluée entre 0,05 et 0,1% sont conseillés. Le choix de l'antibiotique à instiller repose sur les résultats de l'antibiogramme. Généralement, un volume de 60 à 250 ml (selon la taille de l'utérus) de solution antibiotique est indiqué (Bruyas et al., 2013). Pour finir, les AINS ne sont pas recommandés au moment de l'œstrus car ils ont une activité tocolytique et favoriseraient donc un défaut de vidange utérine (Bruyas, 2005). Pour les 8 juments ayant reçu des antibiotiques, 4 d'entre elles ont subi des examens complémentaires (bactériologie, cytologie, biopsie). Ces juments présentaient toutes du liquide utérin en quantité importante, un liquide de lavage très sale, trouble avec de gros débris et deux d'entre elles présentaient du pus à la vulve.

Par ailleurs, 8 juments ont reçu de la dexaméthasone (AZIUM® ou RAPIDEXON®) de manière simultanée à l'IA (6/8) ou seulement quelques heures après (2/8). De même, une unique insémination au cours du cycle et un lavage post-insémination le même jour (à partir de 4 heures après l'insémination) ont été réalisés sur toutes ces juments. 7/8 juments ont été inséminées avec de la semence fraîche, 6/8 avec de la semence fraîche pure. Ce protocole de mise à la reproduction a été mis en place sur les juments présentant un historique de réaction inflammatoire particulièrement forte à l'insémination. Le plus souvent, une jument est suspectée d'être prédisposée aux endométrites après la saillie ou l'insémination, lorsque une accumulation de liquide persiste à plus de douze heures après l'IA ou la saillie. Ainsi, il est recommandé de toujours effectuer une échographie de contrôle, 12 à 24 heures après la mise à la reproduction, comme il l'a souvent été réalisé dans notre étude. La gestion de ces juments doit être particulière, en limitant les dépôts de semence dans l'utérus, en évitant d'utiliser des doses très concentrées, de faible volume et dépourvues de plasma séminal (le plasma séminal aurait un effet modulateur bénéfique sur la réponse inflammatoire utérine). En pratique, il est conseillé d'opter pour une seule saillie ou IA de semence fraîche par chaleur plutôt que pour l'IA de semence congelée (très concentrée, de petit volume, et sans plasma séminal), associée à un lavage utérin 4 à 6 heures après l'IA ou la saillie et une injection d'ocytocine 10 à 20 UI par voie IV. Les contrôles échographiques doivent se poursuivre 12 heures après, puis quotidiennement pour décider de nouvelles injections d'ocytocine ou de renouveler les lavages utérins (Bruyas, 2005).

Un classement de l'intensité des signes d'inflammation utérine post-saillie basé sur l'administration de traitement a été effectué sur l'ensemble des cycles exploités (1240 cycles):

- Les signes d'endométrite légère qui concernent les juments ayant reçu uniquement une ou plusieurs injection(s) de BIOCYTOCINE® ou d'ESTRUMATE® après l'insémination ou la saillie : 492 cycles soit 39,7% des cycles exploités,
- Les signes d'endométrite modérée qui concernent les juments ayant reçu une ou plusieurs injections de BIOCYTOCINE® ou d'ESTRUMATE® associée(s) à un lavage utérin avec ou sans anti-inflammatoires (FLUNIJECT®, RAPIDEXON®, AZIUM®) après l'insémination ou la saillie : 325 cycles soit 26,2% des cycles exploités,
- Les signes d'endométrite plus sévère qui concernent les juments ayant reçu au moins deux lavages utérins associés ou non à des anti-inflammatoires (FLUNIJECT®, RAPIDEXON®, AZIUM®) après l'insémination ou la saillie : 98 cycles soit 7,9% des cycles exploités.

Du liquide dans la lumière utérine a été observé pour près de la moitié des cycles, majoritairement en phase post-IA (environ 2/5 cycles au total) et lors de l'utilisation de semence fraîche (environ 1/2 des cycles exploités). Afin d'éviter l'apparition d'endométrite post-IA persistante, les réactions inflammatoires post-IA/saillie ont été prises en charge avec des utérokinétiques et/ou des lavages utérin, sans recours aux antibiotiques, conformément aux recommandations de Bruyas, (2005): pour environ 3/4 des cycles, de l'ocytocine a été administrée après l'insémination et pour environ 1/3 des cycles, un ou plusieurs lavage(s) ont été nécessaires.

III. Analyse des performances des juments mises à la reproduction classique

a. Taux de gestation par cycle

Sur les 1175 cycles exploités pour la reproduction classique, 39 n'ont pas été pris en compte pour les calculs de taux de gestation par cycle au diagnostic de gestation précoce (DG), ils concernent :

- les cycles dont le succès de la fécondation est inconnue : le 1^{er} DG a été réalisé par un autre vétérinaire et aucune naissance n'est enregistrée sur la base de données de l'IFCE (13 cycles),
- les cycles pour lesquels aucun DG n'a été réalisé car l'ovulation a été considérée trop tardive par rapport au moment de l'insémination (notamment lors de follicule piqueté) ou lorsqu'à la suite d'une première ovulation, l'insémination a visé un second follicule pré-ovulatoire lors de suspicion d'ovulation double mais qui n'a finalement pas ovulé (11 cycles),
- les cycles pour lesquels aucune ovulation n'a été constatée avec l'apparition de follicules hémorragiques (5 cycles), de follicule lutéinisé (1 cycle),
- les cycles pour lesquels le premier diagnostic de gestation a été réalisé à plus de 21 jours lorsque le résultat est négatif car il est impossible de les différencier d'un avortement embryonnaire (9 cycles).

Au total, sur les 734 mises à la reproduction classique entre 2014 et 2018, 78,3% des juments étaient gravides à leur dernier diagnostic de gestation avant leur départ du haras (575 gestations). Le taux de gestation par cycle au premier diagnostic de gestation entre J11 et J20 s'étend de 51,4% à 59,5% selon les années et s'élève en moyenne à 54,7% (621 DG+/ 1136 cycles exploités) en cumulant les résultats des cinq années étudiées (*Figure 12*). Ces chiffres sont du même ordre de grandeur que le taux de fertilité par cycle se situant entre 40 et 60% selon le type de semence utilisée décrit dans la littérature.

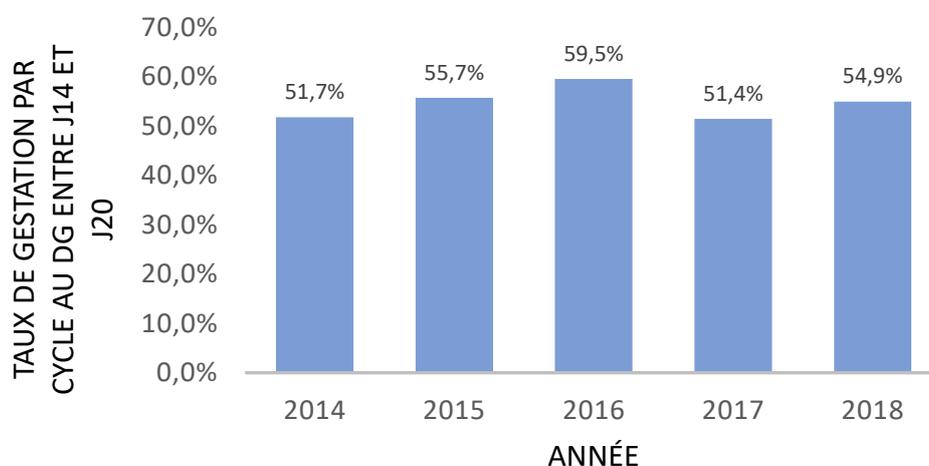


Figure 12: Taux de gestation par cycle exploités entre J14-J20 post-ovulation entre 2014 et 2018.

Il a fallu en moyenne $1,5 \pm 0,7$ cycles exploités (médiane de 1) pour aboutir à une gestation. Le taux de poulains nés par jument mise à la reproduction entre 2014 et 2018 a varié entre 62,9% et 73,4% selon les années (*Figure 13*) et s'élève à 67,5% en moyenne sur les cinq années (490 poulains nés pour 726 mises à la reproduction dont l'issue est connue), similaire au taux français de 67,2% durant cette période (IFCE Stats&Cartes).

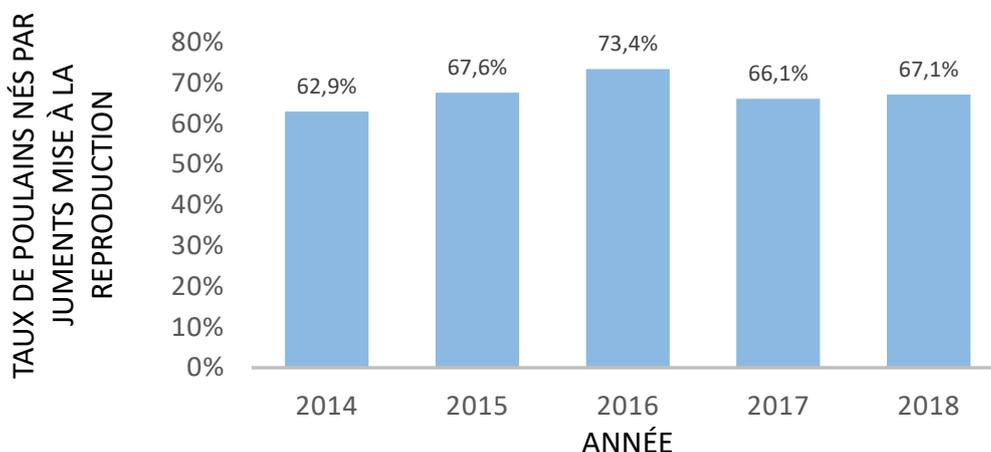


Figure 13: Taux de poulains nés par juments mises à la reproduction entre 2014 et 2018.

b. Taux d'avortement embryonnaire et fœtal

1. *Avortements spontanés*

L'avortement embryonnaire se définit par la perte de l'embryon à partir de la fécondation jusqu'à J₄₀. L'avortement fœtal se définit par la perte du fœtus de J₄₀ à J₃₀₀ (Collectif, 2019). Dans notre étude, sur les 1136 cycles exploités, le premier diagnostic de gestation a été effectué en moyenne à 14,4 jours après l'ovulation. Par la suite, un second diagnostic de gestation des juments présumées gravides a été réalisé au haras pour 63,9% des cycles à 42,3 jours post-ovulation en moyenne et le troisième à 72,9 jours en moyenne pour 28,8% des cycles. Un quatrième et cinquième DG ont été effectués après 100 jours pour moins de 10% des cycles.

Dans cette étude, le taux d'avortement spontané fœtal et embryonnaire confondus (nombre d'avortement après J₂₀/nombre de DG+ entre J₁₄ et J₂₀ x 100) se situent entre 19,8% et 21,2% selon les années (*Figure 14*). Le taux d'avortement total entre 2014 et 2018 est de 20,5% (126 avortements sur 616 cycles fécondants pris en compte pour lesquelles la section « Reproduction » des juments est accessible sur le site de l'IFCE). Parmi ces avortements, 36,5% ont été constatés au haras lorsque plusieurs diagnostics de gestation successifs ont été réalisés (46 avortements sur 126). Près des 2/3 des avortements ont donc été constatés par l'absence de produits enregistrés sur la base de données de l'IFCE. Il existe un biais puisqu'il est possible pour les propriétaires d'inscrire leur poulain né de certains croisements, à des Stud-book étrangers non gérés par l'IFCE. Il appartient alors à l'éleveur d'effectuer des démarches auprès du SIRE, ce qui n'est pas systématiquement réalisé. Dans ce cas, aucun produit ne sera enregistré sur le site de l'IFCE. Il est donc probable que les taux d'avortements

présentés dans cette étude soient surestimés. De la même manière, Il est possible que toutes les naissances de 2019 ne soient pas encore publiées sur le site de l'IFCE.

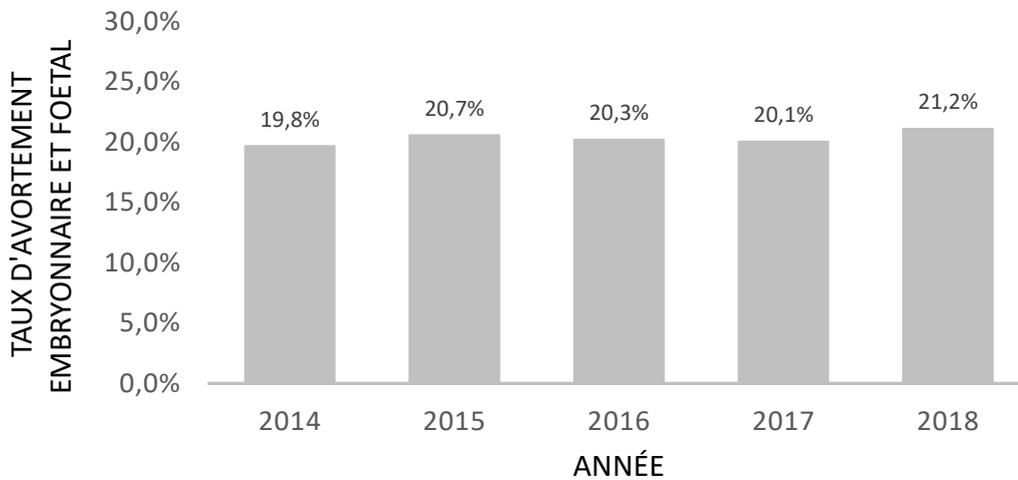


Figure 14: Taux d'avortement embryonnaire et foetal des juments entre 2014 et 2018.

Selon l'IFCE, le taux d'avortement embryonnaire et foetal s'élèverait à environ 18% (6% entre J₂₀ et J₄₀, 6% entre J₄₀ et J₆₀ et 6% entre J₆₀ et le terme) (Collectif, 2019). Dans l'étude menée par Morris et Allen, (2002), sur 1144 juments mises à la reproduction, le taux d'avortement total s'élève à 17,4%. Un taux similaire est évoqué dans l'étude de Bosh et al., (2009) avec un taux de perte totale de 21,8% (avec une perte embryonnaire de 8,9% et un taux d'avortement foetal de 12,9%). Il est communément admis que le taux d'avortement global est d'environ 20%. Le taux d'avortement des juments inséminées/saillies au haras entre 2014 et 2018 est du même ordre de grandeur que celui rapporté dans la littérature, même si dans notre étude, ce taux est probablement surestimé.

Malheureusement, sur les cinq années étudiées, le stade des avortements est connu pour seulement 36,5% d'entre eux (le stade est connu pour 46 avortements sur 126 avortements au total). Parmi ces derniers, les pertes embryonnaires ont concerné 52,2% des avortements (24 avortements sur 46) et les pertes fœtales ont concerné 47,8% des avortements (22 avortements sur 46). Pour 63,5% des avortements, le stade de l'avortement est inconnu, soit parce que le second diagnostic de gestation négatif a été réalisé tardivement, soit parce que les juments ont quitté le haras après un diagnostic de gestation précoce positif. Dans l'étude de Allen et al., (2007) menée sur 3373 juments, 58% des avortements ont eu lieu en période fœtale (soit après le 40^{ème} jour). De même, pour l'étude de Bosh et al., (2009), 57% des pertes totales étaient des avortements fœtaux.

2. Avortements induits

Sur les 1136 cycles exploités pris en compte, une ovulation double a été observée ou suspectée pour 246 cycles, soit 21,6% des cycles exploités, menant à une gestation gémellaire pour 61 cycles soit 24,8% des cycles à ovulation double. Un squeezing de la vésicule embryonnaire a été réalisé pour 60 de ces cycles (soit pour 98,4% des gestations gémellaires).

Pour le cycle restant, un avortement spontané des deux vésicules embryonnaires a été constaté entre J₁₃ et J₁₅ post-ovulation.

Une triple ovulation a été observée pour 13 cycles exploités, menant à une gestation gémellaire pour 5 cycles (38,5% des cycles à ovulation triple), pour lesquels un squeezing a été réalisé. La fécondation des trois ovocytes s'est réalisée pour 2 cycles et deux squeezing ont été réalisés le même jour ou à un jour d'intervalle.

Une quadruple ovulation a été observée pour 1 cycle, menant à une gestation gémellaire. De même, une réduction manuelle d'une des deux vésicules embryonnaires a été effectuée.

Les squeezing ont été réalisés entre J₁₂ et J₁₇ post-ovulation, en moyenne à $14,2 \pm 0,9$ jours (médiane à 14 jours). Sur les 68 squeezing réalisés, 51 ont permis la poursuite d'une gestation simple. L'avortement de la vésicule restante a pu être constaté pour les 16 cycles restants. Le maintien de la gestation est inconnu pour une jument. Ainsi, lorsque l'issu du squeezing est connu, le taux de succès d'une réduction manuelle a été de 76,1% (51 succès sur 67). Dans l'étude française de (Betsch et al., 2004), le taux de succès dépend du stade de gestation auquel est effectué le squeezing, ainsi que de la position des vésicules l'une par rapport à l'autre. Lorsque les 2 vésicules sont chacune à la base d'une corne, le taux de succès est d'environ 90%. Lorsque les vésicules sont accolées, il est de 62% avant l'immobilisation de la vésicule, donc avant J₁₇ mais chute à 43% passé ce stade.

c. Influence de l'âge et du statut physiologique

L'âge et le statut physiologique sont décrits comme des facteurs ayant une influence sur la fertilité des juments. Les juments maiden et les juments suitées apparaissent plus fertiles que les juments vides. Cette différence serait accentuée si les juments restent vides 2 ans ou plus (Collectif, 2019).

1. *Influence du statut physiologique*

Dans notre étude, le taux de gestation par cycle d'élève à 60,7%, 52,2% et 55,0% pour les juments maiden, suitées et vides respectivement (*Tableau 12*). Les juments maiden ont eu tendance à présenter un taux de gestation par cycle supérieur aux autres juments vides et suitées, mais aucune différence significative du taux de gestation entre J₁₄ et J₂₀ n'est observée entre les différents statuts physiologiques des juments (Fisher exact, $p = 0,09$). Il est également important de préciser que les juments maiden de cette étude sont plus jeunes (en moyenne $9,5 \text{ ans} \pm 4,7 \text{ ans}$, médiane à 9 ans) que les juments vides ($13,6 \text{ ans} \pm 4,4 \text{ ans}$, médiane à 13 ans) et suitées ($12,7 \text{ ans} \pm 4,3 \text{ ans}$, médiane à 13 ans). Ces résultats sont à prendre avec précautions car certains poulains n'étant pas enregistrés dans la base de données de l'IFCE, des juments en réalité suitées ont pu être considérées comme vides.

	Juments maiden	Juments suitées [exploitation des chaleurs de poulinage]	Juments vides	Total
Taux de gestation par cycle (Nombre de DG positifs entre J ₁₄ et J ₂₀)	60,7 % (150)	52,8 % [45,8%] (243 [11])	55,0 % (211)	56,5 % (605)
Nombre total de cycles exploités	247	460 [24]	383	1097

Tableau 12: Taux de gestation par cycle des juments en fonction de leur statut physiologique.

Dans l'étude de Morris et Allen, (2002) étudiant l'influence de l'âge et du statut physiologique sur différents paramètres de la reproduction chez 1144 juments, les juments suitées et maiden présentaient un meilleur taux de gestation par cycle à J₁₅ comparativement aux juments vides, même si le taux de poulinage était similaire entre les trois groupes (suitée, vide, maiden). Dans l'étude menée par Bosh et al., (2009) sur 1091 juments Pur-sang, les juments maiden présentaient également un meilleur taux de poulinage par saison. Néanmoins, aucune différence significative du taux de gestation par cycle en fonction du statut physiologique n'avait été mise en évidence.

Dans notre étude, les juments maiden, suitées et vides ont été saillies/inséminées en moyenne sur 1,6 cycles pour chaque statut physiologique. Pour obtenir un diagnostic de gestation de fin de saison positif (jument gravide au dernier DG avant de quitter le haras), le nombre moyen de saillie/insémination nécessaire est comparable entre les trois groupes car il a fallu en moyenne 1,5, 1,4 et 1,4 saillie/insémination par jument maiden, suitées et vides respectivement. Le nombre de juments vides après deux mises à la reproduction au cours d'une même saison (juments subfertiles) n'a pas significativement différencié en fonction du statut physiologique des juments (Fisher exact, $p = 0,5$) (*Tableau 13*).

	Juments maiden	Juments suitées	Juments vides	Total
Nombre de juments vides au diagnostic de gestation précoce après 2 cycles exploités (% du nombre total de juments)	30 (18,9 %)	67 (22,3%)	47 (18,8%)	144 (20,3 %)
Nombre total de mises à la reproduction	159	300	250	709

Tableau 13: Répartition des juments vides après deux cycles exploités selon leur statut physiologique entre 2014 et 2018.

Sur 605 cycles fécondants des juments dont le statut physiologique est connu, le taux d'avortement des juments maiden, vides et suitées est de 18,0% (27 cycles sur 150), 19,0% (40 cycles sur 211) et 21,7% (53 cycles sur 244) respectivement. Aucune différence significative des taux d'avortement en fonction du statut physiologique n'existe dans cette étude (Fisher exact, $p=0,62$). Il n'est pas aisé d'établir un lien entre le statut physiologique des juments et le taux d'avortement d'après les données de la littérature, car l'effet âge est difficilement dissociable du statut physiologique. Par exemple, dans l'étude de Bosh et al., (2009), les juments suitées ont présenté un taux de perte embryonnaire significativement plus élevé que les juments maiden (9,9% contre 4,5%) mais les juments n'ayant jamais été mises à la reproduction étaient dans l'ensemble plus jeunes que les juments suitées. Dans l'étude de Allen et al., (2007) et celle de Morris et Allen, (2002), le taux d'avortement n'était pas significativement différent selon les stades physiologiques.

Néanmoins, il apparaît que le stade d'involution utérine après le poulinage est primordial pour la survie de l'embryon. Dans l'étude de Loy, (1980), les juments saillies sur leur première ovulation à moins de 10 jours post-partum, présentaient un taux de gestation dégradé par rapport aux juments ovulant au-delà de 10 jours post-partum. Chez la jument, l'involution utérine se produit rapidement après la parturition et l'utérus devient histologiquement indistinguable d'un utérus non gravide à 14 jours post-partum chez la plupart des juments (Blanchard, Macpherson, 2011). Ainsi, si l'ovocyte est fécondé à partir de 10 jours après le poulinage, l'embryon arrivera dans un utérus totalement involué et aura de meilleurs chances de survie.

Dans notre étude, le Docteur Chollet déconseille aux propriétaires l'exploitation des chaleurs de lait si l'ovulation se produit à moins de 10 jours post-partum, et un contrôle échographique de l'utérus pour évaluer l'état d'involution utérine a été systématiquement réalisé lors d'utilisation des chaleurs de poulinage. Ainsi, une seule jument dont l'ovulation s'est produite à moins de 10 jours post-partum a été inséminée entre 2014 et 2018 mais s'est révélée gravide au diagnostic de gestation précoce. Au total, 24 juments, soit seulement 8,0% des juments suitées, ont été inséminées au cours de leurs premières chaleurs post-partum pour un taux de gestation par cycle de 45,8% (11 DG+/ 24 cycles) et un taux d'avortement de 27,3% (3 avortements sur 11 gestations) (*Tableau 12*). Lors de l'exploitation des autres cycles

des juments suitées, le taux de gestation s'est élevé à 53,2% (232 DG+/ 436 cycles) et le taux d'avortement à 21,6% (50 avortements sur 232 gestations). Il n'a pas été possible de déterminer si les chaleurs exploitées étaient les premières chaleurs post-partum pour 7 juments suitées. Il est difficile de conclure sur l'effet de l'exploitation des chaleurs de poulinage sur la fertilité des juments, l'effectif de ces dernières étant trop réduit dans notre étude. Dans l'étude de Morris et Allen, (2002), les juments suitées et saillies au cours des chaleurs de poulinage ont présenté un taux de perte embryonnaire significativement plus élevé que les juments suitées saillies au cours des chaleurs suivantes. Si les propriétaires sont désireux de mettre rapidement leur jument à la reproduction après le poulinage, il est donc indispensable de s'assurer que l'utérus a achevé son involution avant d'envisager une mise à la reproduction.

2. Influence de l'âge

Dans notre étude, les juments de 15 à 25 ans ont présenté un taux de gestation par cycle légèrement plus faible que les juments plus jeunes, mais aucune différence significative du taux de gestation par cycle selon l'âge des juments n'a pu être démontré (Fisher exact, $p=0,76$) (Tableau 14). De la même façon, il n'existe pas de différence de la proportion de juments vides après deux cycles exploités en fonction de la classe d'âge (Fisher exact, $p=0,2$) (Tableau 15).

Dans les études de Morris et Allen (2002) et de Allen et al., (2007), à partir de 14 ans, les juments présentaient un taux de gestation par cycle à J₁₅ significativement plus bas que les juments plus jeunes. Au final, un meilleur taux de poulinage par saison a été obtenu dans les deux études avec des juments de moins de 14 ans.

	Juments de 2 à 9 ans	Juments de 10 à 14 ans	Juments de 15 à 25 ans	Total
Taux de gestation par cycle (Nombre de DG positifs entre J ₁₄ et J ₂₀)	55,7 % (191)	55,2 % (211)	53,3 % (210)	54,5 % (612)
Nombre total de cycles exploités	343	382	394	1119

Tableau 14: Taux de gestation par cycle des juments en fonction de leur classe d'âge entre 2014 et 2018.

	Juments de 2 à 9 ans	Juments de 10 à 14 ans	Juments de 15 à 25 ans	Total
Nombre de juments vides au diagnostic de gestation précoce après 2 cycles exploités (% du nombre total de juments)	41 (19,1 %)	47 (18,1%)	60 (24,0 %)	148 (20,4 %)
Nombre total de juments mises à la reproduction	215	259	250	724

Tableau 15: Répartition des juments vides après deux cycles exploités selon leur classe d'âge entre 2014 et 2018.

Sur 613 cycles fécondants de juments dont l'âge est connu entre 2014 et 2018, les taux d'avortements des juments âgées de moins de 10 ans, de 10 à 15 ans et de plus de 15 ans sont de 17,3% (33 cycles sur 191), 19,4% (41 cycles sur 211) et 24,2% (51 cycles sur 211) respectivement. Le taux d'avortement selon l'âge des juments n'a pas été significativement différent (Fisher exact, $p=0,21$), probablement en raison de notre effectif limité. Dans les études de Morris et Allen, (2002), de Allen et al., (2007) et de Bosh et al., (2009), le taux d'avortement augmente chez les juments à partir de 9 ans. La différence était significative à partir de 9 ans ou de 14 ans. Le taux de d'avortement était d'environ 10% pour les juments de moins de 9 ans et s'élevait à plus de 27% pour les juments de plus de 18 ans (Morris, Allen, 2002 ; Allen et al., 2007).

d. Influence d'une ovulation double

Le taux de gestation par cycle après insémination/saillie au cours d'un œstrus à ovulation double (60,8%) a été significativement plus élevé que celui des cycles à ovulation simple (52,1%) (Tableau 16) (Fisher exact, $p=0,02$).

	Ovulations simples	Ovulations doubles	Total
Taux de gestation par cycle (Nombre de DG positifs entre 14 et 20j)	52,1% (450)	60,8% (149)	54,0% (599)
Nombre total de cycles exploités	863	245	1108

Tableau 16: Taux de gestation entre 14 et 20 jours en fonction du nombre d'ovulations pour 481 juments suivies en reproduction classique sur la période entre 2014 et 2018.

Le taux de gestation gémellaire s'est élevé à 24,9% après une ovulation double, soit environ ¼ des cycles à ovulation double (61 gestations gémellaires sur 245 cycles à ovulation double). Ceci représente 9,8% des gestations précoces totales et 5,4% de l'ensemble des cycles exploités. Dans une étude rétrospective française sur 620 juments mises à la reproduction entre 1999 et 2002 (Betsch et al., 2004), le taux de gestation gémellaire par cycle se situe entre 5% et 9% sur l'ensemble des cycles exploités, ce qui est en accord avec les résultats de notre étude. Cependant, le taux de gestation gémellaire suite à une ovulation double se situe entre 32% et 40%, soit environ 1/3 des cycles, ce qui est plus élevé que les 24,8% observés dans notre étude. Dans notre étude, la fertilité par ovocyte a été significativement plus faible lors d'ovulation double par rapport aux ovulations simples (42,4% contre 52,2%) (Fisher exact, $p = 0,001$). En effet, sur 490 ovocytes ovulés (soit les 245 ovulations doubles), 208 d'entre eux ont été fécondés (61 gestations gémellaires et 86 gestations simples). Cette différence de fertilité d'environ 10% entre les ovocytes issus de d'ovulation simple et double est cohérente avec les données publiées (Vagner, 2008).

Néanmoins, pour les cycles à ovulation double, le taux de gestation global est supérieur par rapport aux cycles à ovulation simple comme cela a été observé dans notre étude (Vagner, 2008 ; Betsch et al., 2004). Les taux de gestation par cycle pour des ovulations doubles homolatérales et bilatérales sont similaires : 57,8% (67 cycles sur 116) et 62,7% (79 cycles sur 126) respectivement (Fisher exact, $p = 0,51$). Il en est de même pour le taux de gestation gémellaire après une ovulation double : il s'élève à 23,3% (27 cycles sur 116) pour les ovulations homolatérales et à 24,6% (31 cycles sur 126) pour les ovulations bilatérales. Ces résultats sont en contradiction avec certaines études rapportant un taux de gestation global significativement plus élevé lors d'ovulations doubles bilatérales comparativement aux ovulations doubles homolatérales (Vagner, 2008). Des hypothèses de gêne mécanique et/ou de réduction embryonnaires des vésicules localisées dans la même corne utérine sont avancées (Vagner, 2008).

Lors de gestation gémellaire et avant la fixation des vésicules embryonnaires (< 17 jours), la réduction embryonnaire naturelle est rare. Après la fixation (> 16 jours), dans environ 60% des cas, l'une des deux vésicules embryonnaires régresse spontanément. Dans environ 30% des cas, les vésicules embryonnaires s'immobilisent chacune à la base d'une corne utérine différente. La réduction spontanée d'une des deux vésicules avant 40 jours est alors rare (Ginther, 1988). De ce fait, l'évolution de la gestation mènera le plus souvent, par un phénomène d'insuffisance placentaire, à l'avortement de l'un ou des deux fœtus ou à la mort des deux poulains dans plus de 2/3 tiers des cas (Davies Morel, 2008). C'est d'ailleurs l'une des premières causes d'avortement non infectieux chez la jument, qui se produit généralement tardivement, en milieu ou en fin de gestation. Néanmoins, même si une gestation gémellaire n'est jamais souhaitable pour la reproduction classique, il est conseillé d'utiliser les cycles à ovulation double et de ne pas attendre de pouvoir exploiter le cycle suivant, d'une part parce qu'il offre une meilleure fertilité par rapport au cycle à ovulation simple, d'autre part parce qu'il existe une répétabilité individuelle : les juments ayant eu une double ovulation au cours d'un cycle ont environ 40% de chance de la reproduire au cycle suivant (Betsch et al., 2004). Sur l'ensemble des cycles suivis dans notre étude, suite à une ovulation double, une ovulation multiple a pu être observée au cycle suivant dans 33,3% des cas (40 cycles sur 120).

e. Influence de l'aspect piqueté des follicules pré-ovulatoires

Lorsqu'un follicule d'aspect piqueté a évolué jusqu'à l'ovulation et qu'un diagnostic de gestation a été réalisé, le taux de gestation par cycle ne s'élève qu'à 31,0% (9 DG+ sur 29 cycles), contre 52,9% (441 DG+ sur 834 cycles) pour l'ensemble des cycles à ovulation simple (*Tableau 17*). Ainsi, les juments présentant un follicule pré-ovulatoire piqueté ont 1,5 fois plus de risque d'être non gravides comparativement à celles présentant un follicule d'aspect normal (Odds Ratio = 2,49 ; Risque Relatif = 1,46 ; p= 0,02). Ces 9 gestations se sont tout de même maintenues jusqu'au terme. Ces résultats sont à prendre avec précaution car il est difficile de conclure sur l'influence de ce phénomène sur seulement 29 cycles exploités (27 juments) et il n'existe à notre connaissance aucune donnée sur la physiopathologie de ces follicules, excepté leur implication dans la formation de follicules hémorragiques anovulatoires.

	Cycle à ovulation simple d'un follicule pré-ovulatoire non piqueté	Cycle à ovulation simple d'un follicule pré-ovulatoire piqueté
Taux de gestation par cycle (Nombre de DG+ entre J ₁₄ et J ₂₀)	52,9% (441)	31,0% (9)
Nombre total de cycles exploités	834	29

Tableau 17: Taux de gestation par cycle en fonction de l'aspect piqueté ou non du follicule pré-ovulatoire des juments mises à la reproduction classique entre 2014 et 2018.

f. Influence de la taille du follicule pré-ovulatoire

Le *Tableau 18* présente le taux de gestation par cycle des juments en fonction du diamètre des follicules pré-ovulatoires observés au dernier examen échographique avant l'ovulation. Le taux de fertilité par cycle pour les follicules pré-ovulatoires d'un diamètre entre 40 et 50 mm (entre 54,3% et 54,5% sur 542 cycles) n'est pas statistiquement différent de celui pour les follicules de diamètre inférieur à 40 mm (48,2% sur 251 cycles) ou supérieur à 50 mm (50,0% sur 70 cycles, Fisher exact, p =0,83).

	≤ 40 mm]40-45] mm]45-50] mm	> 50 mm	Total
Taux de gestation par cycle (Nombre de DG positifs entre J ₁₄ et J ₂₀)	48,2% (121)	54,5% (207)	54,3% (88)	50,0% (35)	52,3% (451)
Nombre total de cycles exploités	251	380	162	70	863

Tableau 18: Répartition des taux de gestation entre J14 et J20 en fonction du diamètre du follicule pré-ovulatoire lors d'ovulation simple de 2014 à 2018.

Dans l'étude de Casenave (2017), la taille du follicule pré-ovulatoire a eu une influence sur le taux de fertilité par cycle. Sur 155 follicules pré-ovulatoires, le meilleur taux de gestation a été obtenu pour des follicules pré-ovulatoires de 45 à 50 mm de diamètre et ce taux a été divisé par 2 pour des follicules de diamètre supérieur à 50 mm. Cette dégradation de la fertilité n'a pas été observée dans notre étude et à notre connaissance, aucune autre étude n'a jamais étudié les relations entre la fertilité des juments et la taille des follicules pré-ovulatoires.

g. Influence des traitements de maîtrise des cycles

1. *Traitement d'induction de l'ovulation*

Dans notre étude, l'administration de traitement d'induction de l'ovulation n'a pas affecté la fertilité des juments (*Tableau 19*) : le taux de gestation est de 54,8% lors d'induction de l'ovulation (74 cycles sur 135) et de 54,6% sans induction (547 cycles sur 1001) (Fisher exact, p= 1,0).

	Pas de traitement d'induction de l'ovulation au cours du cycle	Traitement d'induction de l'ovulation au cours du cycle
Taux de gestation par cycle (Nombre de DG+ entre J ₁₄ et J ₂₀)	54,8% (74)	54,6% (547)
Nombre total de mises à la reproduction	135	1001

Tableau 19: Répartition des taux de gestation entre J14 et J20 en fonction des traitements d'induction de l'ovulation entre 2014 et 2018.

Dans leur étude, Morris et Allen (2002) concluent également une absence d'effet des traitements d'induction à l'hCG ou à la GnRH sur le taux de gestation précoce.

2. Traitement de synchronisation des chaleurs

Un meilleur taux de gestation par cycle a été obtenu lors de l'administration de luprostriol ou de cloprosténol pour induire les chaleurs (57,7% sur 572 cycles) comparativement aux chaleurs non induites (51,4% sur 564 cycles), (Fisher exact, $p = 0,04$), (Tableau 20).

	Pas de traitement de synchronisation des chaleurs	Traitement de synchronisation des chaleurs
Taux de gestation par cycle (Nombre de DG+ entre J ₁₄ et J ₂₀)	51,5% (291)	57,7% (330)
Nombre total de mises à la reproduction	564	572

Tableau 20: Répartition des taux de gestation entre J14 et J20 en fonction des traitements de synchronisation des chaleurs par administration d'analogues de prostaglandine F2 α entre 2014 et 2018.

Plusieurs études récentes ont évalué l'influence de la prostaglandines F2 α sur le taux de gestation chez la jument et les résultats sont contradictoires. Certaines études menées sur un nombre important de cycles (entre 475 et 971 cycles) rapportent un taux de gestation significativement plus faible lorsque des prostaglandines sont administrées pour induire l'œstrus (Lindeberg et al., 2002 ; Nielsen et al., 2008). Une autre étude menée sur 461 cycles n'a pu mettre en évidence aucune différence significative (Metcalf, Thompson, 2010). Enfin selon les résultats d'autres études, telles que celles de Veronesi et al., (2003) ou Ginther, Al-Mamun, (2009), l'utilisation de prostaglandine induirait un taux d'ovulation double et donc de gestation gémellaire plus élevé que lors de chaleurs « naturelles ». Lors d'apport exogène de prostaglandine, le taux de progéstagène circulant chute et le taux de LH augmente dans les heures suivant le traitement. D'après Ginther et Al-Mamul (2009), les cycles comportant deux follicules dominants ne sont pas plus nombreux aux cours de chaleurs induites mais lorsque deux follicules dominants sont présents, ils auraient plus tendance à ovuler tous les deux après administration de prostaglandine. Le stade du cycle auquel les analogues de PGF2 α sont administrés aurait également une influence sur le devenir des follicules dominants : l'exposition d'une jeune vague folliculaire à des concentrations élevées en LH après administration de PGF2 α , favoriserait la formation de deux follicules hémorragiques anovulatoires ou d'un FAH associée à une ovulation normale. En revanche, l'administration de

prostaglandine F2 α plus tardivement dans la croissance folliculaire, prédisposerait aux ovulations doubles de follicules pré-ovulatoires normaux (Ginther, Al-Mamun, 2009).

Néanmoins, au terme de l'étude de Lindeberg et al., (2002), il a été constaté un taux de gestation gémellaire similaire entre le groupe traité avec des prostaglandines et le groupe témoin. Dans notre étude, pour les cycles dont le nombre d'ovulation est connu, le taux d'ovulation multiple (double, triple ou quadruple) a été significativement plus élevé au cours d'œstrus induit par l'administration d'analogues de prostaglandine : 26,6% (151 cycles à ovulation multiple sur 567 cycles) contre 19,3% (107 cycles à ovulation multiple sur 554 cycles) (Fisher exact, $p = 0,004$). Les cycles à ovulation double ont probablement contribué à un meilleur taux de gestation par cycle du fait de leur meilleure fertilité. Le taux de gestation multiple a également été significativement plus élevé au cours des chaleurs induites : 7,9% (45 gestations multiples sur 572 cycles) contre 4,3% (24 gestations multiples sur 564 cycles) (Fisher exact, $p = 0,013$).

Au vu des résultats contradictoires des récentes études et de cette présente étude, les répercussions de l'utilisation des analogues de prostaglandine F2 α , d'une part sur le taux de gestation par cycle et d'autre part sur l'incidence des ovulations double, restent à confirmer.

h. Influence du mode de reproduction

L'utilisation de semence fraîche a permis d'obtenir un taux de gestation de 61,8% contre 51,7% et 51,4% pour l'utilisation de semence réfrigérée et congelée respectivement (*Tableau 21*, Fisher exact, $p = 0,016$ pour la semence réfrigérée et Fisher exact, $p = 0,004$ pour la semence congelée). Le taux de gestation par cycle en monte naturelle, obtenu sur un nombre très limité de cycles (7) est élevé. Ces résultats sont en accord avec les taux de gestation communément décrits pour l'utilisation de semence fraîche (taux de gestation par cycle de 50 à 60%), réfrigérée et congelée (taux de gestation par cycle de 40 à 50%) (Mourrier, 2010).

Lorsqu'un unique mode de reproduction a été utilisé au cours des différents cycles exploités des juments, la proportion de juments mises à la reproduction 3 fois ou plus n'a pas été significativement différent entre l'IAF (9,6% sur 178 juments), l'IAR (7,4% sur 148 juments) et l'IAC (7,2% sur 291 juments) (Fisher exact, $p = 0,65$).

	MN	IAF	IAR	IAC	total
Taux de gestation par cycle (Nombre de DG+ entre J ₁₄ et J ₂₀)	71,1% (5)	61,8% (188)	51,7% (149)	51,4% (260)	54,5% (602)
Nombre total de mises à la reproduction	7	304	288	506	1105

Tableau 21: Répartition des taux de gestation par cycle entre J14 et J20 en fonction du mode de reproduction et du type de semence pour les juments suivies entre 2014 et 2018.

i. Influence du nombre d'inséminations et du moment de l'insémination lors de l'utilisation de la semence congelée

Le nombre d'inséminations de semence congelée (1 IAC ou plusieurs IAC) et le moment de l'insémination (phase pré-ovulatoire ou post-ovulatoire) n'a pas eu d'influence sur le taux de gestation, s'élevant entre 49,1% et 52,3% (Tableau 22, Fisher exact, $p=0,76$). Ainsi, une unique insémination de semence congelée, que ce soit en phase pré-ovulatoire ou post-ovulatoire, ne dégrade pas la fertilité si le suivi échographique est rapproché et rigoureux (Chavolin, 2005).

	1 IAC en phase pré-ovulatoire	1 IAC en phase post-ovulatoire	Plusieurs IAC au cours du cycle	Total
Taux de gestation par cycle (Nombre de DG+ entre J ₁₄ et J ₂₀)	52,3% (146)	50,0% (60)	49,1% (54)	51,4% (260)
Nombre total de mises à la reproduction	276	120	110	506

Tableau 22: Taux de gestation des juments mises à la reproduction classique en fonction du nombre de paillettes utilisées et du moment de l'insémination entre 2014 et 2018.

Lorsqu'une seule paillette a été utilisée au cours du cycle, le taux de gestation par cycle s'est élevé à 39,5% (15 DG+/ 38 cycles) et pour 55,3% de ces cycles (21 cycles sur 38), l'insémination a été réalisée après l'ovulation. Le taux de gestation des cycles exploités avec une seule paillette (15 DG+/38 cycles, soit 39,5%) est proche de celui des cycles exploités avec plus d'une paillette (245 DG+/468 cycles, soit 42,4%, Fisher exact, $p=0,13$). Par ailleurs, lorsqu'une seule paillette a été utilisée post-ovulation, le taux de gestation de 42,9% (9 DG+/21 cycles) est plus élevé comparativement à une IA pré-ovulation (35,3 %, 6 DG+/17 cycles), mais compte tenu des faibles effectifs, la différence n'est pas significative (Fisher exact, $p = 0,74$).

Ainsi, lors de l'utilisation d'une seule paillette, il est essentiel d'inséminer le plus proche possible de l'ovulation pour garantir une qualité optimale des gamètes au moment de la fécondation.

j. Influence de la supplémentation en progestérone comme soutien de la gestation

Seize juments ont été supplémentées en progestérone au cours de 18 cycles (2 juments ont été supplémentées lors de deux saisons différentes). Parmi les 9 juments ayant reçu des progestagènes immédiatement après l'ovulation, seulement 2 d'entre elles étaient gravides au diagnostic de gestation précoce, représentant un taux de gestation par cycle de 22,2%. Une d'entre elle a avorté avant J₄₀. Neuf juments ont été supplémentées après un diagnostic de gestation précoce positif. Six d'entre elles ont tout de même avorté (trois juments ont avorté avant 30 jours de gestation, deux entre J₃₀ et J₆₅ et une à un stade inconnu, entre J₁₆ et le terme). En résumé, sur les 11 juments présentant un diagnostic de gestation précoce positif et supplémentées à partir de l'ovulation ou du diagnostic de gestation, 7 juments ont tout de même avorté (soit 63,6% des juments) dont au moins 6 avant J₆₅ (la septième ayant une date d'avortement inconnue).

Les progestagènes sont indispensables à la gestation ; elles stimulent la production de lait utérin par les glandes endométriales, essentiel à la nutrition du conceptus et permettent de maintenir le myomètre en quiescence durant la gestation. Chez les juments, le corps jaune primaire se met en place à partir du follicule qui a ovulé. Il constitue la seule source de progestagènes jusqu'à J₄₀ de la gestation. La sécrétion de FSH par la glande hypophysaire est responsable de l'initiation de plusieurs vagues de croissance folliculaire à intervalle de 10-15 jours. Il s'en suit la formation de nombreux corps jaunes secondaires (jusqu'à plusieurs dizaines) sur les ovaires après lutéinisation ou ovulation induite par l'activité LH-like de l'eCG (equine chorionic gonadotropin), gonadotropine chorionique sécrétée par les cupules endométriales à partir de J₃₈-J₄₀. Il en résulte une augmentation de la concentration plasmatique maternelle en progestérone. A partir de J₁₀₀-J₁₂₀, les cupules endométriales dégénèrent, la concentration plasmatique maternelle en eCG chute, marquant l'arrêt du développement de corps jaunes secondaires et ces derniers régressent à mi-gestation. Le développement de microvillosités choriales et l'expansion de l'allanto-chorion a lieu à partir de J₄₀, et ce dernier atteint une maturité suffisante pour produire des progestagènes directement au contact de l'endomètre utérin à partir de J₇₀-J₁₀₀. En fin de gestation, les glandes surrénales fœtales sont matures et sécrètent de la pregnenolone métabolisée en progestagène par le placenta. En somme, la sécrétion de progestérone est assurée par le corps

jaune primaire de l'ovulation jusqu'à environ J40, puis par les corps jaunes secondaires jusqu'à mi-gestation, avant que la source foeto-placentaire prenne le relai jusqu'au terme (Allen, 2001).

La supplémentation en progestagène vise à pallier une insuffisance lutéale que pourraient présenter certains juments avec un historique d'avortement précoce récurrent. Cette supplémentation est donc généralement pratiquée de l'ovulation jusqu'à environ 100 jours de gestation, période à partir de laquelle, la sécrétion en progestérone est assurée par le placenta. Chez la jument, l'implication de l'insuffisance lutéale dans les avortements n'est pas clairement définie, excepté dans un contexte pathologique d'endotoxémie ou d'endométrite post IA/saillie au cours desquelles les prostaglandines F2 α entraîne la lutéolyse (Daels, 2006). En effet, l'évaluation du taux de progestérone chez les juments ayant avorté précocement a montré qu'une baisse de la progestéronémie est rarement impliquée dans les avortements (1 seule jument a présenté une baisse de la progestéronémie préalablement à son avortement entre J₁₇ et J₄₂ sur 17 juments ayant avorté dans l'étude de Irvine et al., (1990)). D'autres mécanismes ont été proposés tel qu'un défaut de reconnaissance maternelle lors de retard de développement embryonnaire, incapable de « signaler » sa présence dans le corps utérin, et incapable d'inhiber la lutéolyse (Daels, 2006).

Dans notre étude, sur les 11 juments présentant un diagnostic de gestation précoce positif et supplémentées en progestérone à partir de l'ovulation ou du diagnostic de gestation, 7 juments ont tout de même avorté (soit 63,6% des juments) dont au moins 6 avant J₆₅ (la septième ayant une date d'avortement inconnue). La supplémentation en progestérone ne semble donc pas avoir eu une influence positive sur le maintien de la gestation dans notre étude mais les résultats sont à prendre avec précautions car l'effectif des juments supplémentées reste faible.

k. Influence des endométrites

Le *Tableau 23* présente le taux de gestation par cycle des juments en fonction de l'administration de traitements préventifs de l'endométrite avant l'insémination. Pour 16,3% des 1136 cycles exploités (185 cycles), ce traitement préventif a été administré en phase pré-insémination/saillie. Dans 85,9% de ces cas (159 cycles), des traitements en post-insémination/saillie ont également été administrés. Ces juments peuvent être considérées comme des juments présentant un défaut de vidange utérine, c'est-à-dire prédisposées à développer une endométrite post-insémination/saillie persistante. Néanmoins, le taux de gestation par cycle de ces juments (60,0%) n'a pas été dégradé par rapport à celles n'ayant pas reçu de traitement avant l'insémination (53,6%) (Fisher exact, $p = 0,12$). De même, les juments traitées avant et après l'insémination ont eu tendance à présenter un meilleur taux de gestation : 61,6% (98 DG+/159 cycles) contre 53,5% (523 DG+/ 977 cycles) pour les autres, (Fisher exact, $p = 0,06$).

L'administration d'un utérokinétique ou la réalisation de lavage(s) utérin(s) sur des juments prédisposées a donc pu contribuer à contenir la réaction inflammatoire pour obtenir un taux de gestation par cycle satisfaisant.

	Pas de traitement d'endométrite en pré-IA/saillie	Traitement d'endométrite en pré-IA/saillie
Taux de gestation par cycle (Nombre de DG+ entre J ₁₄ et J ₂₀)	53,6% (510)	60,0% (111)
Nombre total de mises à la reproduction	951	185

Tableau 23: Taux de gestation par cycle des juments en fonction de l'administration de traitements d'endométrites en phase pré-IA/saillie entre 2014 et 2018.

Pour 73,6% des cycles exploités pris en compte (837 cycles sur 1136), un traitement d'endométrite a été administré après l'insémination ou la saillie. Le *Tableau 24* montre que les taux de gestation par cycle des juments ayant reçu un traitement d'endométrite après l'insémination ou la saillie (utérokinétique, lavage(s) utérin(s), anti-inflammatoires) (55,0 %) et des juments n'ayant reçu aucun traitement (53,8%), sont similaires (Fisher exact, $p = 0,79$). De plus, les juments traitées n'ont pas présenté plus d'avortements que les juments non traitées puisque les deux groupes ont présenté le même taux d'avortements de 21,1% : 34 avortements pour 161 gestations de juments non traitées et 97 avortements pour 460 gestations de juments traitées (Fisher exact, $p=1,0$).

	Pas de traitement d'endométrite en post-IA/saillie	Traitement d'endométrite en post-IA/saillie
Taux de gestation par cycle (Nombre de DG+ entre J ₁₄ et J ₂₀)	53,8% (161)	55,0% (460)
Nombre total de mises à la reproduction	299	837

Tableau 24 : Taux de gestation par cycle des juments en fonction de l'administration de traitements d'endométrites en phase post-IA/saillie entre 2014 et 2018.

Les taux de gestation par cycle des juments ayant présenté des signes d'inflammation légère (juments ayant reçu uniquement des utérokinétiques), modérée (un unique lavage utérin a été réalisé associé à des utérokinétiques) ou des signes inflammatoires plus sévères (plusieurs lavages utérins) en phase post-IA/saillie, sont respectivement de 56,8% (260 cycles sur 458), 51,2% (149 cycles sur 291) et 56,8% (50 cycles sur 88) et ne sont pas significativement différents de celui des juments non traitées en phase post-IA (Fisher exact, $p = 0,45$; $p = 0,56$; $p = 0,32$ respectivement).

Dans l'étude de Casenave (2017), les juments ayant reçu un traitement d'endométrite au cours du cycle avaient 2 fois moins de chance d'être gravides que celles n'ayant pas été traitées. Dans l'étude de Allen et al., (2007) et de Morris et Allen (2002), les taux de gestation des juments traitées et non traitées n'ont pas été significativement différents (Allen et al., 2007). Dans notre étude, la mise en place de traitements sur des juments qui le justifiaient n'a pas permis d'obtenir significativement un meilleur taux de gestation mais a probablement prévenu de manière efficace la dégradation de la fertilité, en limitant ou évitant le développement de l'inflammation utérine avant l'arrivée de l'embryon dans l'utérus.

IV. Analyse des performances de reproduction pour la collecte d'embryons

a. Taux de succès par cycle et taux de collecte d'embryons par cycle

Le nombre de juments mises à la reproduction et le nombre de cycles exploités pour la collecte d'embryons sont relativement faibles par rapport à la reproduction classique, seulement 29 juments, dont 4 ont été présentées au cours de deux saisons et une lors de 3 saisons, pour un total 67 chaleurs exploitées. Le nombre de juments a également beaucoup varié selon les années, de 3 à 11 juments par an. Pour 75,4% des cycles exploités (49/65 cycles), la collecte a été réalisée 8 jours après le constat de l'ovulation. Ce délai correspond aux pratiques de production d'embryons en France car d'après les résultats du sondage diffusé dans 11 centres français pour la saison 2014 et 2015, les collectes ont été réalisées à 81,5% à J₈ contre 5,5% à J₇ ou 13% à J₉ (Autard de Bragard, 2016).

Le taux de succès par cycle, c'est-à-dire, le taux de cycles pour lesquels au moins un embryon a pu être collecté, est de 31,3 % (21 succès sur 67 cycles exploités). Le taux d'embryons collectés par cycle (nombre d'embryons collectés au cours de la saison sur le nombre de cycles exploités au cours de la saison) est de 0,39 (26 embryons collectés pour 67 chaleurs exploitées). Le taux d'embryons collectés plus élevé en 2015 (0,79 embryon) peut s'expliquer par la collecte de deux embryons pour les quatre cycles à ovulation double au cours de cette année (*Figure 15*). Par ailleurs, d'après les naissances enregistrées auprès du SIRE, le taux de poulinage des juments receveuses après transfert est de 64,0%, soit 16 naissances enregistrées sur 25 embryons collectés (la section « Reproduction » d'une des donneuses étant inaccessible, la naissance d'un poulain après transfert reste inconnu). Ainsi, au cours des cinq années, le propriétaire d'une jument avait environ 1 chance sur 4 par cycle (26,4%) d'obtenir un poulain avec sa jument donneuse.

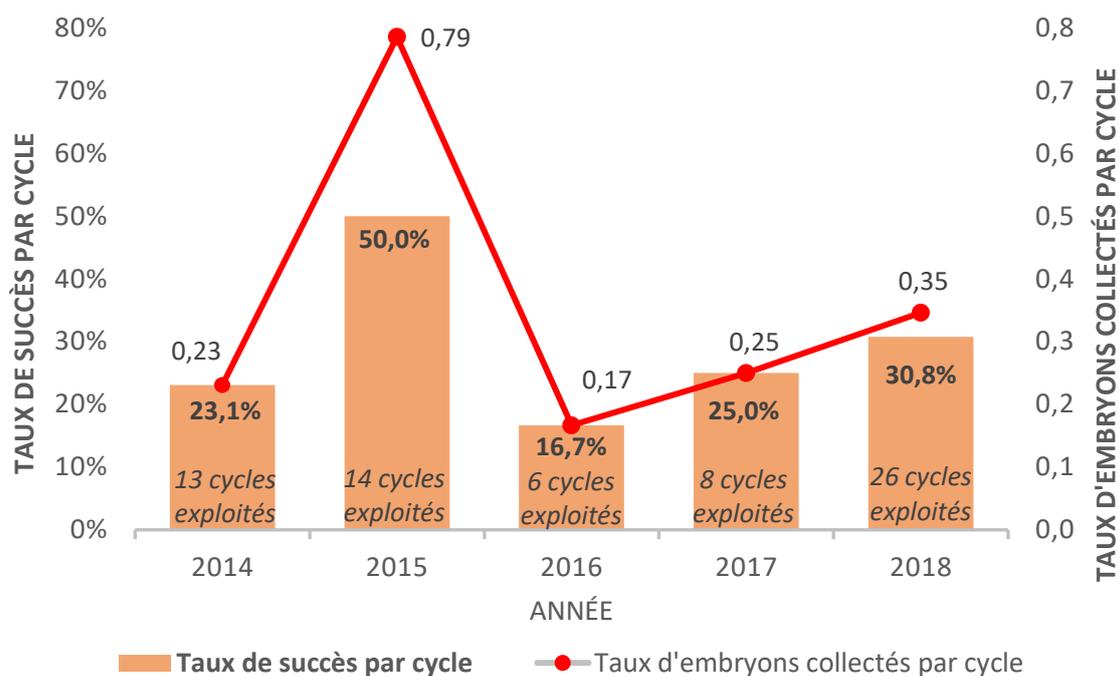


Figure 15: Taux de collecte d'embryons par cycle et taux de succès par cycle pour 29 juments donneuses d'embryons, collectées après 67 chaleurs sur la période de 2014 à 2018.

Différents taux de collecte ont été rapportés dans la littérature. Selon McCue et Squires, (2015), le taux de collecte d'embryons est d'environ 50 à 65% par collecte mais peut atteindre 75% avec de jeunes donneuses en bonne santé, ne présentant pas de problème de fertilité et inséminées avec de la semence de bonne qualité. Ce taux peut également diminuer drastiquement jusqu'à 20 à 30% chez des juments présentant un historique de subfertilité. Une étude rétrospective menée à la faculté vétérinaire du Colorado entre 2004 et 2008 rapporte un taux de collecte par cycle de 52,2% (257 embryons obtenus sur 492 collectes) (McCue et al., 2010). Un résultat similaire (51,1 %) a été obtenu dans l'étude rétrospective italienne de Panzani et al., (2014), menée sur 661 collectes d'embryons (contre 39% dans notre étude).

En France, les transferts d'embryons sont pratiqués par des centres privés et les données ne sont pas publiées. D'après les résultats des 11 centres français sondés sur les années 2014 et 2015, le taux de récoltes «positives », i.e. avec au moins un embryon lors d'une collecte s'élevait à 41,4% : 277 succès sur 669 collectes pour 208 juments donneuses (représentant 19% des juments donneuses enregistrées auprès du SIRE en France pour ces deux années) (Autard de Bragard, 2016). Ce taux est plus important que le taux de récoltes positives de notre étude : 21 succès sur 82 collectes au total, soit un taux de récoltes positives de 25,6%.

Le *Tableau 25* présente les résultats des collectes d'embryons en fonction du rang des cycles exploités. Au final, au moins un embryon par saison a pu être collecté pour 60,0% des mises à la reproduction pour transfert d'embryon (21 succès pour 35 mises à la reproduction). Pour ces juments, le nombre moyen de chaleurs exploitées pour obtenir un premier succès est de $1,8 \pm 1,3$ (médiane de 1). Dans d'autres centres, la probabilité pour qu'une jument ait au moins un embryon récolté sur la saison atteint jusqu'à 80,6% pour un nombre moyen de

chaleurs exploitées analogue (soit 1,8) (Autard de Bragard, 2016). Ces différences pourraient être liées à un faible effectif dans notre étude, aux caractéristiques de la population de juments et aux variations interindividuelles importantes.

Par ailleurs, pour 88,6% des juments, au maximum trois chaleurs ont été exploitées pour la collecte d'embryons. Pour 3 des 29 juments, 4 à 7 chaleurs ont été exploitées au cours d'une saison ou plus (représentant 34,3% de la totalité des cycles exploités pour le transfert d'embryons), pour obtenir un seul embryon pour 2 d'entre elles. L'une d'entre elles avait un historique d'infertilité et une seconde avait entre 23 et 24 ans lorsqu'elle a été présentée au cours de deux saisons différentes.

Compte tenu des enjeux, la répétition des collectes peut permettre in fine d'obtenir des embryons. Ainsi, pour les centres français sondés, un succès a pu être obtenu après 3 échecs dans 60,8% et 55,3% des cas pour les saisons 2014 et 2015 respectivement (Autard de Bragard, 2016).

	Juments	Age et statut physiologique des juments	Nombre d'embryons collectés par saison							
			n°1	n°2	n°3	n°4	n°5	n°6	n°7	
Saison 2014	1a	22 ans, suitée	0							0
	2	21 ans, vide	1							1
	3	10 ans, vide	0	0	0					0
	4	10 ans, vide	0							0
	5a	10 ans, vide	0	0	1					1
	6	14 ans, maiden	0	0						0
	7a	8 ans, vide	1							1
	8	6 ans, maiden	0							0
Saison 2015	1b	23 ans, suitée	0	1	0	0	0			1
	9	20 ans, vide	0	1						1
	10	18 ans, vide	2							2
	5b	11 ans, vide	2							2
	7b	9 ans, vide	0	1						1
	11	8 ans, maiden	2							2
	12	6 ans, vide	0	2						2
Saison 2016	13	11 ans, maiden	0							0
	14	6 ans, suitée	1							1
	1c	24 ans, vide	0	0	0	0				0
Saison 2017	15a	4 ans, maiden	0							0
	16a	4 ans, suitée	0							0
	17	8 ans, maiden	0	0						0
	18	3 ans, maiden	1							1
	19	11 ans, vide	0	1						1
	20	11 ans, vide	0							0
Saison 2018	21	7 ans, vide	1							1
	15b	5 ans, suitée	0							0

	22	5 ans, suitée	0	0	0	1	0	0	0	1
	16b	5 ans, vide, Historique d'infertilité	0	0	0	0	0	1	0	1
	23	4 ans, vide	1							1
	24	4 ans, statut inconnu	0	0						0
	25	4 ans, maiden	1							1
	26	4 ans, vide	0	2						2
	27	16 ans, statut inconnu	1	0						1
	28	24 ans, vide	0							0
	29	2 ans, maiden	1							1
Total	29		15	8	1	1	0	1	0	26

Tableau 25 : Résultats des collectes d'embryons pour chaque jument en fonction du rang du cycle exploité entre 2014 et 2018.

Les 29 juments sont numérotées dans la colonne de gauche de 1 à 29. Lorsqu'une jument a été présentée au cours de plusieurs saisons, les années n, n+1 et n+2 sont désignées par les lettres a, b et c respectivement.

b. Influence de l'âge et du statut physiologique

1. *Influence de l'âge*

Le Tableau 26 représente le taux d'embryons collectés par cycle et le taux de succès par cycle entre 2014 et 2018. Les juments de moins de 9 ans semblent avoir présenté de meilleurs résultats que les juments plus âgées mais compte tenu des faibles effectifs, les taux d'embryons collectés par cycle et le taux de succès par cycle n'ont pas significativement différencié selon l'âge des juments donneuses (Fisher exact, $p=0,67$ et $p=1,0$ respectivement).

	[2-9 ans]	[10- 16 ans]	[>17 ans]
Taux d'embryons collectés par cycle (Nombre d'embryons collectés)	0,44 (16)	0,31 (5)	0,33 (5)
Taux de succès par cycle (Nombre de cycles pour lesquels au moins un embryon a été récolté)	36,1% (13)	25,0% (4)	26,6% (4)
Nombre total de cycles exploités	36	16	15

Tableau 26: Taux d'embryons collectés par cycle et taux de succès par cycle en fonction de la classe d'âge de la jument donneuse (2-9 ; 10-16 et >17 ans) sur la période de 2014 à 2018.

A travers les résultats de plusieurs études et tout comme la reproduction classique, la fertilité décroissante des juments à partir d'un certain âge diminue le succès des collectes d'embryons. Dans l'étude de PANZANI et al., (2014), l'âge idéal pour une jument donneuse semble être entre 11 et 15 ans. Ces dernières présentaient un taux d'embryons collectés par cycle significativement supérieur à celui des juments plus âgées et également un meilleur taux de succès par collecte par rapport à toutes les autres classes d'âge. Selon l'auteur, un des avantages majeurs des juments d'âge moyen est l'incidence plus élevée d'ovulation double par rapport aux juments plus jeunes. Dans notre étude, la proportion des cycles à ovulation double représente environ ¼ des cycles exploités pour chaque catégorie d'âge. Dans l'étude de McCue et al., (2010), le taux de récoltes positives était environ 20% plus faible pour les juments de plus de 15 ans comparé aux juments plus jeunes. Le même constat a pu être établi dans les centres français avec statistiquement moins d'embryons collectés pour les juments de plus de 14 ans (Autard de Bragard, 2016).

2. Influence du statut physiologique

Le *Tableau 27* présente le taux d'embryons collectés par cycle et le taux de succès par cycle en fonction du statut physiologique des juments entre 2014 et 2018. Les juments suitées ont présenté un taux d'embryons collectés par cycle et un taux de succès par cycle plus faibles mais non significativement différents par rapport aux juments maiden et aux juments vides (test du Fisher exact, $p=0,08$ et $0,37$ respectivement). Seules 6 juments suitées ont été suivies pour la collecte d'embryons. Parmi elles se trouvent deux des trois juments subfertiles citées précédemment. Ces dernières représentent 70,6% du nombre total de cycles exploités pour les juments suitées et contribuent au faible taux de collecte de cette catégorie.

	Maiden	Suitée	Vide
Taux d'embryons collectés par cycle (Nombre d'embryons collectés)	0,45 (5)	0,18 (3)	0,49 (17)
Taux de succès par cycle (Nombre de cycles pour lesquels au moins un embryon a été récolté)	36,4% (4)	17,6% (3)	37,1% (13)
Nombre total de cycles exploités	11	17	35

Tableau 27: Taux de collecte d'embryons par cycle et taux de succès par cycle en fonction du statut physiologique des juments entre 2014 et 2018.

Dans l'étude de Vogelsang, (1989), les juments maiden sont celles qui présentaient le meilleur taux de récoltes avec au moins un embryon (61%). Le taux de récoltes « positives »

des juments maiden et suitées était plus élevée que celui de juments restées vides plus de 2 ans, considérées comme subfertiles, et qui chutait à 29%.

c. Influence d'une ovulation double

Le *Tableau 28* présente le taux d'embryons collectés par cycle et par ovulation ainsi que le taux de succès par cycle en fonction du nombre d'ovulations par cycle entre 2014 et 2018. Le taux d'embryons collectés par cycle lors d'ovulation simple est significativement plus faible (Fisher exact, $p=0,002$) que celui lors d'ovulation double : 0,25 (12 embryons collectés pour 47 cycles à ovulation simple exploités) contre 0,73 (11 embryons collectés pour 15 cycles à ovulation double exploités). Le nombre d'ovulations est inconnu pour deux cycles d'une même jument car l'IA a été réalisée par un autre vétérinaire. Deux cycles à ovulation double n'ont pas été pris en compte dans le calcul du taux de collecte pour les cycles à ovulations double car un des deux follicules pré-ovulatoires avait déjà ovulé avant l'insémination. La durée de vie d'un ovocyte dans les voies génitales femelles étant de 6 à 12 heures et l'intervalle des examens échographiques étant de 24 heures, il est impossible de déterminer si cet ovocyte était toujours fécondable au moment de l'insémination.

	Ovulation simple	Ovulation double	Ovulation triple
Taux d'embryons collectés par cycle (%) (Nombre d'embryons collectés)	0,25 (12)	0,73 (11)	2 (2)
Taux de succès par cycle (Nombre de cycles pour lesquels au moins un embryon a été récolté)	25,5% (12)	46,6% (7)	100% (1)
Nombre total de cycles exploités	47	15	1
Taux d'embryons collectés par ovulation (Nombre d'embryons collectés)	0,25 (12)	0,37 (11)	0,67 (2)
Nombre total d'ovulation	47	30	3

Tableau 28: Taux de collecte d'embryons par cycle et par ovulation et taux de succès par cycle en fonction du nombre d'ovulations par cycle entre 2014 et 2018.

La *Figure 16* présente la répartition des cycles à ovulation double en fonction du nombre d'embryons collectés par cycle. Pour 46,7% de ces cycles, au moins un embryon a été

collecté (7 succès sur 15 cycles) : un seul embryon a été collecté pour 3 cycles (20% des cycles à ovulation double) et deux embryons ont été collectés pour 4 cycles (26,7% des cycles à ovulation double). Il y avait 2,5 fois plus de risque de ne collecter aucun embryon lors de cycle à ovulation simple comparé aux cycles à ovulation double (Odds Ratio = 2,55 ; Risque Relatif = 1,4,). Cependant, les taux succès par cycle n'ont pas significativement différencié entre les cycles à ovulation double et à ovulation simple (Fisher exact, $p=0,2$). Dans l'étude rétrospective de McCue et al., (2010), pour 51,6% des cycles à ovulation simple, un embryon a pu être collecté (25,5% dans notre étude) et pour 59,7% des cycles à ovulation double, au moins un embryon par cycle a pu être collecté (46,7% dans notre étude). De manière générale, les ovulations multiples permettent donc d'améliorer le taux d'embryons collectés par cycle.

Dans notre étude, le taux de collecte par ovulation ne diffère pas significativement entre les cycles à ovulation double et ceux à ovulation simple (Fisher exact, $p=0,32$). Cependant, plusieurs études ont montré que le taux de collecte par ovulation était inférieur lors d'ovulation multiple par rapport aux ovulations simples. Dans l'étude de PANZANI et al., (2014), le taux d'embryons collectés par ovulation est significativement plus faible de 11,2% pour les ovulations doubles par rapport aux ovulations simples. L'auteur évoque l'existence d'une gêne mécanique des ovocytes à atteindre la fosse d'ovulation de l'ovaire lors d'une ovulation multiple ipsilatérale et simultanée. Il s'en suivrait un défaut de fécondation d'un des deux ovocytes entraînant un taux de collecte par ovulation plus faible que lors d'ovulation simple. Dans notre étude, le nombre d'ovulations doubles est faible (15 ovulations doubles) et le taux d'embryons collectés par ovulation pour les ovulations ipsilatérales et bilatérales sont respectivement de 0,39 et 0,33 et ne diffèrent pas significativement ($p=1,0$).

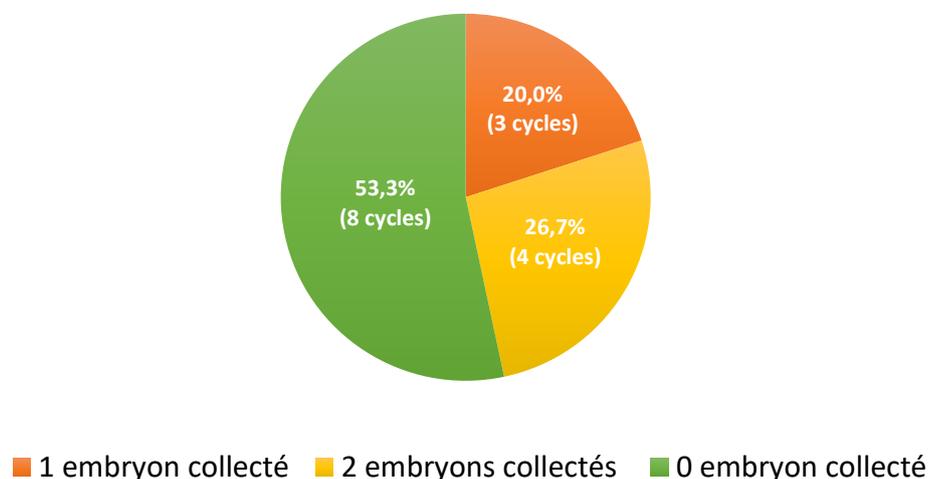


Figure 16: Répartition des cycles à ovulation double en fonction du nombre d'embryons collectés entre 2014 et 2018.

En somme, même si le taux de collecte par ovulation peut être réduit lors d'ovulation double, les ovulations multiples influencent positivement et fortement le taux d'embryons collectés par cycle. L'augmentation du nombre d'ovulations pour un même cycle représenterait un réel avantage pour la collecte d'embryons. Néanmoins, les traitements de superovulation chez la jument sont peu efficaces. Il a été montré d'une part que seule la FSH avait une efficacité chez la jument et d'autre part, qu'un nombre relativement limité de follicules ovulent après traitement, du fait d'un nombre assez réduit de follicules recrutés

sensibles à la FSH (3 à 4 ovulations par cycle tout au plus). De plus, aucune spécialité n'est actuellement disponible sur le marché européen (Dordas-Perpinya, Bruyas, 2019).

d. Influence de l'induction de l'ovulation

Lorsque l'ovulation a été induite, le taux d'embryons collectés par cycle s'élève à 0,41 contre 0,3 lorsque l'ovulation n'a pas été induite (*Tableau 29*). Ces taux ne sont pas significativement différents (Fisher exact, $p= 0,73$). De même, les taux de succès par cycle, c'est-à-dire pour lesquels au moins un embryon a pu être récolté, avec induction (33,9%, 19 succès sur 56) et sans induction (20,0%, 2 succès sur 10) ne sont pas statistiquement différents (Fisher exact, $p= 0,48$). Encore une fois, le faible nombre de cycles est un facteur limitant de cette étude.

	Traitement d'induction de l'ovulation	Pas de traitement d'induction de l'ovulation
Taux d'embryons collectés par cycle (Nombre d'embryons collectés)	0,41 (23)	0,3 (3)
Taux de succès par cycle (Nombre de cycles pour lesquels au moins un embryon a été récolté)	33,9% (19)	20,0% (2)
Nombre total de cycles exploités	56	10

Tableau 29: Taux de collecte d'embryons par cycle et par ovulation et taux de succès en fonction de l'administration d'un traitement d'induction de l'ovulation.

D'après les résultats de certains centres français recueillis par Autard de Bragard (2016), l'induction de l'ovulation a pu augmenter significativement les chances de collecter au moins un embryon sur la saison 2014 en permettant probablement l'insémination des juments au plus proches de l'ovulation.

e. Influence du mode de reproduction

Le *Tableau 30* représente le taux d'embryons collectés par cycle et le taux de succès par cycle entre 2014 et 2018. Les taux obtenus sont encore une fois similaires et ne diffèrent pas significativement : entre 0,33 et 0,37 pour le taux d'embryons collectés par cycle (Fisher exact, $p=1,0$) et entre 25,0% et 33,3% pour le taux de succès par cycle (Fisher exact, $p=0,87$).

Par ailleurs, la majorité des chaleurs des trois juments subfertiles citées précédemment ont été exploitées avec de la semence fraîche et réfrigérée. Ces dernières représentent 37,5% des cycles exploités avec de la semence fraîche et 44,4% de ceux exploités avec de la semence réfrigérée contre 26,9% des cycles exploités avec de la semence congelée, ce qui constitue un biais pour analyse l'effet de la conservation de la semence sur l'efficacité de la production d'embryons.

	IAF	IAR	IAC
Taux d'embryons collectés par cycle (Nombre d'embryons collectés)	0,37 (6)	0,33 (6)	0,35 (9)
Taux de succès par cycle (Nombre de cycles pour lesquels au moins un embryon a été récolté)	25,0% (4)	33,3% (6)	26,9% (7)
Nombre total de cycles exploités	16	18	26

Tableau 30: Taux d'embryons collectés par cycle et taux de succès par cycle en fonction de la conservation de la semence pour les juments collectées entre 2014 et 2018.

Dans l'étude de McCue et al., (2010), lorsque de la semence fraîche et réfrigérée a été utilisée, la proportion des collectes aboutissant à la récolte d'au moins un embryon était de 51,9% et 51,6% respectivement, contre seulement 33,3% lorsque les juments étaient inséminées avec de la semence congelée. De même, dans l'étude de PANZANI et al., (2014), l'utilisation de semence fraîche a permis d'obtenir un meilleur taux d'embryons collectés par ovulation comparativement à la semence réfrigérée et congelée, ainsi qu'un meilleur taux d'embryons collectés par cycle comparativement à la semence congelée.

f. Influence des endométrites

Des traitements préventifs de l'endométrite ont été administrés avant l'insémination pour environ un cycle sur cinq (12 cycles sur 66 cycles). Les taux de succès par cycle sont similaires entre les cycles pour lesquels un traitement pré-IA a été mis en place (4 succès sur 12 cycles, soit 33,3% des cycles) et les cycles sans traitements pré-IA (17 cycles sur 54, soit 31,2%) (Fisher exact, $p=1,0$).

De même, le taux de succès des collectes par cycle pour lesquels un traitement en phase post-IA a été administré (17 succès sur 51 cycles, soit 33,3%) n'a pas significativement différé par rapport aux cycles n'ayant pas fait l'objet de traitement après l'IA (4 succès sur 14 cycles, soit 28,6%) (Fisher exact, $p=1,0$). Les taux de succès de collecte d'embryons par cycle des juments ayant présenté des signes d'inflammation légère (juments ayant reçu uniquement des utérokinétiques), modérée (un unique lavage utérin a été réalisé associé à

des utérokinétiques) ou des signes inflammatoires plus sévères (plusieurs lavages utérins en phase post-IA/saillie) sont respectivement de 48,0% (12 succès sur 25 cycles), 25,0% (5 succès sur 20 cycles) et 0,0% (0 succès sur 6 cycles). L'effectif des juments étudiées est faible, ce qui explique sans doute l'absence d'effet significatif (Fisher exact, $p = 0,32$; $p = 1,0$; $p = 0,27$ respectivement).

Par ailleurs, il a été noté sur les suivis qu'une quantité relativement importante de débris tissulaires était présente dans le liquide de lavage utérin lors de 10 collectes sur 8 cycles (12,2% des 81 collectes effectuées) ce qui indique une endométrite post-IA persistante. Aucun embryon n'a pu être obtenu lors de ces collectes. De même, dans l'étude de McCue et al., (2010), le taux d'embryons collectés était également très faible lorsqu'une grande quantité de débris était observée dans le liquide de flush utérin (9,5% contre 50,9% si le liquide ne contenait qu'une faible quantité de débris).

g. Influence d'une collecte supplémentaire

Pour 15 cycles, une seconde collecte a été réalisée le jour même, le lendemain ou deux jours après la première collecte. Un embryon a pu être collecté pour 3 d'entre elles, soit pour 20% de ces collectes : 2 embryons ont pu être collectés le même jour que la première collecte à quelques heures d'intervalles, soit à J₈ et J₉ et 1 embryon a été collecté le lendemain, à J₁₀.

Dans notre étude, une taille d'embryons particulièrement petite par rapport au stade a été noté pour deux des trois embryons obtenus à la seconde collecte. Dans l'espèce équine, le transit de l'embryon dans la trompe utérine est dépendant du développement embryonnaire, notamment par sa sécrétion de prostaglandine E₂ (McKinnon et al., 2011). Ainsi, si le développement embryonnaire est anormal ou retardé, l'embryon peut arriver dans la cavité utérine de manière décalée, jusqu'à J₈. Plusieurs facteurs sont connus pour induire un retard de développement embryonnaire, comme l'âge des juments de plus de 15 ans et l'insémination post-ovulation (Collectif, 2019). Pour ces deux juments, au moins une de ces deux conditions était présente et pourraient expliquer le délai d'arrivée de l'embryon dans l'utérus.

Selon McCue et Squires (2015), l'échec de la collecte d'un embryon présent dans l'utérus n'est pas un phénomène rare. Si la lutéolyse n'est pas induite médicalement après une collecte infructueuse, 10 à 30% des juments seraient gravides. Dans l'étude de (McCue et al., 2003), lorsqu'aucun embryon n'a pu être collecté lors de la série initiale de lavages avec 4 litres de liquide, un lavage supplémentaire a été réalisé immédiatement après la première collecte, consistant à la perfusion de 2 litres du milieu de collecte dans l'utérus. Le fluide était laissé pendant environ 3 minutes avant son évacuation et 20 UI d'ocytocine était administré par voie intraveineuse pour stimuler les contractions utérines. Cette collecte supplémentaire a permis d'améliorer le taux de collecte d'environ 15% (de 31,2% à 46,0%). Dans une autre étude du même auteur et sur un total de 492 collectes, ce lavage supplémentaire a été réalisé le lendemain pour 31 juments lorsque la collecte initiale, entre J₆ et J₈, s'est révélée infructueuse. Un embryon a pu être ainsi récupéré pour près de 10% de ces collectes. La cause de l'échec de la collecte initiale reste inconnue et l'auteur ignore si le succès d'un deuxième

essai est dû à l'administration d'ocytocine, au fait de laisser le liquide de collecte plusieurs minutes dans l'utérus ou simplement à la réalisation d'un lavage supplémentaire.

En conclusion, l'origine de l'échec d'une première collecte pour les trois juments de notre étude reste incertaine mais la réalisation de lavages supplémentaires permet d'augmenter le taux de collecte et est conseillée après une collecte infructueuse par certains auteurs tels que McCue et al., (2003).

En somme, la collecte embryonnaire chez la jument offre un faible rendement comparativement à d'autres espèces comme l'espèce bovine chez laquelle, la technique est plus répandue et nettement plus productive grâce aux traitements de superovulation mis en place. De nombreux protocoles de fécondation *in vitro* (FIV) ont été élaborés afin de produire plusieurs embryons par cycle pour contourner l'inefficacité des traitements de superovulation chez la jument. La FIV permet également d'obtenir des produits de juments et/ou d'étalons subfertiles en palliant l'altération du transport et de la survie de la semence, de l'ovocyte et des embryons dans les voies génitales femelles. Malheureusement, les taux obtenus avec la plupart des techniques mises au point n'ont pas dépassé les 37% d'ovocytes fécondés et se sont révélées peu reproductibles (Collectif, 2019). Actuellement, la principale difficulté est une mauvaise capacitation *in vitro* des spermatozoïdes équiens, les rendant inaptes à pénétrer l'ovocyte. L'ICSI (Intra-Cytoplasmic Sperm Injection) est une alternative pratiquée récemment dans certains centres de reproduction français. Cette technique consiste à ponctionner les ovocytes immatures par voie trans-vaginale. Après une période de maturation *in vitro*, un spermatozoïde est directement injecté dans un ovocyte en métaphase II. L'ICSI permet de court-circuiter l'étape de capacitation *in vitro* des spermatozoïdes mais cette technique est aujourd'hui très onéreuse, et nécessite une certaine expertise. En outre, son rendement est relativement faible : pour une séance de ponction, le nombre moyen de blastocystes obtenus est de 1 et le taux de gestation à 90 jours après transfert dans une jument receveuse s'élève à 60% (Caillaud, Normandin, 2018). De plus, il n'existe aucun laboratoire français spécialisé pour la maturation *in vitro* des ovocytes et la fécondation par ICSI, rendant obligatoire le transport des ovocytes vers les laboratoires italiens. Cette alternative est donc réservée aux juments avec un potentiel génétique important.

CONCLUSION

Le premier objectif de cette thèse était d'évaluer les performances de reproduction des juments et l'effet de différents facteurs sur la fertilité des juments, dans le cadre d'un centre de reproduction pratiquant l'insémination artificielle et la collecte d'embryons. Cette étude a analysé, sur la période de 2014 à 2018, les suivis gynécologiques de 735 mises à la reproduction par monte naturelle ou IA, correspondant à 1175 cycles ainsi que 67 cycles sur 29 juments présentées pour la collecte d'embryons.

Les recommandations générales relatives à la gestion de la mise à la reproduction et à la prise en charge des pathologies utérines ont été respectées dans notre étude. Le taux de gestation par cycle s'est élevé à 54,6% et le taux de poulain né par jument mise à la reproduction était de 67,5%, ce qui est similaire au taux de 67,2% obtenu en France durant ces cinq années.

La fertilité maximale a été obtenue avec de la semence fraîche. Le statut physiologique et l'âge des juments n'a pas eu d'effet significatif sur les performances de reproduction dans notre étude, même si les juments maiden et les juments de moins de 15 ans ont présenté les meilleurs taux de gestation.

Les endométrites post-insémination ont représenté la pathologie utérine la plus fréquente, ce qui a nécessité la mise en place d'un traitement en phase post-insémination pour environ $\frac{3}{4}$ des cycles exploités. Pour réduire le risque d'inflammation utérine persistante et la mortalité embryonnaire, la semence fraîche en insémination unique a été préférentiellement utilisée sur des juments à risque, associée à l'administration d'utérokénétiques et/ou de lavages utérins avant ou après l'insémination.

Une difficulté majeure du suivi de reproduction de certaines juments est l'accès à un nombre réduit de paillettes, exigeant la mise en place d'un suivi très rigoureux et coûteux pour le propriétaire, alors que la qualité de la semence ne peut pas être maîtrisée. Le rôle du vétérinaire est alors essentiel pour conseiller les propriétaires et réserver ces paillettes à des juments fertiles pour accroître les chances de réussite.

Notre étude sur la production d'embryons a été réalisée sur un effectif limité, l'interprétation des résultats est donc à prendre avec précautions.

Le taux d'embryons collectés par cycle a été de 0,39, avec un taux de gestation après transfert dans une femelle porteuse de 26,4 %.

Une collecte supplémentaire a permis de récolter un embryon dans un cas sur cinq, ce qui montre l'intérêt de réitérer systématiquement le lavage lors de collecte infructueuse. En effet les lavages sont peu coûteux par rapport à la valeur de l'embryon collecté, même si cette opération nécessite du temps et du personnel expérimenté.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussigné(e), Nicole HAGEN, Enseignant-chercheur, de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse, directrice de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **Lucie GODDERIS** intitulée « **Suivis gynécologiques de juments dans le cadre d'une clientèle vétérinaire : analyse des performances de reproduction** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

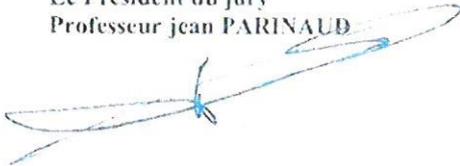
Fait à Toulouse, le 22/09/2020
Enseignant-chercheur de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeure Nicole HAGEN



Vu :
Le Directeur de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse
M. Pierre SANS



Vu :
Le Président du jury
Professeur Jean PARINAUD



Vu et autorisation de l'impression :
Le Président de l'Université Paul Sabatier
M. Jean-Marc BROTO



Mme Lucie GODDERIS
a été admise sur concours en : 2015
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 09/07/2019
a validé son année d'approfondissement le : 16/07/2020
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider



BIBLIOGRAPHIE

ALLEN, W. R., 2001. Luteal Deficiency and Embryo Mortality in the Mare. In : *Reproduction in Domestic Animals*. 2001. Vol. 36, n° 3-4, p. 121-131. DOI 10.1046/j.1439-0531.2001.00312.x.

ALLEN, W. R., BROWN, L., WRIGHT, M. et WILSHER, S., 2007. Reproductive efficiency of Flatrace and National Hunt Thoroughbred mares and stallions in England. In : *Equine Veterinary Journal*. septembre 2007. Vol. 39, n° 5, p. 438-445. DOI 10.2746/042516407x1737581.

AUTARD DE BRAGARD, Elsa, 2016. *Méthodes et résultats des centres de transfert à but commerciaux d'embryons français chez la jument (étude sur les saison 2014 et 2015)*. Nantes : Faculté de Médecine, Nantes. Oniris: Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de L'alimentation Nantes Atlantique.

BARRIER-BATTUT, Isabelle, 2008. Comment choisir le moment de l'insémination chez la jument. In : *Nouveau praticien vétérinaire, Equine*. 2008. Vol. 5, n° 18.

BARRIER-BATTUT, Isabelle, 2010. Comment gérer les doses d'insémination. In : *Le nouveau praticien vétérinaire*. 2010. Vol. 6, n° 22. p 19-21

BETSCH, Jean-Marc, BRUYAS, Jean-François, ESTRADE, M. et WAGNER, I., 2004. *Résultats d'une étude prospective de terrain sur les ovulation multiples et la gémellité chez la jument (1999-2002)*. 2004. S.I. : Les Haras Nationaux.

BLANCHARD, Terry L. et MACPHERSON, Margo L., 2011. Breeding Mares on Foal Heat. In : *Equine Reproduction*. 2nd Edition. S.I. : Wiley-Blackwell. ISBN 978-0-8138-1971-6.

BOSH, K. A., POWELL, D., SHELTON, B. et ZENT, W., 2009. Reproductive performance measures among Thoroughbred mares in central Kentucky, during the 2004 mating season. In : *Equine Veterinary Journal*. 2009. Vol. 41, n° 9, p. 883-888. DOI 10.2746/042516409X456068.

BRINSKO, Steven P., VARNER, Dickson D., LOVE, Charles C., HARTMAN, David L., BLANCHARD, Terry L., SCHUMACHER, James et HINRICHS, Katrin, 2011. *Manual of Equine Reproduction*. 3ème édition. Etats-Unis : Mosby. ISBN 978-0-323-06482-8.

BRUYAS, Jean-François, 2003. Approche étiologique des anœstrus non saisonniers de la jument - Pratique Vétérinaire Equine n° 139 du 01/07/2003. In : *Pratique Vétérinaire Equine* [en ligne]. 2003. n° 139. [Consulté le 10 juillet 2020]. Disponible à l'adresse : <https://www.lepointveterinaire.fr/publications/pratique-veterinaire-equine/article/n-139/approche-etilogique-des-anoestrus-non-saisonniers-de-la-jument.html>.

BRUYAS, Jean-François, 2005. Endométrites post-saillie ou post-insémination : approches thérapeutiques et préventives. In : *Pratique Vétérinaire équine*. 2005. n° 147.

BRUYAS, Jean-François, 2008. Comment induire l'ovulation chez la jument. In : *Nouveau praticien vétérinaire, Equine*. 2008. Vol. 5, n° 18, p. 40-46.

- BRUYAS, Jean-François, 2017. Maîtrise hormonale de l'oestrus chez la jument. In : *Nouveau praticien vétérinaire, Equine*. novembre 2017. Vol. 12, n° 44. p 6-12
- BRUYAS, Jean-François et AUTARD DE BRAGARD, Elsa, 2018. Retrospective survey on equine embryo transfer activities in France in 2014 and 2015. In : *Proceeding of 34th Scientific Meeting of AETE*. 2018. p. 83
- BRUYAS, Jean-François, PUYT, Jean-Dominique, HERMANGE, Tanguy, BETSCH, Jean-Marc, MAILLARD, Karine et DESTRUMELLE, Sandrine, 2013. Thérapeutique anti-infectieuse raisonnée des métrites et endométrites de la jument. In : *Pratique Vétérinaire équine*. 2013. n° 177.
- CAILLAUD, Maud et NORMANDIN, Laure, 2018. *L'ICSI chez la jument : pourquoi ? comment ? où en est-on en France ?* [en ligne]. 2018. S.l. : Ifce. Disponible à l'adresse : https://mediatheque.ifce.fr/doc_num.php?explnum_id=22337.
- CASENAVE, Pauline, 2017. *Analyse des performances de reproduction des juments suivies dans le cadre d'une clientèle vétérinaire*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire. S.l. : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT.
- CHAVOLIN, Jean-Marc, 2005. Intérêts des inséminations sur ovulation constatée ou en haut de corne. In : *Pratique Vétérinaire Equine* [en ligne]. 2005. n° 147. [Consulté le 25 juin 2020]. Disponible à l'adresse : <https://www.lepointveterinaire.fr/publications/pratique-veterinaire-equine/article/n-147/interets-des-inseminations-sur-ovulation-constatee-ou-en-haut-de-corne.html>.
- CHOPPIN DE JANVRY, Timothée Choppin de, 2018. *Comment palier l'arrêt de fabrication du suprefact pour induire l'ovulation chez la jument ?* [en ligne]. 2018. S.l. : s.n. [Consulté le 20 décembre 2019]. Disponible à l'adresse : https://mediatheque.ifce.fr/index.php?lvl=notice_display&id=57651.
- COLLECTIF, 2009. *Insémination artificielle équine. Guide pratique*. 4ème édition. France : IFCE - les Haras nationaux. ISBN 2-915250-15-4. Chapitre I
- COLLECTIF, 2014. *Insémination artificielle équine*. 5ème édition. France : Les Haras Nationaux. ISBN 978-2-915250-37-4.
- COLLECTIF, 2019. *Gestion de la jument: reproduction, gestation, poulinage*. 8ème édition. S.l. : IFCE - les Haras nationaux. ISBN 978-2-915250-72-5.
- DAELS, Peter, 2006. Proceedings of the Annual Resort Symposium of the American Association of Equine Practitioners AAEP. In : . S.l. : s.n. 2006.
- DAVIES MOREL, Mina, 2008. *Equine Reproductive Physiology, Breeding and Stud Management*. 3ème édition. Royaume-Uni : CAB International. ISBN 978-1-84593-450-7.
- DOLIGEZ, Pauline et MARGAT, Anne, 2017. La monte en main. In : *Les Haras nationaux* [en ligne]. 2017. [Consulté le 27 novembre 2019]. Disponible à l'adresse : <https://equipedia.ifce.fr/elevage-et-entretien/elevage/reproduction/monte-en-main.html>.

DORDAS-PERPINYA, Marta et BRUYAS, Jean-François, 2019. Practical aspects of equine embryo transfer. In : *Translational Research in Veterinary Science*. 12 septembre 2019. Vol. 2, p. 23. DOI 10.12775/TRVS.2019.002.

DORNIER, Xavier, 2019. Combien d'équidés en France ? In : *Ifce-Observatoire économique et social du cheval* [en ligne]. 2019. [Consulté le 26 octobre 2019]. Disponible à l'adresse : https://www.ifce.fr/wp-content/uploads/2019/07/IFCE_OESC_Note_thematique-Effectifs-equides_juillet2019.pdf.

FRANCE GALOP, 2018. *Règlement du Stud-book français du cheval de Pur-sang* [en ligne]. 2018. S.l. : Ifce. [Consulté le 28 novembre 2019]. Disponible à l'adresse : http://www.francegalop.com/sites/default/files/rsb_pur_sang_2018.pdf.

FRANCE GALOP et ASSOCIATION DES ELEVEURS ET PROPRIÉTAIRES DE CHEVAUX AQPS, 2018. Règlement du Stud-Book AQPS. In : *AQPS* [en ligne]. 1 mai 2018. [Consulté le 9 décembre 2019]. Disponible à l'adresse : <https://www.aqps.fr/reglement-du-stud-book-aqps/>.

GINTHER, O. J., 1988. Using a twinning tree for designing equine twin-prevention programs. In : *Journal of Equine Veterinary Science*. 1 mars 1988. Vol. 8, n° 2, p. 101-107. DOI 10.1016/S0737-0806(88)80027-3.

GINTHER, O. J. et AL-MAMUN, Md., 2009. Increased Frequency of Double Ovulations after Induction of Luteolysis with Exogenous Prostaglandin F_{2α}. In : *Journal of Equine Veterinary Science*. 1 juillet 2009. Vol. 29, n° 7, p. 581-583. DOI 10.1016/j.jevs.2009.05.014.

GINTHER, O. J., GASTAL, E. L., GASTAL, M. O. et BEG, M. A., 2007. Incidence, Endocrinology, Vascularity, and Morphology of Hemorrhagic Anovulatory Follicles in Mares. In : *Journal of Equine Veterinary Science*. 1 mars 2007. Vol. 27, n° 3, p. 130-139. DOI 10.1016/j.jevs.2007.01.009.

GUILLAUME, Daniel, SALAZAR-ORTIZ, Juan, MENASSOL, Jean-Bapriste, MALPAUX, Benoît et CHEMINEAU, Philippe, 2010. Photopériode, métabolisme et reproduction : intérêt du modèle équin. In : *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France*. 2010. n° 1, p. 5. DOI 10.4267/2042/48022.

IRVINE, C. H., SUTTON, P., TURNER, J. E. et MANNICK, P. E., 1990. Changes in plasma progesterone concentrations from days 17 to 42 of gestation in mares maintaining or losing pregnancy. In : *Equine Veterinary Journal*. mars 1990. Vol. 22, n° 2, p. 104-106. DOI 10.1111/j.2042-3306.1990.tb04219.x.

LEGIFRANCE, [sans date]. *Arrêté du 21 janvier 2014 relatif aux certificats d'aptitude aux fonctions d'inséminateur et de chef de centre d'insémination artificielle dans les espèces équine et asine* [en ligne]. S.l. : s.n. [Consulté le 28 novembre 2019]. Disponible à l'adresse : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=LEGITEXT000028535836&dateTexte=20150811>.

LETROT, 2019. Réglementation du Stud-book du trotteur français-Monte 2019. In : [en ligne]. 2019. [Consulté le 4 décembre 2019]. Disponible à l'adresse : <http://pro.letrot.com/siteletrotws/publication?type=STUDBOOK>.

LINDEBERG, Heli, KOSKINEN, E., HUHTINEN, Mirja, REILAS, Tiina, PERTTULA, H. et KATILA, Terttu, 2002. Influence of PG administration and follicle status on the number of conceptuses. In : *Theriogenology*. 1 août 2002. Vol. 58, p. 571-574. DOI 10.1016/S0093-691X(02)00884-1.

LOIGEROT, Suzy, 2017. *Pratique de l'insémination artificielle chez la jument en France*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire. S.l. : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT.

LOY, R. G., 1980. Characteristics of postpartum reproduction in mares. In : *The Veterinary clinics of North America : large animal practice (USA)* [en ligne]. 1980. [Consulté le 6 juillet 2020]. Disponible à l'adresse : <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US8742799>.

MARGAT, Anne, MAGISTRINI, Michèle, CUIR, Frédérique, MEA, Florence, CAILLAUD, Maud et BARRIER-BATTUT, Isabelle, 2018. L'utilisation du milieu INRA 96. In : *Les Haras nationaux* [en ligne]. 2018. [Consulté le 3 décembre 2019]. Disponible à l'adresse : <https://equipedia.ifce.fr/elevage-et-entretien/elevage/reproduction/le-milieu-inra-96.html>.

MARGAT, Anne et DOLIGEZ, Pauline, 2017. L'insémination artificielle équine. In : *Les Haras nationaux* [en ligne]. 2017. [Consulté le 26 novembre 2019]. Disponible à l'adresse : <https://equipedia.ifce.fr/elevage-et-entretien/elevage/reproduction/l-ia-equine.html>.

MCCUE, P., HUDSON, J. J., BRUEMMER, J. et SQUIRES, E., 2004. Efficacy of hCG at inducing ovulation: a new look at an old issue. In : *Proceedings of the 50th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, Denver, Colorado, USA, 4-8 December, 2004*. 2004. p. 510-513.

MCCUE, P. M., FERRIS, R. A., LINDHOLM, A. R. et DELUCA, C. A., 2010. Embryo recovery procedures and collection success: results of 492 embryo-flush attempts. In : *Proceedings of the 56th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, Baltimore, Maryland, USA, 4-8 December 2010*. 2010. p. 318-321.

MCCUE, P., NISWENDER, Kory et MACON, Karly, 2003. Modification of the Flush Procedure to Enhance Embryo Recovery. In : *Journal of Equine Veterinary Science - J EQUINE VET SCI*. 1 août 2003. Vol. 23, p. 336-337. DOI 10.1016/S0737-0806(03)01019-0.

MCCUE, Patrick et SQUIRES, Edward, 2015. *Equine Embryo Transfer*. 1ère Edition. Etats-Unis : Teton NewMedia. ISBN 978-1-4987-3476-9.

MCKINNON, Angus, SQUIRES, Edward, VAALA, Wendy et DISCKSON, Varner, 2011. *Equine Reproduction*. 2nd Edition. S.l. : Wiley-Blackwell. ISBN 978-0-8138-1971-6.

METCALF, Elizabeth S. et THOMPSON, Micah M., 2010. The Effect of PGF2 α -Induction of Estrus on Pregnancy Rates in Mares. In : *Journal of Equine Veterinary Science*. 1 avril 2010. Vol. 30, n° 4, p. 196-199. DOI 10.1016/j.jevs.2010.02.006.

MORRIS, L. H. A. et ALLEN, W. R., 2002. Reproductive efficiency of intensively managed Thoroughbred mares in Newmarket. In : *Equine Veterinary Journal*. janvier 2002. Vol. 34, n° 1, p. 51-60. DOI 10.2746/042516402776181222.

- MOURRIER, Eve, 2010. Le moment de l'insémination chez la jument. In : *Le nouveau praticien vétérinaire*. 2010. Vol. 22, n° 6, p. 6-12.
- NIELSEN, Jesper, BOCK, T. et ERSBOLL, Annette, 2008. Factors associated with fertility in horses in a Danish equine practice after artificial insemination with frozen-thawed semen. In : *Animal Reproduction Science - ANIM REPROD SCI*. 1 septembre 2008. Vol. 107, p. 336-337. DOI 10.1016/j.anireprosci.2008.05.113.
- PALMER, Eric et CHAVATTE-PALMER, Pascale, 1998. Induction of ovulation in the mare. In : *Equine Veterinary Education*. 1998. Vol. 10, n° 1, p. 26-30. DOI 10.1111/j.2042-3292.1998.tb00843.x.
- PANZANI, Duccio, ROTA, Alessandra, MARMORINI, Paola, VANNOZZI, Iacopo et CAMILLO, Francesco, 2014. Retrospective study of factors affecting multiple ovulations, embryo recovery, quality, and diameter in a commercial equine embryo transfer program. In : *Theriogenology*. 1 octobre 2014. Vol. 82, n° 6, p. 807-814. DOI 10.1016/j.theriogenology.2014.06.020.
- PAUL-JEANJEAN, Sophie, 2008. Les follicules hémorragiques chez la jument. In : *Nouveau praticien vétérinaire, Equine*. 2008. Vol. 5, n° 18, p. p19-22.
- PONTHIER, Jérôme, VAN DEN BERGHE, Femke, PARRILLA-HERNANDEZ, Sonia, HANZEN, Christian et DELEUZE, Stefan, 2014. Congélation du sperme dans l'espèce équine: état des lieux et perspectives. In : *Annales de Médecine Vétérinaire*. 2014. p. 56-71.
- SIDDIQUI, M. a. R., GASTAL, E. L., GASTAL, M. O., BEG, M. A. et GINTHER, O. J., 2009. Effect of hCG in the Presence of hCG Antibodies on the Follicle, Hormone Concentrations, and Oocyte in Mares. In : *Reproduction in Domestic Animals*. 2009. Vol. 44, n° 3, p. 474-479. DOI 10.1111/j.1439-0531.2008.01133.x.
- STATS & CARTES - HARAS-NATIONAUX, 2018. Stats & cartes - Haras-nationaux. In : [en ligne]. 2018. [Consulté le 29 novembre 2019]. Disponible à l'adresse : https://statscheval.ifce.fr/core/zone_menus.php?zone=229&r=1316.
- VAGNER, Ingrid, 2008. Comment suivre et gérer les ovulations multiples chez la jument. In : *Le nouveau praticien vétérinaire*. 2008. Vol. 5, n° 18, p. p 23-27.
- VAGNER, Ingrid, 2017. Comment diagnostiquer, suivre et gérer des gestations géminaires chez la jument. In : *Le nouveau praticien vétérinaire*. 2017. Vol. 12, n° 44. p 24-28
- VIDAMENT, Marianne, FERRY, Bénédicte, BARRIER-BATTUT, Isabelle et MARGAT, Anne, 2019. Sperme réfrigéré 24h avec envoi de doses. In : *Les Haras nationaux* [en ligne]. 2019. [Consulté le 3 décembre 2019]. Disponible à l'adresse : <https://equipedia.ifce.fr/elevage-et-entretien/elevage/reproduction/sperme-refrigere-24h-avec-envoi-de-doses.html>.
- VIDAMENT, Marianne, FERRY, Bénédicte, MARGAT, Anne et MOURET-LAFAGE, Alain, 2017. Gestion des juments en IAC. In : *Les Haras nationaux* [en ligne]. 2017. [Consulté le 8 décembre 2019]. Disponible à l'adresse : <https://equipedia.ifce.fr/elevage-et-entretien/elevage/jument/gestion-des-juments-en-iac.html>.

VIGNAUD, Laurent et MARNAY, Laetitia, 2017. IAC petites doses et IA profonde. In : *Les Haras nationaux* [en ligne]. 2017. [Consulté le 8 décembre 2019]. Disponible à l'adresse : <https://equipedia.ifce.fr/elevage-et-entretien/elevage/reproduction/iac-petites-doses-et-ia-profonde.html>.

VOGELSANG, S. G., 1989. Influence of donor parity and age on the success of commercial equine embryo transfer. In : *Equine Veterinary Journal*. 1989. Vol. 21, n° S8, p. 71-72. DOI 10.1111/j.2042-3306.1989.tb04679.x.

WILSON, Colleen G., DOWNIE, Craig R, HUGHES, John P. et ROSER, Janet F., 1990. Effects of repeated hCG injections on reproductive efficiency in mares. In : *Journal of Equine Veterinary Science*. 7 août 1990. Vol. 10, n° 4, p. 301-308. DOI 10.1016/S0737-0806(06)80015-8.

Toulouse, 2020

NOM, PRENOM : GODDERIS LUCIE

TITRE : SUIVIS GYNECOLOGIQUES DE JUMENTS DANS LE CADRE D'UNE CLIENTELE VETERINAIRE : ANALYSE DES PERFORMANCES DE REPRODUCTION

RESUME : L'objectif de cette étude était de décrire la gestion de la reproduction et d'étudier les facteurs pouvant influencer les performances de reproduction chez la jument dans le cadre de la saillie naturelle, l'insémination artificielle et la collecte d'embryons. Pour cela, 769 cycles (dont 35 consacrés à la collecte d'embryons) de 494 juments suivis au Haras du petit Hautier (Normandie) entre 2014 et 2018, ont été analysés. Pour la reproduction classique, le taux de gestation par cycle s'est élevé à 54,7% et l'exploitation de 1,5 cycles en moyenne a permis d'obtenir une gestation. Le taux de poulain né par jument mise à la reproduction est de 67,5% et le taux d'avortement embryonnaire et fœtal de 20,5%. Dans notre étude, la gestion des endométrites post-insémination a représenté un enjeu majeur et l'administration d'utérokinétiques et/ou de lavages utérins à titre préventif avant l'insémination, ou curatif après l'insémination s'est avérée efficace pour préserver la fertilité des juments. Les collectes embryonnaires ont concerné un effectif réduit de juments et le taux d'embryons collectés par cycle a été de 0,39. Le taux d'embryons collectés a été augmenté lors d'ovulations multiples comparativement à une ovulation simple. Un lavage supplémentaire après une collecte infructueuse permet d'améliorer le taux de collecte.

MOTS-CLES : Elevage, reproduction, jument, collecte d'embryon, fertilité.

TITLE : GYNECOLOGICAL MONITORING OF MARES IN THE CONTEXT OF A VETERINARY CLIENTELE: ANALYSIS OF REPRODUCTIVE PERFORMANCE

SUMMARY : The objective of this study was to describe the management of breeding season and to evaluate the impact of factors on the reproductive performance of the mare, for natural mating, artificial insemination, or embryo collection. For this purpose, 769 cycles monitored (including 35 for embryos collection) on 494 mares, at the Haras du petit Hautier (Normandie) between 2014 and 2018, were analysed. For conventional reproduction, the pregnancy rate per cycle was 54.7% and on average 1.5 cycle was necessary to achieve gestation. The rate of foals born per mare was 67.5% and the rate of embryonic and fetal death was 20.5%. In our study, the management of post-insemination endometritis represented a major issue and the administration of uterokinetics and/or uterine lavage as a preventive measure before insemination, or in curative way after insemination appeared to be effective for preserving mare fertility. Embryo collections were performed on a limited number of mare and the embryo collection rate per cycle was 0,39. The rate of embryos collected per cycle was enhanced after multiple ovulations compared to single ovulation. Additional flush after unsuccessful collection increased the rate of embryo collected.

KEY WORDS : Breeding, reproduction, mare, embryo collection, fertility.