

CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON

Année 2023 - Thèse n° 072

**CONSEQUENCES DES BIOTECHNOLOGIES DE LA
REPRODUCTION DANS L'ESPECE EQUINE**

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 20 octobre 2023
Pour obtenir le titre de Docteur Vétérinaire

Par

VACHEROT Camille

CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2023 - Thèse n° 072

**CONSEQUENCES DES BIOTECHNOLOGIES DE LA
REPRODUCTION DANS L'ESPECE EQUINE**

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 20 octobre 2023
Pour obtenir le titre de Docteur Vétérinaire

Par

VACHEROT Camille

Liste des enseignants

Pr	ABITBOL	Marie	Professeur
Dr	ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	Maître de conférences
Pr	ARCANGIOLI	Marie-Anne	Professeur
Dr	AYRAL	Florence	Maître de conférences
Pr	BECKER	Claire	Professeur
Dr	BELLUCO	Sara	Maître de conférences
Dr	BENAMOU-SMITH	Agnès	Maître de conférences
Pr	BENOIT	Etienne	Professeur
Pr	BERNY	Philippe	Professeur
Pr	BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	Professeur
Dr	BOURGOIN	Gilles	Maître de conférences
Dr	BRUTO	Maxime	Maître de conférences
Dr	BRUYERE	Pierre	Maître de conférences
Pr	BUFF	Samuel	Professeur
Pr	BURONFOSSE	Thierry	Professeur
Dr	CACHON	Thibaut	Maître de conférences
Pr	CADORÉ	Jean-Luc	Professeur
Pr	CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	Professeur
Pr	CHABANNE	Luc	Professeur
Pr	CHALVET-MONFRAY	Karine	Professeur
Dr	CHANOIT	Guillaume	Professeur
Dr	CHETOT	Thomas	Maître de conférences
Pr	DE BOYER DES ROCHES	Alice	Professeur
Pr	DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	Professeur
Pr	DJELOUADJI	Zorée	Professeur
Dr	ESCRIOU	Catherine	Maître de conférences
Dr	FRIKHA	Mohamed-Ridha	Maître de conférences
Dr	GALIA	Wessam	Maître de conférences
Pr	GILOT-FROMONT	Emmanuelle	Professeur
Dr	GONTHIER	Alain	Maître de conférences
Dr	GREZEL	Delphine	Maître de conférences
Dr	HUGONNARD	Marine	Maître de conférences
Dr	JOSSON-SCHRAMME	Anne	Chargé d'enseignement contractuel
Pr	JUNOT	Stéphane	Professeur
Pr	KODJO	Angeli	Professeur
Dr	KRAFFT	Emilie	Maître de conférences
Dr	LAABERKI	Maria-Halima	Maître de conférences
Dr	LAMBERT	Véronique	Maître de conférences
Pr	LE GRAND	Dominique	Professeur
Pr	LEBLOND	Agnès	Professeur
Dr	LEDOUX	Dorothée	Maître de conférences
Dr	LEFEBVRE	Sébastien	Maître de conférences
Dr	LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	Maître de conférences
Dr	LEGROS	Vincent	Maître de conférences
Pr	LEPAGE	Olivier	Professeur
Pr	LOUZIER	Vanessa	Professeur
Dr	LURIER	Thibaut	Maître de conférences
Dr	MAGNIN	Mathieu	Maître de conférences
Pr	MARCHAL	Thierry	Professeur
Dr	MOSCA	Marion	Maître de conférences
Pr	MOUNIER	Luc	Professeur
Dr	PEROZ	Carole	Maître de conférences
Pr	PIN	Didier	Professeur
Pr	PONCE	Frédérique	Professeur
Pr	PORTIER	Karine	Professeur

Pr	POUZOT-NEVORET	Céline	Professeur
Pr	PROUILLAC	Caroline	Professeur
Pr	REMY	Denise	Professeur
Dr	RENE MARTELLET	Magalie	Maître de conférences
Pr	ROGER	Thierry	Professeur
Dr	SAWAYA	Serge	Maître de conférences
Pr	SCHRAMME	Michael	Professeur
Pr	SERGENTET	Delphine	Professeur
Dr	TORTEREAU	Antonin	Maître de conférences
Dr	VICTONI	Tatiana	Maître de conférences
Dr	VIRIEUX-WATRELOT	Dorothee	Chargé d'enseignement contractuel
Pr	ZENNER	Lionel	Professeur

Remerciements au jury

À Madame le Professeur Muriel DORET-DION

*Professeur à l'Université Claude Bernard Lyon 1,
Praticien hospitalier en gynécologie obstétrique aux Hospices Civils de Lyon*
Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de ma thèse
Mes hommages respectueux

À Madame le Docteur Anne-Cécile LEFRANC-POHL

*Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, VetAgro Sup,
Unité pédagogie Equine*
Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la direction de ma thèse
Pour vos conseils inspirés et votre aide précieuse
Mes remerciements les plus sincères et chaleureux

À Monsieur le Professeur Jean-Luc CADORÉ

*Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, VetAgro Sup
Unité pédagogique Pathologie médicale des animaux de compagnie*
Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être second assesseur de ma thèse
Mes sincères remerciements

TABLE DES MATIERES

Table des figures	9
Table des tableaux.....	11
Liste des abréviations.....	13
Introduction.....	17
I. Anatomie et physiologie de la reproduction dans l'espèce équine.....	19
A. <i>Anatomie de l'appareil reproducteur femelle.....</i>	<i>19</i>
1. Le sinus uro-génital.....	20
2. Le vestibule vulvaire.....	21
3. Les voies génitales (= section tubulaire).....	22
2. Les glandes génitales (= section glandulaire).....	27
B. <i>Physiologie et endocrinologie des cycles sexuels chez les juments.....</i>	<i>30</i>
1. Cycles sexuels chez la jument.....	30
2. Régulation hormonale de la fonction de reproduction.....	34
3. Maîtrise du cycle sexuel de la jument par le vétérinaire.....	40
C. <i>Physiologie et endocrinologie de la gestation.....</i>	<i>42</i>
1. Fécondation et embryogénèse.....	42
2. Le placenta des équidés : sa structure et son rôle.....	46
3. Endocrinologie de la gestation.....	49
II. Utilisation des biotechnologies de la reproduction dans l'espèce équine : intérêts et indications.....	51
A. <i>Biotechnologies de première et deuxième génération.....</i>	<i>52</i>
1) Insémination artificielle.....	52
2. Transfert embryonnaire.....	57
B. <i>Production in vitro d'embryons.....</i>	<i>61</i>
1. Ponction d'ovocyte (OPU).....	62
2. Cryoconservation des ovocytes.....	65
3. FIV-ICSI.....	67
4. Cryoconservation des embryons.....	69
5. Test génétique pré-implantatoire des embryons.....	70
C. <i>Transfert d'ovocytes.....</i>	<i>74</i>
1. Transfert d'ovocytes intra-salpingien.....	74
2. Gamete intrafallopian transfert (GIFT).....	76
3. Transfert d'ovocyte intra-folliculaire (TOIF).....	76
D. <i>Transfert nucléaire (= clonage).....</i>	<i>77</i>
1. Procédure.....	78
2. Résultats.....	80
III. Impact des biotechnologies de la reproduction sur la jument, le poulain et l'étalon.....	82
A. <i>Impacts sur la jument.....</i>	<i>82</i>
1. Atteinte de l'état de santé de la jument.....	82
2. Impact sur la fertilité des juments.....	88
3. Impact sur le bien-être des juments.....	95
B. <i>Impact sur les étalons.....</i>	<i>97</i>
1. Impact sur la santé des étalons.....	97
2. Impact sur le bien-être des étalons.....	98
C. <i>Impact des biotechnologies de la reproduction sur les poulains.....</i>	<i>101</i>

1.	Impact des biotechnologies de la reproduction sur la santé des poulains	102
2.	Impact des biotechnologies de la reproduction sur le devenir du poulain	118
IV.	Conséquences des biotechnologies de la reproduction dans L'élevage des équidés	122
A.	<i>Impact sur la variabilité et la conservation génétique.....</i>	<i>122</i>
1.	Conservation génétique des races en voie de disparition	122
2.	Modification de la diversité génétique au sein des populations et conséquences sur la santé et les performances des chevaux	125
B.	<i>Impacts sanitaires des biotechnologies de la reproduction.....</i>	<i>131</i>
1.	Mise en évidence des risques sanitaires associés aux biotechnologies de la reproduction	131
2.	Réglementation permettant de contrôler actuellement les risques sanitaires	135
C.	<i>Questionnement éthique sur les biotechnologies de la reproduction et leur place dans la filière équine</i> <i>140</i>	
1.	Problématiques éthiques associées au transfert nucléaire	140
2.	Problématiques éthiques associées au bien-être animal.....	143
	Conclusion	147

TABLE DES FIGURES

FIGURE 1: ANATOMIE DE L'APPAREIL REPRODUCTEUR DE LA JUMENT, VUE VENTRALE SOURCE : © INSTITUT FRANÇAIS DU CHEVAL ET DE L'EQUITATION (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (2)	20
FIGURE 2: COMMISSURE VENTRALE DE LA VULVE, METTANT EN EVIDENCE LE CLITORIS SOURCE : P. McCUE, 2019 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (4).....	21
FIGURE 3: SCHEMA DE LA MORPHOLOGIE DU VAGIN ET DU VESTIBULE VAGINAL (MODIFIE D'APRES BARONE,1978) SOURCE : BOULOCHER, 2020 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'AUTEUR) (5).....	22
FIGURE 4: CONFORMATION INTERIEURE DE L'UTERUS DE LA JUMENT, VUE DORSALE (MODIFIE D'APRES BARONE 1978) SOURCE : BOULOCHER, 2020 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'AUTEUR) (5)	25
FIGURE 5: OVIDUCTE DE LA JUMENT, VUE LATERO-VENTRALE GAUCHE (MODIFIE D'APRES BARONE 1978) SOURCE : BOULOCHER, 2020 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'AUTEUR) (5).....	26
FIGURE 6: SCHEMA DES DIFFERENTS STADES FONCTIONNELS DE L'OVAIRE SOURCE : KÖNIG ET LIEBICH, 2014 (6)	28
FIGURE 7: IMAGE HISTOLOGIQUE D'UN FOLLICULE TERTIAIRE SOURCE : McCUE 2019 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (4).....	29
FIGURE 8: FOLLICULOGENESE CHEZ LA JUMENT SOURCE : © INSTITUT FRANÇAIS DU CHEVAL ET DE L'EQUITATION (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (2).....	31
FIGURE 9: ILLUSTRATION DU COMPORTEMENT DE CHALEUR DE LA JUMENT EN PRESENCE D'UN ETALON SOURCE : McCUE ET AL., 2011 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (9).....	33
FIGURE 10: REGULATION HORMONALE DU CYCLE OVARIEN EN FONCTION DE LA PERIODE DU CYCLE SOURCE : BERGFELT, 2009. (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (1)	36
FIGURE 11: REGULATION HORMONALE DU CYCLE OVARIEN DE LA JUMENT SOURCE : BERGFELT, 2009 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (1).....	39
FIGURE 12: SCHEMA DE LA FECONDATION CHEZ LA JUMENT SOURCE : © INSTITUT FRANÇAIS DU CHEVAL ET DE L'EQUITATION (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (2).....	43
FIGURE 13: ILLUSTRATION D'UN BLASTOCYTE RECOLTE PAR LAVAGE UTERIN AU STADE 6,5JOURS SOURCE : BETTERIDGE, 2011 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (14).....	45
FIGURE 14: ANATOMIE DU PLACENTA DES EQUIDES SOURCE : VEJLSTED ET AL., 2010 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (13).....	47
FIGURE 15: SCHEMA DES MICROPLACENTOMES COMPOSES DES MICROCOTYLEDONS FETAUX ET DES MICROCARONCULES MATERNELS SOURCE : BRINSKO ET AL., 2011 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (17).....	48
FIGURE 16: SCHEMA DES DIFFERENTS SITES D'INSEMINATION ARTIFICIELLE SOURCE : MORRIS AND LYLE, 2011 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (28).....	54
FIGURE 17: REPARTITION DES TECHNIQUES D'INSEMINATIONS ARTIFICIELLES UTILISEES CHEZ LA JUMENT EN 2022 (D'APRES LES DONNEES DE L'IFCE (4)).....	55
FIGURE 18: IMAGE D'UN EMBRYON RECOLTE AU STADE MORULA - 6,5 JOURS SOURCE : RIERA, 2009 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (38).....	58
FIGURE 19: IMAGE D'UN EMBRYON RECOLTE AU STADE BLASTOCYTE - 7,5 JOURS SOURCE : RIERA, 2009 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (38).....	59
FIGURE 20: ILLUSTRATION D'UNE PONCTION D'OVOCYTE SOURCE : BRINSKO ET AL., 2011 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (17).....	63
FIGURE 21: ILLUSTRATION DE LA CULTURE <i>IN VITRO</i> D'OVOCYTES SOURCE : ALVARENGA ET LANDIM-ALVARENGA, 2009 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (48).....	64
FIGURE 22: PHOTOGRAPHIE DE L'ICSI REALISE SOUS LOUPE-BINOCULAIRE SOURCE : BRINSKO ET AL., 2011 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (17).....	68
FIGURE 23: ILLUSTRATION DE LA PROCEDURE DU TRANSFERT INTRA-SALPINGIEN D'OVOCYTE SOURCE : ALVARENGA ET LANDIM-ALVARENGA, 2009 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (48)	75
FIGURE 24: PROCEDURE DE TRANSFERT NUCLEAIRE REALISE PAR HINRICH ET CHOI SOURCE : HINRICH ET CHOI, 2005 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (81)	79

FIGURE 25: OVAIRES GAUCHE (EN HAUT) ET DROIT (EN BAS) D'UNE JUMENT EN COUPE LONGITUDINALE SOURCE : BØGH ET AL., 2003 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (109).....	89
FIGURE 26: PHOTO D'UN "SOCIAL BOX" TESTE EN ALLEMAGNE POUR L'ELEVAGE DES ETALONS SOURCE : GEHLEN ET AL., 2021 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (136)	100
FIGURE 27: ILLUSTRATION D'UN OMBILIC DE POULAIN ISSU DU TRANSFERT NUCLEAIRE, PRESENTANT UN EPAISSISSEMENT, UN ŒDEME ET UNE ABSENCE DE POINT DE RUPTURE PHYSIOLOGIQUE SOURCE : JOHNSON ET AL., 2010 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (123)	103
FIGURE 28: ILLUSTRATION DU FONCTIONNEMENT DE L'ARC BAROREFLEXE SOURCE : R. ASMAR, 2007 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (162).....	109
FIGURE 29: RADIOGRAPHIE D'UN FRAGMENT D'OSTEOCHONDROSE DU RELIEF INTERMEDIAIRE DE LA COCHLEE TIBIALE CHEZ UN POULAIN DE 18 MOIS SOURCE : LEPAGE, 2020 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'AUTEUR) (171).....	113
FIGURE 30: RADIOGRAPHIE DORSO-PLANTAIRE DU PATURON D'UN POULAIN AGE D'UN AN PRESENTANT UNE OSTEOCHONDROSE DE TYPE KYSTIQUE SOURCE : LEPAGE, 2020 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'AUTEUR) (171).....	114
FIGURE 31: JUMENT PRZEWALSKI ASIATIQUE ET SON POULAIN DANS LE HUSTAI NATIONAL PARK SOURCE : COLLINS ET AL., 2011 - PHOTOGRAPHIE PAR LEE BOYD (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (191).....	123
FIGURE 32: ÉVOLUTION DU COEFFICIENT DE CONSANGUINITE CHEZ WP, NOT-ET, ET DES DERNIERES GENERATIONS ET DU TAUX DE CONSANGUINITE ENTRE LES GROUPES ETUDIES SOURCE : AZCONA ET AL., 2020 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (192).....	126
FIGURE 33: GRAPHIQUE REPRESENTANT LE POURCENTAGE DE (A) - MOTILITE, (B) MORPHOLOGIE NORMALE, (C) ACROSOME INTACT DES SPERMATOZOÏDES DE GAZELLE EN FONCTION DU COEFFICIENT DE CONSANGUINITE SOURCE : ROLDAN ET AL., 2006 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (190).....	128
FIGURE 34: EXIGENCES SANITAIRES POUR LA REPRODUCTION DES EQUIDES EN 2023 SOURCE : © INSTITUT FRANÇAIS DU CHEVAL ET DE L'EQUITATION (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR)	136
FIGURE 35: NETTOYAGE DE LA REGION PERINEALE DE LA JUMENT SOURCE : MCCUE, 2019 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (4).....	137

TABLE DES TABLEAUX

TABLEAU I: TABLEAU RECAPITULATIF DES AUTORISATIONS D'UTILISATION DES BIOTECHNOLOGIES DE LA REPRODUCTION SELON LES REGLEMENTATIONS DES STUDBOOKS	52
TABLEAU II: RECAPITULATIF DES PROTOCOLES DE VITRIFICATION ET DE RECHAUFFEMENT DES OVOCYTES ACTUELLEMENT DISPONIBLES.....	66
TABLEAU III: RECAPITULATIFS DES MALADIES EQUINES ASSOCIEES A DES MUTATIONS GENETIQUES	72
TABLEAU IV: MATRICE ETHIQUE DE ENGLAND ET MILLAR ILLUSTRANT LA TRANSLATION DES PRINCIPES ETHIQUES AUX DIFFERENTS GROUPES D'INTERETS DANS L'ELEVAGE DES ESPECES DOMESTIQUES	143

LISTE DES ABREVIATIONS

A = Allantois = allantoïde

AC = ChorioAllantois = allantochorion

Ach = Acétylcholine

ACTH = AdrenoCotricoTropic Hormone = adrénocorticotrophine

AM = Amnion = amnios

BSA = Bovine Serum Albumin = albumine sérique bovine

CL = Corpus Luteum = Corps jaune

Cp = Capsule = capsule embryonnaire

CRH = Corticotropin Releasing Hormone = corticolibérine

DDPP = Direction Départementale de la Protection des Populations

DF = Dominant Follicle = follicule dominant

DMSO = Dymethyl sulfoxyde = sulfoxyde de dyméthyle

E = Endometrium = endomètre

E2 = 17 bêta-œstradiol

EBJ = Epidermolyse Bulleuse Jonctionnelle

eCG = equine Chorionic Gonadotropin = gonadotropine chorionique équine

EG = Ethylen Glycol = éthylène glycol

FBS = Fetal Bovine Serum = sérum fœtal de bovin

FEI = Fédération Équestre Internationale

FSH = Follicle Stimulating Hormone = hormone folliculo-stimulante

FIV = Fécondation In Vitro

GBED =. Glycogen Branching Enzyme Deficiency = déficience en enzyme branchante du glycogène

GVDB = Germinal Vesicle Breakdown = rupture de la vésicule germinale

GIFT = Gamete Intrafallopian Transfer = transfert de gamete intrafallopien

GnRH = Gonadotropin-Releasing Hormone = gonadolibérine

hCG = human Chorionic Gonadotropin = hormone chorionique gonadotrope humaine

HERDA = Hereditary Equine Regional Dermal Asthenia = asthénie dermique héréditaire localisée équine

HYPP = HYperkalemic Periodic Paralysis = hyperkaliémie périodique paralysante

ICM = Inner Cell Mass = masse cellulaire interne

ICSI = Intra-Cytoplasmic Sperm Injection = injection de spermatozoïde intra-cytoplasmique

IFCE = Institut Français du Cheval et de l'Équitation

LH = Luteizing Hormone = hormone lutéinisante

M = Myometrium = myomètre

mg = milligramme

MH = Maligne Hypertermia = hyperthermie maligne

mL = millilitre

MPF = Maturation Promoting Factor = facteur de stimulation de la maturation

NA = Nord Adrénaline

OLWS = Overo Letal White Syndrome = syndrome léthal du poulain blanc overo

OMSA = Organisation Mondiale de la Santé Animale

OPU = Ovum Pick Up = ponction ovocytaire

OV = OVary = ovaire

P4 = progestérone

PGF2 α = ProstaGlandine F 2 α

PPID = Pituitary Pars Intermedia Dysfunction = dysfonctionnement de la *pars intermedia* de l'hypophyse (maladie de Cushing)

PSSM = PolySaccharide Storage Myopathy = myopathie de stockage des polysaccharides

SC = Solution de conservation

SCID = Sever Combined Immunodeficiency Disease = immunodéficience sévère combinée

SE = solution d'équilibration

SF = Subordinate Follicle = follicules secondaires

SV = Solution de vitrification

SME = Syndrome Métabolique Équin

TOIF = Transfert d'Ovocyte Intra-Folliculaire

Tr = Trophoblast = trophoblaste

YS = Yolk Sac = sac vitellin

ZP = Zona Pellucida = zone pellucide

INTRODUCTION

Il existe deux objectifs inhérents à toute espèce animale : la survie et la reproduction. La reproduction est l'une des finalités de l'élevage des équidés domestiques avec comme objectif de produire un poulain par jument et par an. Cependant, ce dernier n'est pas toujours facilement atteignable de par la présence éventuelle d'une subfertilité ou d'une infertilité chez la jument ou l'étalon, ou de carrières sportives chronophages.

Le développement des différentes biotechnologies de la reproduction a alors offert des alternatives, notamment lorsque les éleveurs souhaitent concilier les carrières sportive et reproductive de leurs chevaux. Au fur et à mesure de leur développement, les progrès scientifiques ont permis d'augmenter leurs taux de réussite et de faire d'elles des procédures utilisables de manière réaliste sur le terrain. C'est la raison pour laquelle leurs utilisations sont en plein essor depuis ces dernières années. Cette tendance est vouée à se maintenir, voire à s'accélérer avec les études scientifiques récentes et en cours qui tentent d'optimiser leurs résultats et de les rendre plus accessibles.

Cependant, ces biotechnologies de la reproduction impliquent des manipulations du vivant, que ce soient des gamètes, des embryons ou même des juments et des étalons. Ces interventions ne sont pas sans conséquences tant pour les juments, les étalons que les poulains produits. Le développement de ces biotechnologies a également un impact à l'échelle de la filière et de l'espèce équine plus largement, conduisant à des modifications de variabilité génétique des populations et à des risques sanitaires spécifiques. Enfin, cette manipulation du vivant soulève des questionnements éthiques, qui suscitent de plus en plus de débats dans notre société.

Ainsi cette thèse a pour objectif d'évaluer l'impact des biotechnologies de la reproduction dans l'espèce équine.

Pour cela, la première partie sera consacrée à l'anatomie et à la physiologie de la reproduction et la deuxième partie s'intéressera aux biotechnologies de la reproduction actuellement utilisées. L'impact des biotechnologies de la reproduction sur la jument, l'étalon et le poulain sera mis en lumière dans une troisième partie et enfin sera exposé dans une quatrième partie l'impact de ces biotechnologies sur la filière équine.

I. ANATOMIE ET PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION DANS L'ESPECE EQUINE

Le fonctionnement des organes reproducteurs au cours des cycles sexuels de la jument est dépendant d'une régulation hormonale, notamment par des hormones endocrines sécrétées par les glandes génitales, le complexe hypothalamo-hypophysaire et la glande pituitaire. L'objectif est d'obtenir un poulain vivant suite à la fécondation d'un ovocyte par un spermatozoïde, puis au développement embryonnaire et fœtal au cours de la gestation.

La compréhension de l'anatomie et de la physiologie des organes reproducteurs de la jument, ainsi que de la physiologie de la gestation est indispensable pour comprendre l'élevage des chevaux dans son ensemble et l'utilisation raisonnée des biotechnologies de la reproduction. Cela permet également de mieux apprécier les impacts de ces dernières sur les chevaux concernés.

Dans cette première partie, l'anatomie de l'appareil reproducteur femelle, ainsi que la physiologie et l'endocrinologie des cycles sexuels de la jument, seront d'abord abordés avant de s'intéresser à la physiologie et l'endocrinologie de la gestation.

A. Anatomie de l'appareil reproducteur femelle

L'appareil génital femelle a pour rôle, d'une part, l'élaboration de l'ovocyte (= cellule reproductrice femelle ne contenant qu'un seul chromosome), et, d'autre part, la bonne réalisation d'une gestation éventuelle, en étant le site de la fécondation (= union du gamète mâle et du gamète femelle pour donner un zygote) puis de la gestation.

Il est constitué de sa portion crâniale à sa portion caudale des ovaires, de l'oviducte, de l'utérus, du col de l'utérus, du vagin, du vestibule vaginal, des lèvres et du clitoris (cf. figure 1). Sa taille, sa forme et son positionnement dans l'abdomen de la jument varie en fonction de l'espèce, de la période du cycle de la jument, de son statut reproducteur, de son âge, de son poids et de son état de santé (1). Cela doit être à prendre en considération lors de l'examen transrectal par palpation ou échographie.

L'appareil génital de la jument sera étudié de sa portion caudale à sa portion crâniale.

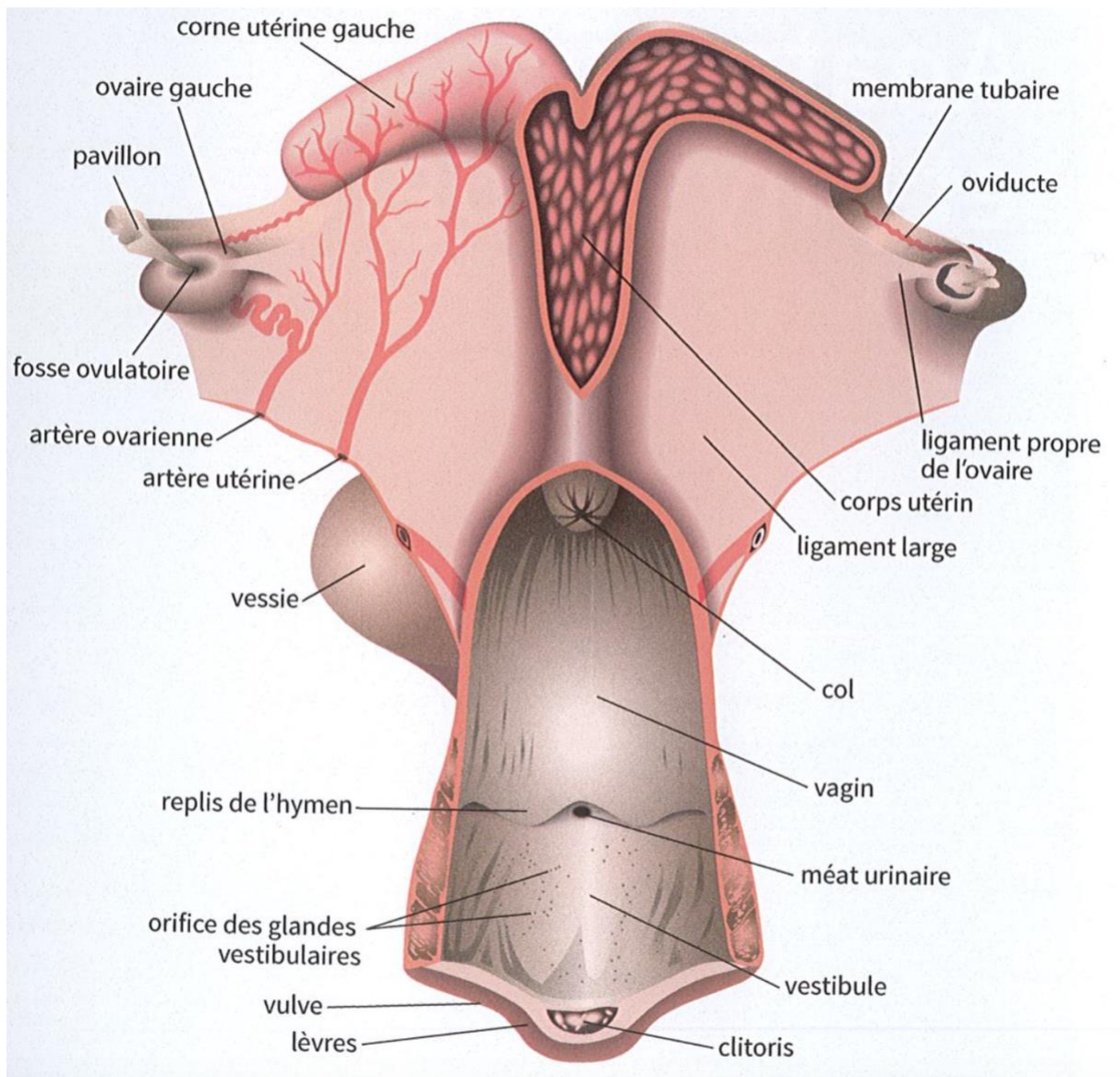


FIGURE 1: ANATOMIE DE L'APPAREIL REPRODUCTEUR DE LA JUMENT, VUE VENTRALE
 SOURCE : © INSTITUT FRANÇAIS DU CHEVAL ET DE L'ÉQUITATION (AUTORISATION ACCORDÉE PAR L'ÉDITEUR) (2)

1. Le sinus uro-génital

La partie la plus caudale de l'appareil génital de la jument est le sinus urogénital. Il est composé du vestibule vulvaire et de l'orifice vulvaire, et correspond à la section copulatrice de l'appareil génital femelle. Son examen peut se faire par observation directe.

La **vulve** est la portion du tractus génital femelle la plus externe. Elle est considérée comme la première ligne de défense de l'utérus et du reste des organes génitaux contre les contaminants du milieu extérieur (1).

Elle est composée d'une paire de lèvres vulvaires, des commissures ventrale et dorsale, ainsi que d'un clitoris (cf. figure 2) (3).

Dans la portion ventrale de la vulve, se trouve la fosse clitoridienne, contenant 3 sinus (4).



FIGURE 2: COMMISSURE VENTRALE DE LA VULVE, METTANT EN EVIDENCE LE CLITORIS
SOURCE : P. MCCUE, 2019 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (4)

Environ 2/3 de la vulve s'étend caudo-ventralement à l'arc ischiatique. Par conséquent, pour permettre une introduction sécuritaire du bras de l'examineur ou d'instruments nécessaires aux biotechnologies de la reproduction, il faut aborder un angle allant vers le haut (1).

2. Le vestibule vulvaire

Le **vestibule vulvaire** est localisé dans la loge uro-génitale (dans la moitié ventrale de la cavité pelvienne), entre le plancher ischial et le rectum. Il s'agit d'un conduit de 10 à 15 cm délimité crânialement par le vagin et caudalement par l'orifice vulvaire (3).

3. Les voies génitales (= section tubulaire)

Les voies génitales sont constituées de l’oviducte, de l’utérus et du vagin. Elles sont le lieu de la fécondation, de la gestation, mais également de l’accouplement.

a) *Le vagin*

Le vagin correspond au lieu de l’accouplement entre l’étalon et la jument (cf. figure 3).

Il s’agit d’une structure musculo-membraneuse, cylindroïde et aplatis dorso-ventralement, qui s’étend du col de l’utérus distalement au vestibule vaginal crânialement. Il mesure 20 à 25 cm chez une jument de taille moyenne (3).

La lumière vaginale est généralement collabée, hormis pendant la saillie ou le poulinage.

Crânialement, la paroi vaginale s’attache autour du col de l’utérus qui fait protrusion dans le vagin, formant un cul de sac annulaire appelé fornix du vagin.

À la jonction vestibule-vagin se trouve l’**hymen** chez les juments primipares non encore présentées à la reproduction (par saillie ou insémination artificielle). Il peut être une structure complètement fermée ou une fine bande de tissu (4). Il est parfois considéré comme la seconde ligne de défense contre les contaminants extérieurs (1).

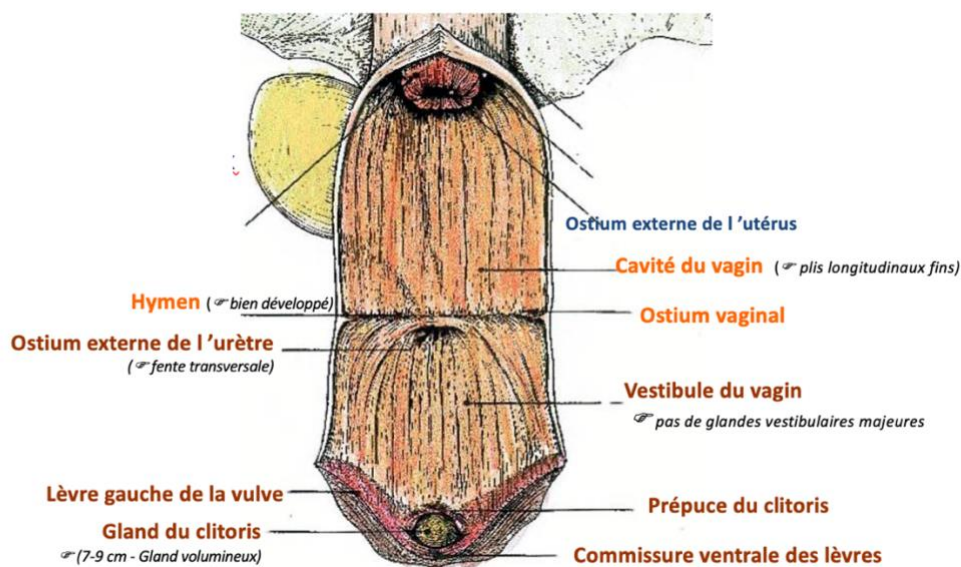


FIGURE 3: SCHEMA DE LA MORPHOLOGIE DU VAGIN ET DU VESTIBULE VAGINAL (MODIFIE D'APRES BARONE,1978)

SOURCE : BOULOCHER, 2020 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'AUTEUR) (5)

L'examen clinique du vagin s'effectue par palpation/endoscopie/échographie transvaginale ou à l'aide d'un spéculum. Lors d'échographie transvaginale de l'appareil reproducteur femelle, le transducteur de la sonde échographique est en contact avec la paroi crâniale du cul-de-sac vaginal (1).

La **paroi du vagin** est constituée d'une adventice, d'une musculuse puis d'une muqueuse plissée, enduite d'un mucus abondant (issu des glandes du col de l'utérus) (1).

b) Col de l'utérus

Crânialement, le vagin est séparé de l'utérus par une structure musculaire appelée **col de l'utérus**. Il mesure environ 7,5 à 10 cm chez la jument et fait protrusion dans le vagin sur 1 à 2 cm. On peut distinguer une portion supra-vaginale et une portion intravaginale (3).

Le col utérin s'ouvre dans la cavité du corps utérin par l'orifice interne du col et dans le vagin par l'orifice externe du col (3). Il présente, de même que l'utérus, des replis longitudinaux qui se poursuivent dans ce dernier. Cependant le col de l'utérus ne présente aucune glande dans son épithélium.

La tonicité du col de l'utérus, sa taille et ses sécrétions dépendent des hormones stéroïdiennes (progestérone et œstrogène) produite par l'ovaire, et, par conséquent, varient selon la période du cycle ovarien. Ainsi, pendant l'œstrus il est souple et ouvert, ce qui permet le passage de la semence jusqu'à l'utérus et la vidange des spermatozoïdes morts, des cellules inflammatoires et des fluides inflammatoires. Il est fermé pendant le diœstrus et l'anœstrus (4). Il constitue une barrière physique majeure contre les bactéries et autres micro-organismes pouvant pénétrer l'utérus par voie ascendante.

Son examen peut se faire par palpation transrectale ou transvaginale, par échographie transvaginale, par endoscopie transvaginale ou à l'aide d'un spéculum (1).

c) *L'utérus*

L'**utérus** est un organe musculo-membraneux dont le rôle est de nourrir et protéger l'embryon, puis le fœtus, ainsi que de fournir un support structurel et fonctionnel pour le placenta tout en présentant des contractions suffisantes pour l'expulsion du fœtus au moment de la mise bas (4).

Il est appendu à la voûte sous-lombaire et au détroit antérieur du bassin, notamment grâce au **ligament large**. Il est caractérisé comme un « simplex bipartus uterus » (1).

(i) *Morphologie*

L'utérus des juments est en forme de Y avec 2 **cornes utérines** jointes par un ligament ventral et un **corps utérin** de taille réduite par rapport aux cornes utérines (cf. figure 4).

Les **cornes utérines** mesurent 10 à 18 cm de long. Elles sont cylindroïdes et légèrement incurvées vers le haut (3).

Les cornes utérines sont reliées aux ovaires par l'intermédiaire des **oviductes** et se rejoignent à leur base pour former le corps utérin (3). La zone de jonction entre les cornes utérines et le corps de l'utérus présente une importance clinique majeure car elle est le lieu de fixation de la vésicule embryonnaire (1).

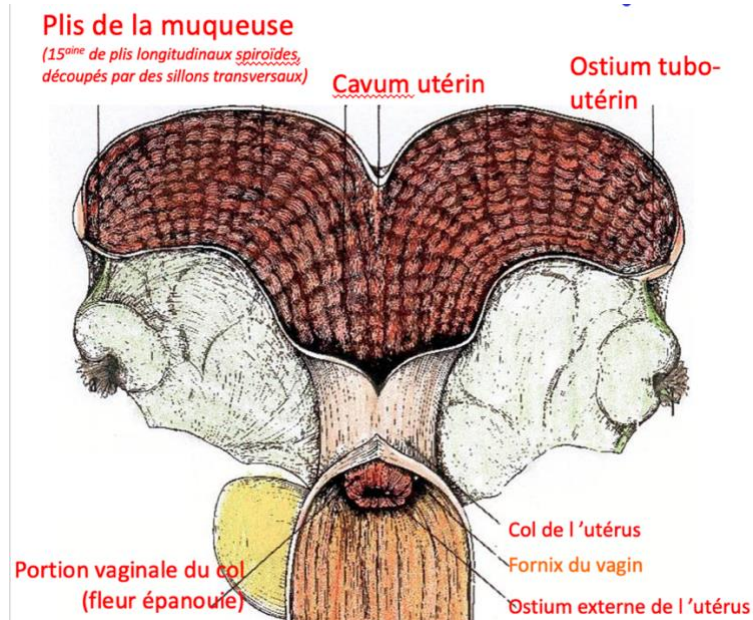


FIGURE 4: CONFORMATION INTERIEURE DE L'UTERUS DE LA JUMENT, VUE DORSALE (MODIFIE D'APRES BARONE 1978)
SOURCE : BOULOCHER, 2020 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'AUTEUR) (5)

Le corps utérin mesure environ 12 à 22 cm de longueur. Il est cylindroïde et aplati dorso-ventralement avec, sur sa face dorsale, l'attache du ligament large (3) ;

(ii) *Vascularisation de l'utérus*

L'utérus est irrigué crânialement par l'artère utéro-ovarienne, qui est à l'origine de l'artère tubouterine, et caudalement par l'artère vaginale, dont est issue l'artère cervico-utérine, et enfin par l'artère utérine (3).

Le drainage veineux s'effectue de chaque côté par les veines marginales de l'utérus.

(iii) *Structures*

Trois couches cellulaires distinctes peuvent être identifiées dans la paroi utérine. Il s'agit de la **séreuse**, du **myomètre** responsable en partie de la mobilité du conceptus avant sa fixation, et de l'**endomètre** (4).

Ce dernier est constitué d'un épithélium cylindrique simple et d'un chorion épais dans lequel se trouvent des invaginations glandulaires. L'épaisseur du chorion, ainsi que la taille et la forme des glandes utérines, varient selon le cycle de la jument (4).

b) L'oviducte

L'**oviducte** (également appelé trompe utérine) est une structure tubulaire dans laquelle l'ovocyte est recueilli après ovulation pour permettre sa fécondation par les spermatozoïdes et le développement embryonnaire précoce (4).

Chez une jument de taille moyenne, l'oviducte mesure entre 20 et 30 cm de longueur réelle, raccourci sur une quinzaine de centimètres du fait de ses multiples flexuosités (cf. figure 5) (3).

Il est soutenu dans la cavité abdominale par le mésosalpinx (ligament large) et est divisé en 3 régions : l'**infundibulum**, en forme d'entonnoir à l'extrémité distale ; l'**ampoule**, lieu de la fécondation ; l'**isthme**, dont l'extrémité proximale se compose d'une papille musculaire avec une lumière très fine (3).

La papille utéro-tubaire est le lieu de dépôt des spermatozoïdes lors d'inséminations artificielles profondes (1).

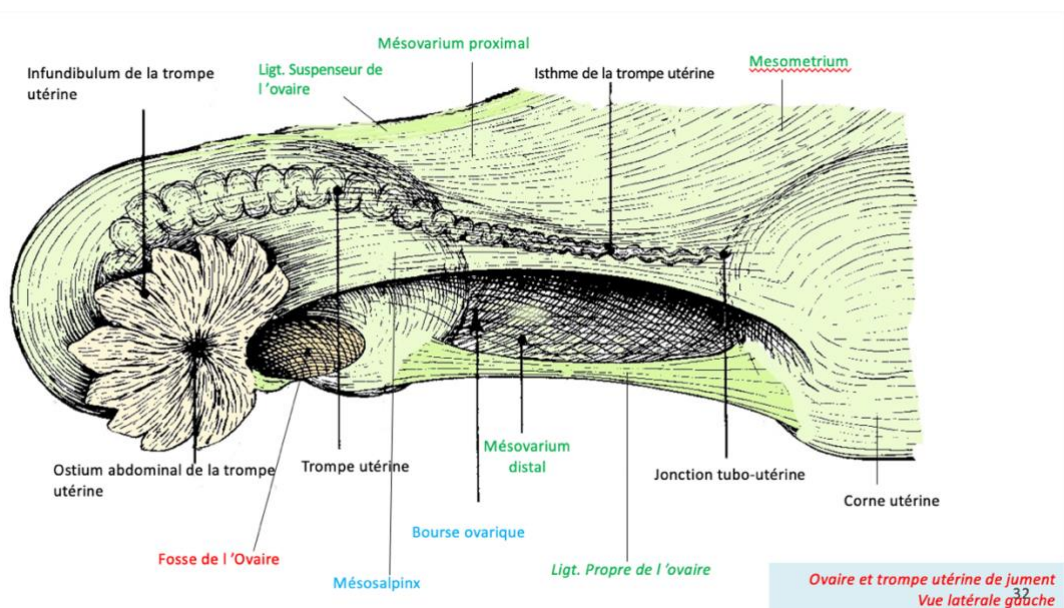


FIGURE 5: OVIDUCTE DE LA JUMENT, VUE LATERO-VENTRALE GAUCHE (MODIFIÉ D'APRES BARONE 1978)
SOURCE : BOULOCHER, 2020 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'AUTEUR) (5)

Contrairement aux autres mammifères domestiques, l'ovule de la jument ne peut pas passer la jonction utéro-tubaire s'il n'est pas fécondé par un spermatozoïde. Cela conduit parfois à des accumulations de vestiges embryonnaires pouvant affecter la fertilité de la jument (1).

L'oviducte est constitué de quatre tuniques : la séreuse, la sous-séreuse, la musculuse et enfin la muqueuse.

Les voies génitales assurent la mise en contact entre les gamètes mâles et les gamètes femelles via l'accouplement, puis la fécondation. Cela permet d'obtenir un zygote qui se développera en un embryon, puis en un fœtus, pour aboutir à la naissance d'un poulain.

2. Les glandes génitales (= section glandulaire)

Les juments possèdent deux ovaires, localisés à l'extrémité des cornes utérines et appendus à la région sous-lombaire, un peu en arrière des reins. Sur un animal de taille moyenne, ils sont situés à 50-60 cm de l'ouverture vulvaire. En période d'œstrus, ils font 4 à 5 cm de long, avec une forme de haricots par la présence de la fosse d'ovulation sur son bord antéro-postérieur (4).

Ils ont une fonction dans la gamétogénèse, conduisant à la formation des ovocytes, ainsi qu'une fonction endocrine, qui consiste en la sécrétion d'hormones qui commandent toute l'activité génitale (3).

a) Relation et morphologie

L'**ovaire** présente deux faces convexes, lisses, et revêtues par le péritoine où se forment les follicules (3).

Le mésovarium fixé sur le bord dorsal de l'ovaire et le mésosalpinx fixé sur l'oviducte et sur le pôle antérieur de l'ovaire, forment la **bourse ovarique** qui est la cavité dans laquelle s'ouvrent la **fosse d'ovulation** de l'ovaire et le pavillon de l'oviducte (3).

b) *Vascularisation et innervation*

Les artères de l'ovaire sont issues de l'artère ovarienne. Celle-ci circule dans le ligament large puis le mésovarium avant d'effectuer un trajet extra-ovarien où de multiples collatérales rejoignent les faces de l'ovaire. Ces collatérales s'arborescent, notamment autour de chaque follicule créant un très riche réseau théal d'artérioles et de capillaires (3).

Les ovaires ne présentent pas de lien direct avec le reste de l'appareil génital femelle, la communication entre l'oviducte et l'ovaire se faisant par l'intermédiaire de la bourse ovarique.

c) *Structures ovariennes*

L'ovaire est recouvert d'une structure fibreuse épaisse à la surface de laquelle adhère le péritoine et contenant les principaux vaisseaux : la pseudo-albuginée. Seule la fosse d'ovulation est recouverte d'un épithélium germinatif (3).

L'ovaire est composé de la **médulla**, partie spongieuse riche en vaisseaux, et du **cortex**.

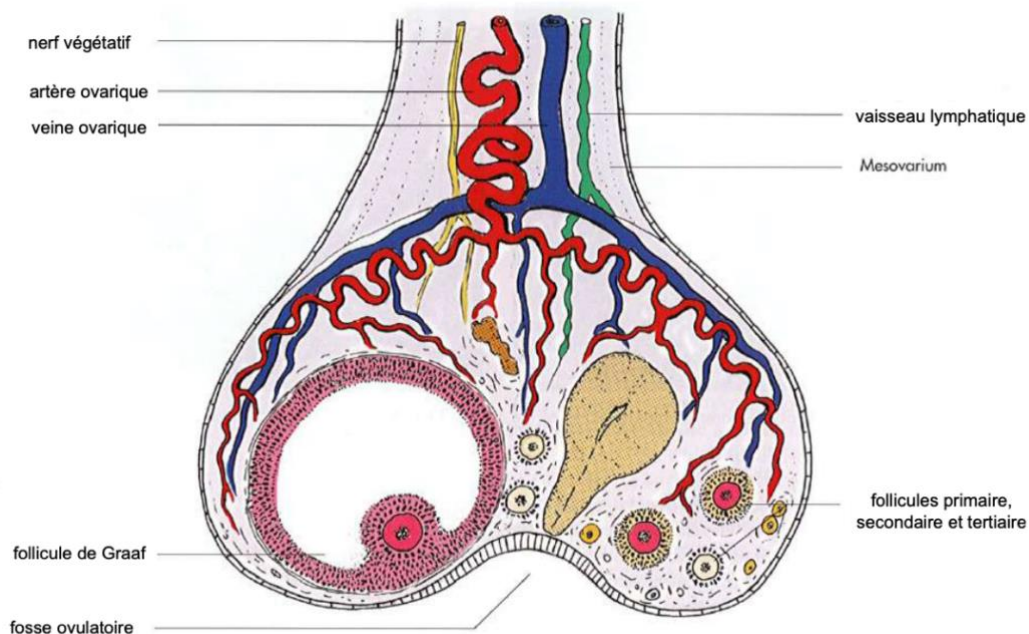


FIGURE 6: SCHEMA DES DIFFERENTS STADES FONCTIONNELS DE L'OVAIRE
SOURCE : KÖNIG ET LIEBICH, 2014 (6)

Au niveau du cortex, se trouvent les **follicules** ainsi que les **corps jaunes**. Les follicules présents sur l'ovaire peuvent être classés en trois catégories : les follicules en cours de développement, les follicules pré-ovulatoires (ou follicule de Graaf) et les follicules hémorragiques anovulatoires (4).

Les follicules en cours de développement peuvent être des follicules primordiaux, primaires, secondaires ou tertiaires (également appelés follicules antraux) (cf. figure 6). Ils contiennent un **ovocyte**, entouré d'un complexe cumulo-ovocytaire (1).

Les **follicules tertiaires** sont ceux présentant une importance clinique majeure car ils sont la source majeure des stéroïdes ovariens à savoir les œstrogènes, la progestérone et les androgènes (1). Ces follicules sont constitués d'une cavité folliculaire, délimitée par les cellules de la granulosa non vascularisées, puis par les cellules de la thèque qui, elles, sont vascularisées (cf. figure 7).

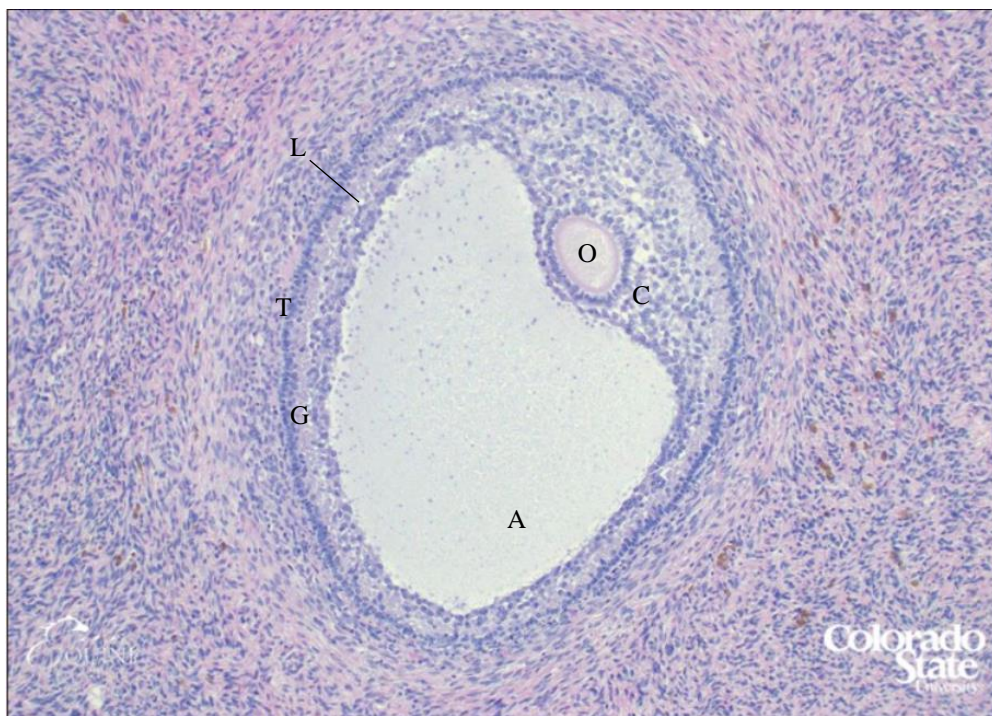


FIGURE 7: IMAGE HISTOLOGIQUE D'UN FOLLICULE TERTIAIRE
SOURCE : MCCUE 2019 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (4)

Légende :

O = ovocyte
C = cumulus
G = granulosa

L = lame basale
T = thèque
A = antrum

La taille des follicules et la présence ou l'absence du corps jaune, ainsi que sa structure, dépendent du moment du cycle ovarien, et donc de la production d'hormones stéroïdiennes par les follicules, qui entraînent des modifications morphologiques et fonctionnelles de l'appareil génital femelle.

B. Physiologie et endocrinologie des cycles sexuels chez les juments

La physiologie est la science qui étudie les fonctions et les propriétés des organes et des tissus, et, dans ce cas précis, des organes de l'appareil reproducteur de la femelle. Ces fonctions sont régies par un ensemble d'hormones agissant en concert pour permettre l'ovulation, la fécondation et le maintien d'une gestation.

1. Cycles sexuels chez la jument

La jument est une **espèce polyœstrienne saisonnière à jours longs, c'est-à-dire que** la fonction de reproduction est active lorsque la durée des jours est longue. Le cycle de la jument dure 21-22 jours et peut se diviser en deux phases principales : l'œstrus et le diœstrus (7).

On peut distinguer deux terminologies pour désigner les cycles chez la jument : le cycle ovarien qui désigne les modifications des follicules ovariens aboutissant à l'expulsion périodique d'un ou plusieurs ovocytes dans l'oviducte, et le cycle œstral qui désigne l'ensemble des modifications structurales, physiologiques et comportementales qui existent entre deux œstrus chez la jument (1). Ces deux cycles ont lieu simultanément.

a) Cycle ovarien et modification du tractus génital

Le cycle ovarien fait référence à la succession de la phase folliculaire avec la phase lutéale. On dit traditionnellement qu'il débute au moment de l'ovulation (1).

La majorité des juments n'ovule que d'un follicule par cycle même s'il arrive que certaines juments ovulent de deux, voire plus rarement de trois follicules, au cours d'un cycle (4).

(i) *Phase folliculaire*

On appelle **phase folliculaire** la phase du cycle ovarien au cours de laquelle il y a une croissance des follicules permettant d'aboutir à un follicule pré-ovulatoire (7).

Le follicule pré-ovulatoire est issu de la croissance de follicules primaires en follicules secondaires, puis en **follicules tertiaires** (4). Ces derniers sont les seuls follicules immatures visibles à l'échographie transrectale.

Cette phase de maturation nécessite la présence de FSH (Follicle Stimulating Hormone). Elle débute 7 à 8 jours après l'ovulation, au cours du diœstrus, avec la croissance de follicules tertiaires de plus de 3 mm de diamètre. Il s'agit de la **phase de recrutement**. S'ensuit pendant 6 à 7 jours la **phase de sélection** au cours de laquelle les follicules continuent de grossir avec un taux de croissance d'environ 3 mm par jour (4).

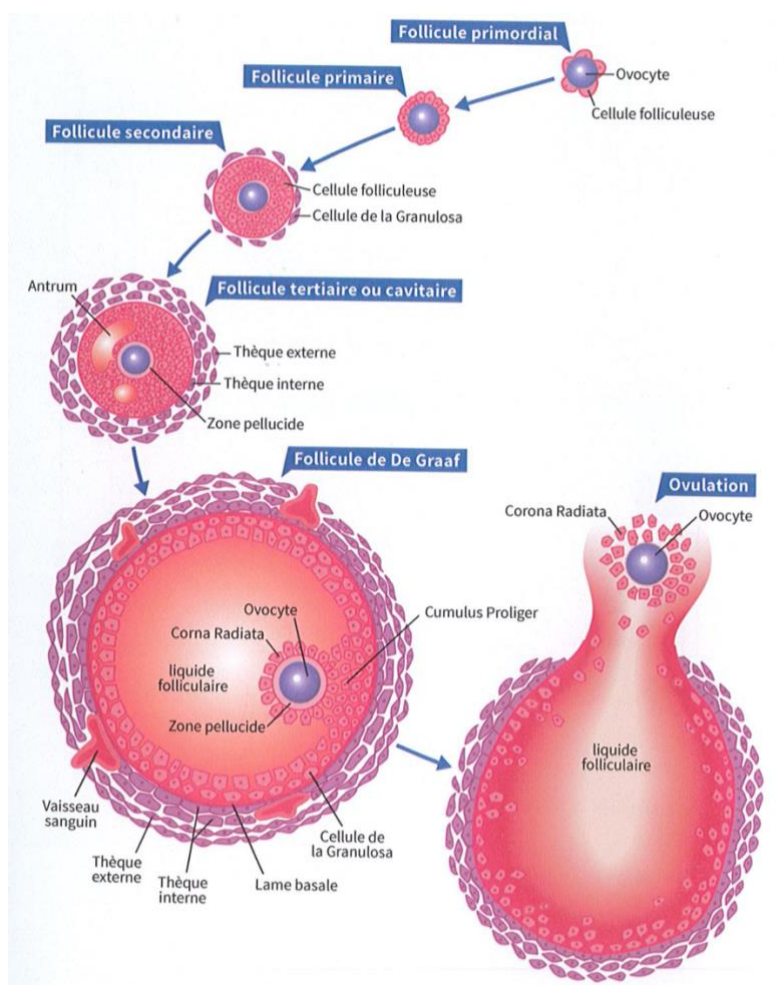


FIGURE 8: FOLLICULOGENESE CHEZ LA JUMENT

SOURCE : © INSTITUT FRANÇAIS DU CHEVAL ET DE L'EQUITATION (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (2)

Enfin, un follicule dominant de 22 à 25 mm de diamètre est sélectionné. Seul ce dernier continue de croître pendant la **phase de dominance** tandis que les autres s'atrophient, majoritairement sous l'influence de la LH (Luteizing hormone). Cela est permis par une augmentation du nombre de ses récepteurs aux gonadotrophines. Le **follicule pré-ovulatoire**, également appelé follicule de Graaf, contient un ovocyte mature contenu dans le complexe cumulo-ovocytaire (8). Il sera alors à l'origine de l'ovulation, lorsque le follicule dominant fait en moyenne 35 à 40 mm grâce au pic de LH (cf. figure 8) (4).

(ii) Ovulation

L'ovulation a lieu majoritairement dans les deux jours précédant la fin de l'œstrus chez la jument.

Au cours de l'**ovulation**, il y a une rupture de la paroi du follicule, consécutive à une fragilisation de cette dernière par des **enzymes protéolytiques**. Il apparaît alors une **zone de rupture** dans le follicule, conduisant à une libération de l'ovocyte dans la **fosse ovulatoire** et à un collapsus du follicule (7).

Le follicule collabé forme ensuite le corps jaune au cours de la phase lutéale.

(iii) Phase lutéale

La **phase lutéale** correspond à la présence du **corps jaune** sur l'ovaire ovulatoire. Elle dure en moyenne 14 jours chez la jument et succède à l'ovulation (1).

Au cours de cette phase lutéale, les vagues folliculaires anovulatoires se poursuivent (1).

Chez les juments non gestantes, il y a une sécrétion pulsatile de la **prostaglandine** par l'endomètre entre le jour 13 et 14 post-ovulation. Cette prostaglandine permet alors la **régression** du corps jaune (7).

b) Cycle œstral

Parallèlement au cycle ovarien, l'imprégnation hormonale de la jument permet le développement, ou non, de comportements caractéristiques de chaleur. C'est ce qu'on appelle l'œstrus, qui permet de caractériser le cycle œstral.

Le **cycle œstral** correspond à la succession de périodes de chaleurs (œstrus) qui durent en moyenne 5 à 9 jours, et de périodes de refus du mâle (dioestrus) qui durent en moyenne 14 à 16 jours (1).

L'**œstrus** correspond à la période où la jument accepte le mâle (1). La jument présente alors un comportement spécifique : queue relevée et décalée d'un côté, clignement clitoridien, urination passive, oreilles souples en avant ou dans une position neutre, membres postérieurs légèrement abduits avec les grassets et les jarrets fléchis et enfin souvent des vocalises (cf. figure 9).



FIGURE 9: ILLUSTRATION DU COMPORTEMENT DE CHALEUR DE LA JUMENT EN PRESENCE D'UN ETALON
SOURCE : MCCUE ET AL., 2011 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (9)

L'expression du comportement d'œstrus est variable, les juments suitées et les primipares l'exprimant souvent moins, de même qu'une jument plutôt soumise si une jument dominante se trouve dans les environs. Il est également possible que la jument ait une aversion pour un étalon en particulier.

L'œstrus est stimulé par l'augmentation de la concentration en **17bêta-oestradiol**. L'ovulation a généralement lieu 24 à 48 heures avant la fin des chaleurs, et l'augmentation de progestérone qui s'ensuit induit l'arrêt du comportement d'acceptation de la jument (4).

Au cours du **diœstrus**, la jument rejette l'étalon. Ce comportement est régi par la **progestérone** produite par le corps jaune et dure en moyenne 14 à 16 jours (7).

2. Régulation hormonale de la fonction de reproduction

Le contrôle hormonal des cycles ovarien et œstral se fait via l'axe hypothalamo-hypophysaire par l'action d'un certain nombre d'hormones, qui régissent la sécrétion d'hormones stéroïdiennes par les ovaires.

a) GnRH au niveau de l'hypothalamus

La première hormone de la cascade est la **GnRH** (Gonadotrophine Releasing Hormone) produite par l'**hypothalamus**. Sa concentration exerce un contrôle positif sur la sécrétion de LH et de FSH par l'hypophyse (7, 10).

La sécrétion de GnRH se fait sous le contrôle de stimuli environnementaux et des hormones circulantes notamment avec un rétrocontrôle par la LH, les œstrogènes et la progestérone. Cela est résumé dans la figure 10.

b) LH et FSH au niveau de l'hypophyse antérieure

La **FSH** est produite par l'hypophyse antérieure sous le contrôle de l'hypothalamus via la GnRH. Elle est responsable de la croissance folliculaire par fixation sur les récepteurs des cellules de la granulosa (cf. figure 14). Sa concentration est maximale en fin de diœstrus permettant le stade 2 de la folliculogénèse (cf. figure 10) (10).

La **LH** est synthétisée également par l'hypophyse antérieure sous le contrôle de la GnRH. Sa sécrétion est régulée par un rétrocontrôle positif des œstrogènes produits par les ovaires et par un rétrocontrôle négatif de la progestérone produite par le corps jaune. La LH est à l'origine de l'**ovulation** et de la **lutéinisation** du follicule de Graaf, permettant la formation du corps jaune (cf. figure 14). Les récepteurs à la LH se situent sur les cellules de la thèque, et leur nombre augmente sur le follicule dominant au fur et à mesure que l'ovulation approche. Cela permet d'obtenir un pic de LH (passant de 1 ng/mL à 10-16 ng/mL) au niveau de ce follicule, ce qui conduit à son ovulation (cf. figure 10) (10). La LH stimule la production de 17 bêta-œstradiol par les cellules de la granulosa.

c) Hormones produites par les gonades : œstrogènes, inhibine, progestérone

Les hormones neuroendocrines de l'axe hypothalamo-hypophysaire agissent sur le développement des follicules ovariens au cours du cycle ovarien. Ces derniers sont également à l'origine de la production d'hormones, régissant le comportement sexuel et exerçant des rétrocontrôles sur l'axe hypothalamo-hypophysaire. Ces hormones sont l'inhibine, le 17 bêta-œstradiol et la progestérone.

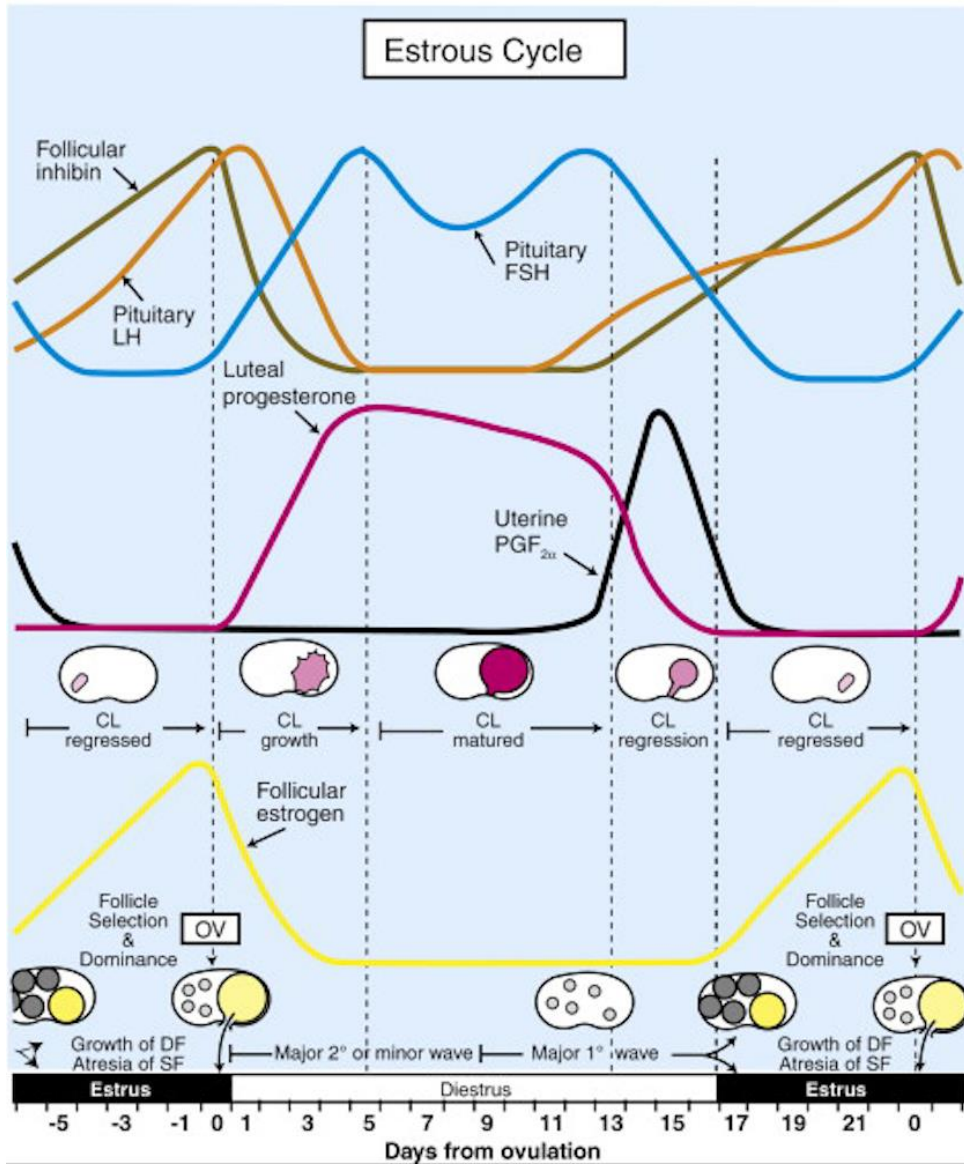


FIGURE 10: REGULATION HORMONALE DU CYCLE OVARIEN EN FONCTION DE LA PERIODE DU CYCLE
SOURCE : BERGFELT, 2009. (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (1)

Légende :

Estrus cycle = cycle oestral
 Follicular inhibine = inhibine folliculaire
 Pituitary FSH : FSH hypophysaire
 Pituitary LH = LH hypophysaire
 Luteal progesterone = progestérone lutéale
 Uterine PGF_{2α} = PGF_{2α} (ProstaGlandine F 2α d'origine utérine)
 CL (Corpus Luteum) regressed = CL régressif
 CL growth = CL en croissance
 CL matured = CL mature
 CL régression = régression du CL
 Follicular estrogen = œstrogène d'origine folliculaire

Follicule selection and dominance = phase de sélection et de dominance folliculaire
 Growth of DF (Dominant Follicle) = croissance des follicules dominants
 Atresia of SF (Subordinate Follicle) = atrésie des follicules secondaires
 Estrus = oestrus
 Diestrus = dioestrus
 OV (Ovary) = ovaire
 Major 2° or minor wave = deuxième vague de sélection
 Major 1° vague = première vague de sélection.
 Days from ovulation = jours à partir de l'ovulation

(i) *L'inhibine*

L'**inhibine** est une hormone glycoprotéique produite par les cellules de la granulosa du follicule dominant. Les concentrations en inhibine sont corrélées positivement aux concentrations en œstradiol et négativement aux concentrations en FSH. En effet, l'inhibine exerce un rétrocontrôle négatif sur la sécrétion de FSH (4). Sa concentration augmente au cours de l'œstrus avec un maximum au moment de l'ovulation (cf. figure 10).

(ii) *L'œstradiol 17-bêta*

L'**œstradiol 17-bêta** est l'œstrogène produit en majorité par le follicule de Graaf. Cette hormone stéroïdienne est responsable du comportement d'œstrus de la jument.

La production d'œstradiol 17-bêta est permise par les cellules de la thèque et de la granulosa sous contrôle de la LH et de la FSH. Ces dernières exercent ensuite un rétrocontrôle négatif sur la production de FSH et un rétrocontrôle positif sur la production de LH. Cela permet le pic de LH à l'origine de l'ovulation (10).

Le taux d'œstradiol 17-bêta atteint un pic de 10 à 15 pg/mol un à deux jours avant l'ovulation, et son taux chute juste après l'œstrus (cf. figure 10) (4).

(iii) *Progestérone et prostaglandine*

La **progestérone** est une hormone stéroïdienne produite en majorité par les cellules lutéales du corps jaune.

La concentration en progestérone dans le sang augmente dans les 24 à 48 heures suivant l'ovulation et sa concentration maximum est atteinte 5 à 6 jours après cette dernière. Elle est maintenue pendant 15 jours puis chute à moins de 1 ng/mol quatre à cinq jours en l'absence de gestation (cf. figure 10) (10). Cela initie la phase folliculaire du cycle œstral ainsi que le comportement d'œstrus puisque la progestérone exerce un rétrocontrôle négatif sur la sécrétion de LH.

La progestérone est à l'origine d'une augmentation de la tonicité utérine et d'une stimulation de l'activité sécrétoire des glandes endométriales de l'utérus pour permettre un maintien de la gestation.

En absence de gestation, l'utérus produit de la **PGF2 α** (ProstaGlandine F 2 α), ce qui induit une lyse du corps jaune et une chute du taux de progestérone (10).

d) Mélatonine et saisonnalité de la reproduction

Le terme **saisonnalité** correspond à l'alternance entre inactivité (fin de l'automne, hiver, début du printemps, dans l'hémisphère nord) et activité cyclique (printemps, été, dans l'hémisphère nord). Cette saisonnalité est régie notamment par la **mélatonine**, produite par la **glande pinéale** et agissant sur l'hypothalamus. Sa sécrétion est proportionnelle à la durée de la nuit. Lorsque les jours deviennent plus longs, la concentration en mélatonine baisse ce qui conduit à la sécrétion de GnRH par l'hypothalamus et déclenche la cascade hormonale précédemment décrite. (cf. figure 11) (2, 7).

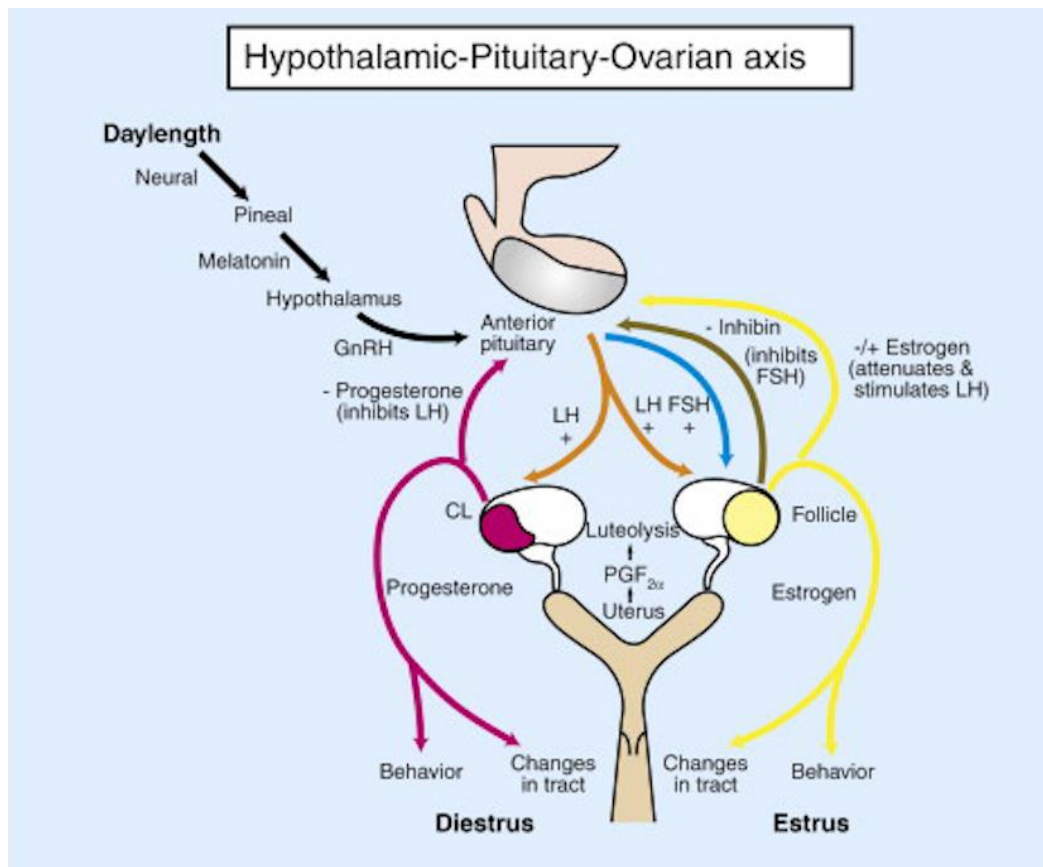


FIGURE 11: REGULATION HORMONALE DU CYCLE OVARIEN DE LA JUMENT
SOURCE : BERGFELT, 2009 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (1)

Légende :

Daylength = longueur de la journée

Neural = neuronal

Pinéal = Glande pinéale

Melatonin = Mélatonine

Hypothalamus = Hypothalamus

GnRH = Gonadolibérine

- Progesterone (inhibits LH) = Rétrocontrôle négatif Progesterone (inhibe la production de LH)

Anterior pituitary = Hypophyse antérieure

LH + = Contrôle positif de la LH

FSH + = Contrôle positif de la FSH

- Inhibin (inhibits FSH) = Rétrocontrôle négatif de l'inhibine (inhibe la production de FSH)

+/- Estrogen (attenuates & stimulates LH) = Rétrocontrôle positif et négatif des œstrogènes (atténue et stimule la production de LH)

Follicle = follicule

Estrogen = Œstrogène

Behavior = Comportement sexuel

Changes in tract = Changement histo-physiologique du tractus génital femelle

Estrus = Œstrus

CL = Corps jaune

Diestrus = Dioestrus

Luteolysis = Lutéolyse

PGF_{2α} = Prostaglandine F 2α

Uterus = Utérus

3. Maîtrise du cycle sexuel de la jument par le vétérinaire

La maîtrise du cycle sexuel par le vétérinaire est un élément clé de la gestion de la reproduction de la jument. En effet, elle permet d'une part de lutter contre certaines atteintes de la fonction de reproduction, telles que l'œstrus prolongé, et, d'autre part, de planifier les inséminations et les mises à la reproduction de manière à optimiser le suivi de jument et augmenter les chances de réussite des différentes techniques de reproduction assistée.

a) Maîtrise de l'ovulation

La maîtrise de l'ovulation est indispensable à la mise en place des biotechnologies de la reproduction. Elle permet en effet de programmer les inséminations artificielles, les transferts d'embryons, ainsi que les ponctions d'ovocytes.

Cette maîtrise de l'ovulation peut se faire à l'aide de différentes hormones à savoir la prostaglandine, l'hCG ou encore la GnRH.

(i) Prostaglandines

L'administration de **PGF 2α** (Dinoprost ®) ou d'analogues (Cloprostenol ®) permet d'induire la lyse du corps jaune et par conséquent la fin de la phase lutéale, laissant place à la phase folliculaire et à l'ovulation (10). Cette administration doit cependant s'effectuer 5 jours post-ovulation du fait de la période réfractaire du corps jaune, c'est-à-dire de la période de non-réceptivité du corps jaune à la prostaglandine. Après administration de PGF 2α , le corps jaune est lysé et la jument revient en chaleur dans les 24 à 48 heures.

(ii) hCG ou GnRH

L'**hCG** est une hormone présentant une activité LH et FSH qui stimule le développement folliculaire, et, plus spécifiquement, l'ovulation. Il est généralement recommandé d'administrer de l'hCG (Chorulon®) lorsqu'il y a un follicule de plus de 35 mm de diamètre et une absence de corps jaune. L'ovulation a généralement lieu 36 +/- 5 heures après (10).

Un analogue de la GnRH peut également être utilisé. Il s'agit de la **Buséreline** (Receptal ®) qui a comme activité la stimulation de la production de LH et de FSH. Son indication est donc la même que pour l'hCG, avec une ovulation ayant généralement lieu 40 heures post-injection. L'avantage de cette molécule est qu'elle semble induire moins de réactions immunitaires (10).

À l'heure actuelle, les vétérinaires utilisent souvent les molécules citées précédemment dans des protocoles précis, combinant parfois plusieurs d'entre elles. Cela permet d'augmenter les taux de réussite de l'induction de l'ovulation et donc des biotechnologies de la reproduction.

La maîtrise de l'ovulation permet d'optimiser la reproduction de la jument en planifiant les différentes interventions du vétérinaire pour l'application des biotechnologies de la reproduction. Cependant, certains vétérinaires et certains éleveurs souhaitent optimiser encore plus l'élevage des juments et augmenter le nombre de cycles ovariens qu'ils peuvent potentiellement exploiter et donc les tentatives de fécondation qu'ils peuvent effectuer au cours de la saison de reproduction. Pour ce faire, une induction précoce d'activité ovarienne est souvent mise en place sur des juments en anœstrus.

b) Maîtrise de l'inactivité ovarienne

Il est souvent intéressant de raccourcir la période d'inactivité ovarienne, notamment en induisant une phase de transition printanière plus précoce au cours de l'année. Cela permet une saison de reproduction plus longue et des naissances plus tôt dans l'année. Les poulains sont alors plus âgés dans la catégorie de leur année de naissance, ce qui peut leur conférer des avantages pour les compétitions. De plus, cette maîtrise de retour en activité ovarienne permet de s'affranchir de la saisonnalité des juments et d'utiliser les biotechnologies de la reproduction pratiquement tout au long de l'année.

Actuellement, les protocoles les plus efficaces sont ceux qui combinent à la fois les traitements lumineux et les traitements hormonaux (10). Le protocole le plus efficace est le suivant : 16 heures de luminosité et 8 heures de nuit pendant 6 à 8 semaines, suivi de 10 jours de traitement à base de progestérone se terminant par une injection de PGF2 α . Les résultats de ce traitement combiné seraient une ovulation chez 82 % des juments.

Ainsi, le vétérinaire possède une panoplie d'hormones qui lui permet de gérer au mieux les cycles ovariens de la jument de manière à augmenter le taux de réussite des biotechnologies de la reproduction qu'il souhaite mettre en application. Cela est aussi particulièrement intéressant pour l'éleveur car plus les taux de réussite sont élevés, moins il y a de tentatives effectuées sur les juments pour obtenir une gestation et donc moins les coûts sont élevés.

C. Physiologie et endocrinologie de la gestation

La gestation, correspondant à l'intervalle de temps entre l'ovulation et la mise bas, dure entre 310 et 374 jours avec une moyenne de 340 jours chez la jument. Il est admis qu'un poulain né avant 320 jours est prématuré et qu'un poulain né avant 280 jours n'est pas viable (10).

Au cours de la gestation, différentes étapes majeures se succèdent pour permettre la mise bas d'un poulain viable et en bonne santé. Ces étapes sont les suivantes : la fécondation, le développement embryonnaire et fœtal, et la placentation (6).

1. Fécondation et embryogénèse

a) *Fécondation*

La **fécondation** correspond à l'union du gamète mâle (**spermatozoïde**) avec le gamète femelle (**ovocyte**) conduisant à la formation du **zygote** (12). Elle a lieu au niveau de la région de l'ampoule des trompes utérines, après la libération de l'ovocyte par le follicule ovulatoire et la migration des spermatozoïdes dans l'oviductes. La durée de vie de l'ovocyte varie de 4 à 36 heures.

La migration des spermatozoïdes à travers les voies génitales femelles se fait grâce aux contractions de ces dernières et à la mobilité spécifique de spermatozoïdes (10). Au cours de leur migration, les spermatozoïdes entrent en contact avec de nombreuses sécrétions utérines induisant une **capacitation** de ces derniers, indispensable à la fécondation. L'ovocyte, bloqué au stade de métaphase II, reprend sa méiose, conduisant à la formation d'un pronoyau (13).

Ce pronoyau fusionne avec le noyau du spermatozoïde permettant d'obtenir une structure diploïde, appelée **zygote**. Il est composé d'une *corona radiata*, d'une zone pellucide, de deux corps polaires et d'un noyau (cf. figure 12) (10).

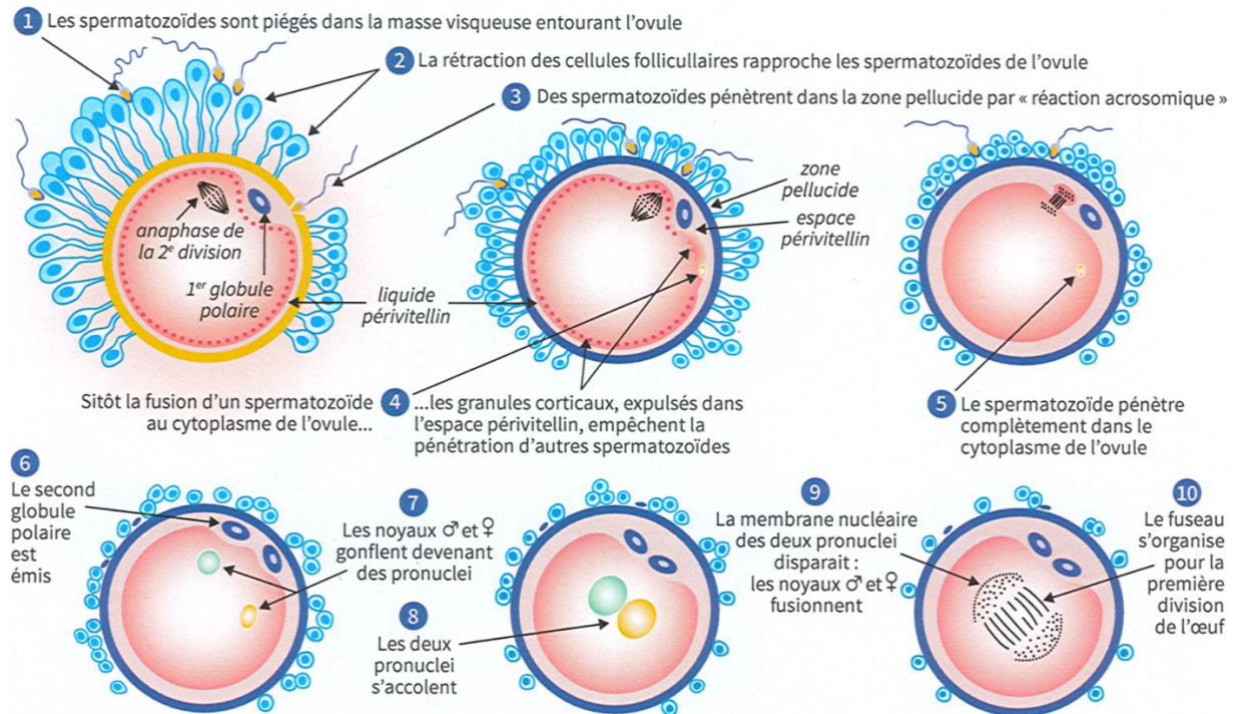


FIGURE 12: SCHEMA DE LA FECONDATION CHEZ LA JUMENT

SOURCE : © INSTITUT FRANÇAIS DU CHEVAL ET DE L'ÉQUITATION (AUTORISATION ACCORDÉE PAR L'ÉDITEUR) (2)

Une fois le zygote formé, il subit des divisions cellulaires puis des différenciations de ces cellules pour conduire, grâce à un certain nombre de procédés biologiques, à un embryon. Ces étapes sont regroupées sous le terme d'**embryogénèse**.

b) Embryogénèse

À la suite de la fécondation a lieu le développement embryonnaire, également appelé **embryogénèse** (12). Le développement embryonnaire peut se diviser en trois phases successives : le développement embryonnaire précoce, la placentation et l'organogénèse.

Le zygote contient l'entièreté du génome du futur individu, et son cytoplasme, hérité de l'ovocyte, contient l'ensemble des éléments structuraux et moléculaires pour initier les premières divisions cellulaires (« cleavage » en anglais) et activer le génome embryonnaire permettant la transcription embryonnaire (13).

(i) *Croissance précoce de l'embryon*

Au cours du **développement embryonnaire précoce**, le zygote subit des mitoses successives. (13) Ces divisions cellulaires sont appelées « **cleavage** ». La première a lieu en 24 heures, puis l'embryon équin atteint 4 à 6 cellules en 48 heures puis 8 à 12 cellules en 72 heures (14, 15).

L'embryon équin continue à se diviser et une **capsule** est formée au 5^{ème} jour post-fécondation. Il s'agit d'une couche glycoprotéique acellulaire située entre la couche externe des cellules de la morula (appelée trophoctoderme) et la zone pellucide. Cette capsule est spécifique à l'espèce équine (16). Elle est essentielle au maintien de la gestation et permet potentiellement une protection de la zone pellucide de l'embryon lors du développement précoce de ce dernier, mais son rôle exact n'est pas déterminé (14).

L'embryon pénètre dans l'utérus au jour 5,5 à 6,5 post-ovulation (17) grâce à la production de prostaglandine E. À partir de ce moment, il peut alors être récolté par lavage utérin. Au 7^{ème} jour l'embryon mesure en moyenne 150 à 300 µm de diamètre. Il commence à augmenter en taille par l'utilisation des nutriments présents dans le milieu utérin. Entre les jours 11 et 16 post-fécondation, l'embryon connaît une croissance rapide. Au 14^{ème} jour, il mesure environ 13 à 15 mm, ce qui le rend visible par échographie transrectale (18).

(ii) *Différenciation cellulaire de l'embryon et organogénèse*

Parallèlement à cette croissance, l'embryon continue à se diviser. Lorsqu'il atteint 32 à 64 cellules, il est appelé **blastocyte** (cf. figure 13). On peut distinguer trois zones distinctes du blastocyte : le disque embryonnaire, le blastocœle et le trophoblaste (cf. figure 18). La séparation de ces trois zones est permise par l'activation et l'inhibition spécifique de certains gènes donnant aux cellules l'orientation de leur différenciation. Les cellules perdent alors leur multipotence.

Les mécanismes spécifiques à l'origine de l'activation et de l'inhibition des gènes ne sont pas encore connus chez le cheval, mais l'embryon est très sensible aux variations de l'environnement utérin (10).

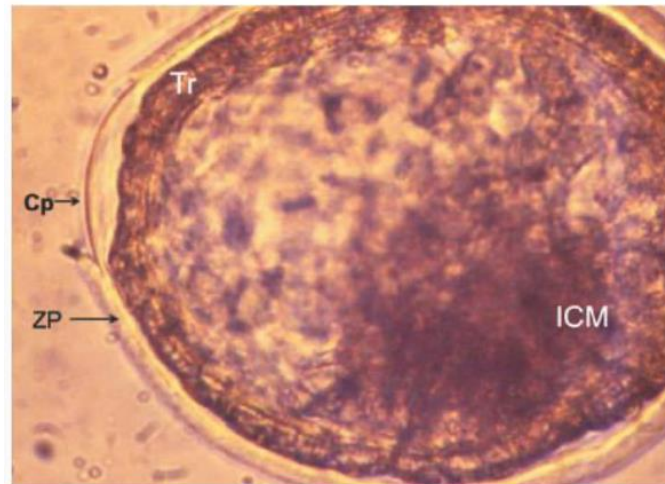


FIGURE 13: ILLUSTRATION D'UN BLASTOCYTE RECOLTE PAR LAVAGE UTERIN AU STADE 6,5JOURS
SOURCE : BETTERIDGE, 2011 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (14)

Légende :

ZP = Zona Pellucida = zone pellucide
Cp = Capsule = capsule embryonnaire

Tr = Trophoblast = trophoblaste
ICM = Inner Cell Mass = masse cellulaire interne

La différenciation cellulaire va permettre la poursuite de l'organogénèse et la formation des différents organes conduisant à la formation d'un poulain viable (10, 13).

Le développement embryonnaire s'effectue en plusieurs étapes, notamment avec la croissance de la vésicule embryonnaire puis l'organisation et la différenciation de ces cellules au cours de la gastrulation et de la neurulation. Cela permet d'obtenir, après l'organogénèse, un fœtus qui poursuit son développement jusqu'à la mise bas.

Les conditions de développement de l'embryon sont déterminantes sur l'activation et l'inhibition des gènes à l'origine de la différenciation cellulaire.

Le développement de l'embryon nécessite des apports métaboliques qui sont permis par la placentation. En effet, plus le fœtus grossit, plus ses apports en nutriments sont importants, ce qui implique des échanges plus intimes avec l'organisme maternel.

2. Le placenta des équidés : sa structure et son rôle

Des diminutions des compétences placentaires peuvent induire des défauts de développement du fœtus, voire des avortements. Le placenta présente donc un rôle important pour le maintien et le bon déroulement de la gestation (19).

a) Mise en place du placenta

La **placentation** correspond à l'établissement entre le fœtus et la jument gestante, d'une surface de contact étendue et permanente à travers laquelle se font les échanges chimiques. ("Définitions : placentation - Dictionnaire de français Larousse") (10).

Chez les juments, **l'implantation est tardive (40 jours post-ovulation) et** est précédée par une immobilisation de l'embryon à la base d'une des cornes utérines à partir du 16^{ème} jour de gestation (13).

b) Anatomie du placenta des équidés

Le **placenta** des équidés est **diffus** car il occupe l'entièreté de l'utérus maternel à l'exception du col et des deux jonctions utéro-tubaires. Il est également **épithéliochorial**, c'est-à-dire qu'il comporte 6 couches de cellules - 3 couches d'origine fœtale (endoderme, mésoderme et ectoderme) et 3 couches d'origine maternelle (épithélium, endomètre et endothélium) (10).

Enfin, il peut être caractérisé de **villositaire** grâce à la présence de nombreuses villosités composées de cryptes utérines et de **microcotylédons fœtaux** (cf. figure 14) (13). Ces microcotylédons permettent un contact étroit entre les systèmes sanguins maternels et fœtaux, ceci permettant des échanges foeto-maternels efficaces.

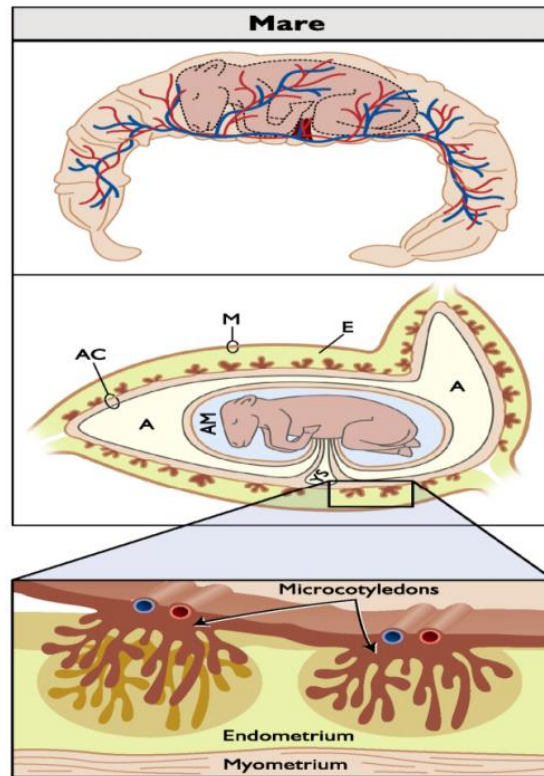


FIGURE 14: ANATOMIE DU PLACENTA DES EQUIDES
 SOURCE : VEJLSTED ET AL., 2010 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (13)

Légende :

Mare = Jument

AC = ChorioAllantois = allantochorion

M = Myometrium = myomètre

E = Endometrium = endomètre

A = Allantois = allantoïde

AM = Amnion = amnios

YS = Yolk Sac = sac vitellin

Microcotyledons = microcotylédons

Les **microcotylédons** constituant le placenta forment, avec les microcaroncules maternels, les **microplacentomes** (cf. figure 15). Ces microplacentomes maximisent les surfaces d'échanges entre le fœtus et la jument, ce qui leur confère une importance particulière dans le développement fœtal. Ils contiennent les structures vasculaires du placenta à l'origine de l'apport de nutriments au fœtus.

Les autres structures vasculaires sont localisées dans le **cordons ombilical** qui ancre le fœtus à la base de la corne utérine gravide (19).

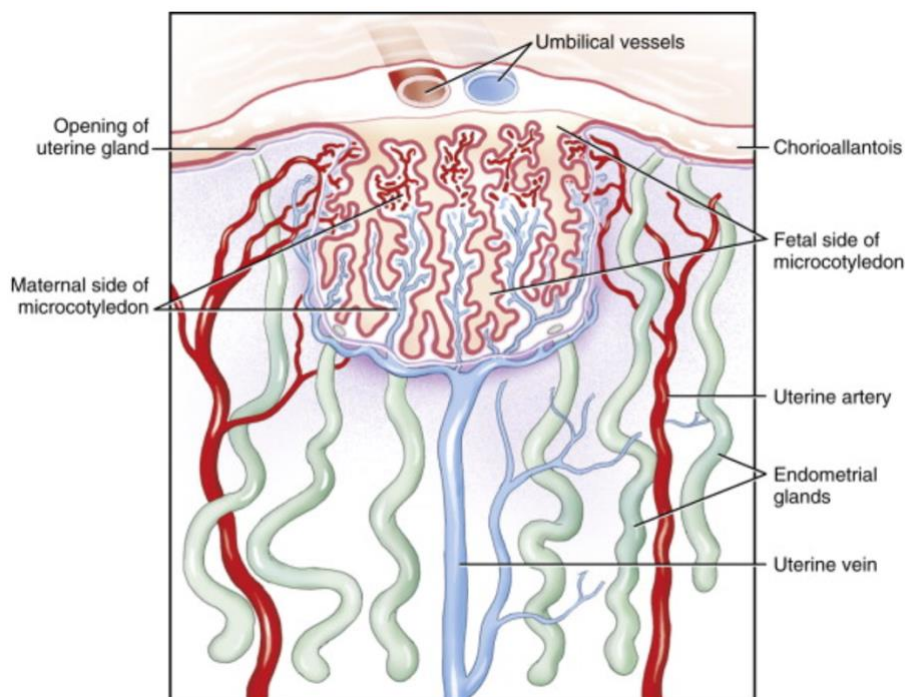


FIGURE 15: SCHEMA DES MICROPLACENTOMES COMPOSES DES MICROCOTYLEDONS FŒTAUX ET DES MICROCARONCULES MATERNELS

SOURCE : BRINSKO ET AL., 2011 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (17)

Légende :

Umbilical vessels = Vaisseaux ombilicaux
Opening of uterine gland = Ouverture des glandes utérines
Maternal side of microcotyledon = Microcotylédons d'origine maternel
Chorioallantois = Chorioallantoïde

Fetal side of microcotyledon = Microcotylédons d'origine foetale
Uterine artery = Artère utérine
Endometrial glands = Glandes endométriales
Uterine vein = Veine utérine

Enfin, la **ceinture chorionique** est une structure placentaire spécifique de l'espèce équine. Elle se forme par expansion de cellules épithéliales à la jonction entre l'allantoïde et le sac vitellin qui régresse et elle envahit l'endomètre utérin au 36-38^{ème} jour post-ovulation (19).

c) Fonctionnement du placenta des équidés

Les **échanges fœto-maternels** sont, chez les équidés, majoritairement hémotrophiques car il y a **un apport de nutriments** au fœtus, **l'élimination des déchets** fœtaux et des **échanges gazeux** entre le fœtus et la jument (10, 19). Le caractère diffus du placenta des équidés permet des échanges fœto-maternels efficaces. Cependant, cela rend également le fœtus plus sensible aux pathologies maternelles à diffusion hémotogène.

D'autre part, la placentation diffuse chez les équidés a pour conséquence une limitation de la taille des poulains. Cette dernière est directement liée aux échanges fœto-maternels qui sont proportionnels à la surface du placenta (10, 20). Cette limitation de taille explique la faible survie des gestations gémellaires dans l'espèce équine. En effet, en présence de deux poulains, les échanges fœto-maternels sont limités par la taille du placenta et donc de la jument. Ainsi les apports et échanges gazeux sont insuffisants, ce qui peut conduire à l'avortement d'un ou des deux fœtus.

Outre les échanges fœto-maternels sanguins, le placenta présente aussi un **rôle immunologique** et de maintien de la gestation grâce à sa **fonction endocrine** (19). Cela se fait via la sécrétion de **progestagène placentaire**.

Le placenta des équidés est diffus, épithéliochorial et villositaire. Ses caractéristiques lui permettent d'assurer quatre rôles majeurs : synthèse de nutriments, échanges fœto-maternels (apport de nutriments et élimination des déchets), barrière immunitaire et rôle endocrine de maintien de la gestation et de développement fœtal.

3. Endocrinologie de la gestation

Un déficit en progestérone induit un avortement. Cela traduit le rôle essentiel de la progestérone, et donc des hormones de la gestation dans le maintien de cette dernière et dans le développement du fœtus.

Pour maintenir la gestation, il est nécessaire que la jument conserve un taux de progestérone ou de progestagène élevé (10).

L'endocrinologie de la gestation chez la jument peut se décrire en deux phases : l'endocrinologie précoce de la fécondation à 150 jours de gestation, et l'endocrinologie tardive de 150 jours de gestation à la mise bas (10).

Entre la fécondation et le 150^{ème} jour de gestation, l'endocrinologie de la gestation est principalement liée à la **progestérone**, l'**eCG** et les **œstrogènes maternels**.

Avant la reconnaissance maternelle de la gestation au 6^{ème} jour de gestation, la progestérone est sécrétée par le **corps jaune primaire de gestation**, issu de l'ovulation. À partir du 15^{ème} jour de gestation, la reconnaissance maternelle de la gestation permet d'inhiber la lutéolyse de ce dernier, maintenant ainsi la sécrétion de progestérone jusqu'à la production des **corps jaunes secondaires de gestation** entre le 40^{ème} et le 60^{ème} jour de gestation (10).

Les corps jaunes secondaires sont indispensables pour la sécrétion de progestérone jusqu'au 75^{ème} jour de gestation minimum, moment où les progestagènes produites par le placenta prennent le relais. Cette prise de relais est totale au 150^{ème} jour de gestation, période à laquelle la formation du placenta est complète. Le placenta joue alors un rôle essentiel dans le maintien de la gestation.

La gestation permet le développement d'un fœtus viable dont la finalité est la mise bas pour conduire à un poulain viable et en bonne santé. Cette naissance est rendue possible par l'ensemble des étapes du développement embryonnaire qui sont elles-mêmes permises par les échanges fœto-maternels via le placenta. Néanmoins, le maintien de cette gestation est régi par un certain nombre d'hormones dont l'ensemble peut être regroupé sous le terme endocrinologie de la gestation.

La naissance du poulain est l'objectif final de la mise à la reproduction de la jument. Cette dernière nécessite une compréhension détaillée de l'anatomie et de la physiologie de l'appareil reproducteur de la femelle mais également de l'endocrinologie de la reproduction.

II. UTILISATION DES BIOTECHNOLOGIES DE LA REPRODUCTION DANS L'ESPECE EQUINE : INTERETS ET INDICATIONS

La fertilité tant de la jument que de l'étalon est le critère principal de la réussite de la fécondation. Il s'agit de la capacité des individus à produire une descendance viable. L'infertilité ou la subfertilité de la jument et de l'étalon sont multifactorielles, dépendant de facteurs extrinsèques tels que la gestion de l'élevage ou le suivi vétérinaire, mais également de facteurs intrinsèques. Chez la jument, les facteurs intrinsèques sont majoritairement son âge, des anomalies de conformations du tractus reproducteur (telles que des anomalies cervicales ou des défauts vulvaires) ou de la physiologie de la reproduction (infection du tractus génital, anœstrus prolongé, dysfonctionnement ovarien, échec de la gestation) (21).

Pour lutter contre cette infertilité ou cette subfertilité, des biotechnologies de la reproduction ont été développées pour permettre la production d'au moins un poulain par jument et par an.

Il est important de noter que toutes les biotechnologies de la reproduction ne peuvent être utilisées chez toutes les races d'équidés. En effet, leurs utilisations dépendent des règlements des Studbooks. Les Studbooks définissent leurs réglementations, sous contrôle du code rural (Article D653- 36 à 40-2) et de l'Union Européenne (Règlement UE 2016/1012, 2017/716, 2020/602/ 2017/1940 et 2021/963).

Les réglementations des Studbook relatives aux biotechnologies de la reproduction sont résumées dans le tableau I.


TABLEAU I: TABLEAU RECAPITULATIF DES AUTORISATIONS D'UTILISATION DES BIOTECHNOLOGIES DE LA REPRODUCTION SELON LES REGLEMENTATIONS DES STUDBOOKS

CONTROLE DE FILIATION ET TYPAGE OBLIGATOIRE - Naissances 2023

	Liberté/Main	IAI : Insémination artificielle immédiate	IARP : Insémination artificielle réfrigérée sur place	IART IAC : Insémination artificielle congelée	TE IATE : Insémination artificielle et transfert d'embryon	ICSI : intra-cytoplasmic sperm injection
Pur-Sang, AQPS, Camargue	CF OBLIGATOIRE	TYPE DE MONTE INTERDIT				
Trotteur Français		TYPE DE MONTE INTERDIT				
Selle Français	TYPAGE MERE 1 ^{ER} PRODUIT					CF OBLIGATOIRE
Anglo-Arabe, Arabe, Castillonnais, Cheval de Dressage Français, Crème, Criollo, Cheval d'Auvergne, Connemara, Connemara Part-Bred, Corse, CSAN, Part-Bred Dartmoor, Fjord, Irish Cob, Irish Cob Part Bred, Landais, Lipizzan, Lusitanien, Miniature Français, Poney Français de Selle, Portugais de Sport, Shetland**, Vercors de Barraquand, Cob Normand, Âne des Pyrénées, Mule Poitevine, Baudet Du Poitou*, Trait Poitevin*, Âne de Provence**	CF OBLIGATOIRE	CF OBLIGATOIRE	CF OBLIGATOIRE	CF OBLIGATOIRE		CF OBLIGATOIRE
Barbe, Arabe Barbe						TYPE DE MONTE INTERDIT
Mérens, Pottok, Welsh	TYPAGE MERE 1 ^{ER} PRODUIT					TYPE DE MONTE INTERDIT
Shagya						TYPE DE MONTE INTERDIT
Haflinger, Highland						TYPE DE MONTE INTERDIT
Henson		TYPE DE MONTE INTERDIT				
Autres races de sang ou poneys inscriptibles à un livre généalogique	NEANT	CF OBLIGATOIRE	CF OBLIGATOIRE	CF OBLIGATOIRE		TYPE DE MONTE INTERDIT
Origines Constatées sang ou poney		TYPE DE MONTE INTERDIT				
Ardennais, Boulonnais, Percheron, Âne du Cotentin, Grand Noir du Berry, Âne Normand		TYPAGE MERE AU 1 ^{ER} PRODUIT DE LA RACE				
Origines constatées traits ou ânes, autres races de traits ou ânes inscriptibles à un livre généalogique, mules	NEANT	NEANT	NEANT	NEANT		TYPE DE MONTE INTERDIT
Origines constatées monte libre	CF OBLIGATOIRE	TYPE DE MONTE INTERDIT				

* sauf pour les mâles livre B ** CF obligatoire pour les femelles
En cas de revue, ou de gestation anormale : Contrôle de Filiation obligatoire.

SIRE – Bureau des naissances
Route de Troche, BP 3,
19231 ARNAC POMPADOUR Cedex
0 809 10 01 01 
Mél : info@ifce.fr - www.ifce.fr

 Avec internet, le SIRE facilite vos dém@rches,
Rendez-vous dans votre Espace SIRE

 **SIRE**
/ifce

1/1

20/01/2023

SOURCE : © INSTITUT FRANÇAIS DU CHEVAL ET DE L'ÉQUITATION (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'ÉDITEUR)

A. Biotechnologies de première et deuxième génération

Les biotechnologies de première et de deuxième génération correspondent respectivement à l'insémination artificielle et le transfert embryonnaire.

1) Insémination artificielle

L'insémination artificielle correspond au dépôt de la semence d'un étalon au préalable récoltée et conditionnée, dans l'utérus d'une jument en chaleur. Cette pratique fut introduite dans l'espèce équine dans les années 1990, mais officiellement autorisée en France en 1986 (22). À l'heure actuelle, c'est une technique de reproduction assistée très utilisée en reproduction équine.

Les **indications** de l'insémination artificielle sont à la fois **médicales** (étalon ou jument subfertile) mais également **logistiques**. En effet, elle est souvent utilisée pour permettre d'obtenir des produits issus d'étalons non disponibles pour la saison de reproduction (en cours de carrière sportive ou décédés) ou d'étalons très éloignés géographiquement (23).

Il est toutefois intéressant de noter que l'insémination artificielle est principalement utilisée chez les juments de type selle (24), le **Studbook** des juments de course ne permettant pas des techniques de reproduction autre que la monte naturelle (4,5) (et l'insémination en semence fraîche chez les trotteurs (6)).

a) Modalités de l'insémination artificielle

Avant la procédure d'insémination, la **région périnéale** de la jument est **nettoyée** selon un protocole spécifique à base de povidone iodée à 2% ou de chlorhexidine (28) pour prévenir l'introduction d'agents pathogènes et autres contaminants dans les voies génitales.

La semence utilisée est parallèlement préparée selon le type de semences pour pouvoir être introduite dans l'utérus de la jument (cf. partie II-A-1-b)). Avant l'insémination, il est recommandé à l'insémineur d'évaluer la semence au microscope.

Il existe trois techniques d'insémination : l'insémination artificielle classique, l'insémination artificielle profonde et l'insémination artificielle par hystérocopie (cf. figure 16).

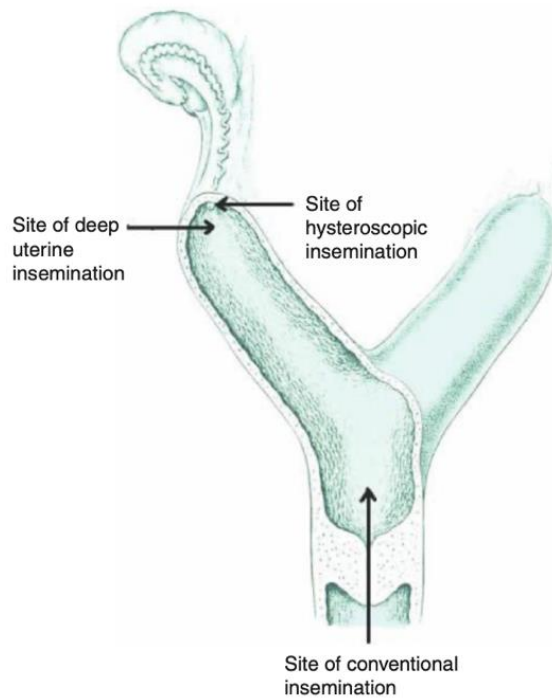


FIGURE 16: SCHEMA DES DIFFERENTS SITES D'INSEMINATION ARTIFICIELLE
 SOURCE : MORRIS AND LYLE, 2011 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (28)

Légende :

Site of hysteroscopic insemination = Site d'insémination artificielle par hystérocopie
Site of deep uterine insemination = Site d'insémination artificielle profonde

Site of conventional insemination = Site d'insémination artificielle classique

L'**insémination artificielle classique** consiste à déposer la semence juste à l'entrée du col de l'utérus, dans le corps utérin.

L'**insémination artificielle profonde** implique le dépôt de la semence dans la partie la plus crâniale de **la corne utérine** ipsilatérale au follicule ovulatoire. Après être passée à travers le col utérin, la sonde d'insémination est guidée par voie transrectale jusqu'au site de dépôt de la semence (28).

Il est possible de déposer la semence à la **jonction utéro-tubaire** ipsilatérale au follicule ovulatoire lors de **l'insémination artificielle par hystérocopie**. Pour cela, la sonde d'insémination est introduite dans le guide d'un endoscope qui permettra de guider l'inséminateur pour l'orienter (28). Cette technique permet d'utiliser des semences avec **1.10⁶ spermatozoïdes motiles progressifs** pour la semence fraîche et **3.10⁶ spermatozoïdes motiles progressifs** pour la semence congelée.

b) Différents types de semences

L'insémination artificielle peut être réalisée à partir de **semences fraîches**, de **semences réfrigérées** ou de **semences congelées**. Les proportions des différents types de semences utilisées en France, en 2022, sont illustrées dans la figure 17.

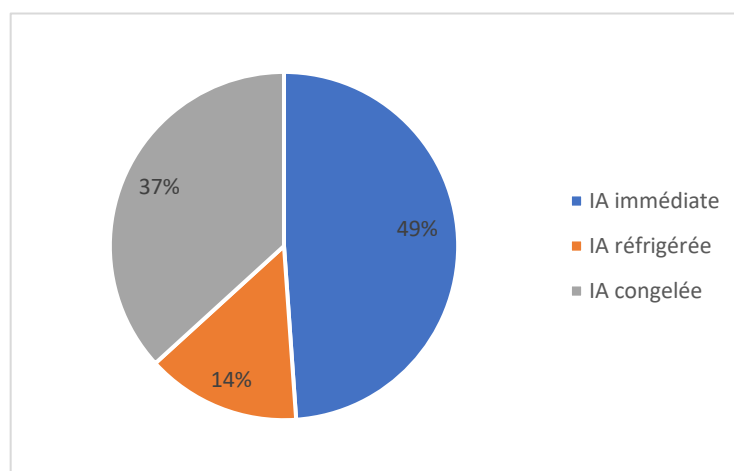


FIGURE 17: REPARTITION DES TECHNIQUES D'INSEMINATIONS ARTIFICIELLES UTILISEES CHEZ LA JUMENT EN 2022 (D'APRES LES DONNEES DE L'IFCE (4))

En 2022, l'insémination artificielle était utilisée dans 49,3 % des techniques de monte d'après les statistiques des haras nationaux (24).

(i) Insémination en semence fraîche et réfrigérée

L'insémination avec une semence fraîche s'effectue lorsque la jument et l'étalon sont présents dans les mêmes centres de reproduction. Cette technique nécessite que la jument soit inséminée dans l'heure qui suit la récolte de semence, diluée et laissée à température ambiante (21).

Lorsque la jument et l'étalon ne sont pas proches géographiquement mais que l'étalon peut être prélevé et sa semence envoyée dans des conditions adéquates, l'insémination peut se faire avec de la **semence réfrigérée**.

La conservation de la semence nécessite une température de **4 °C**. Le **transport** des doses s'effectue ensuite dans un Equitainer® ou dans une boîte de transport (31). L'insémination de

doses réfrigérées doit se faire dans les **12 à 24 heures suivant la récolte** de la semence de l'étalon (33). Pour cela, le cycle de la jument est suivi toutes les 24 heures pour permettre une commande de la semence.

La concentration idéale de la semence est d'environ **500 millions de spermatozoïdes progressifs et motiles** par dose. Après récolte, elle est donc diluée en prenant compte de la concentration initiale en spermatozoïdes motiles progressifs dans la semence récoltée. Le dilueur présentant les meilleurs taux de réussite est le milieu **INRA 96** (33).

La semence est introduite dans l'utérus de la jument par la technique **d'insémination classique** à l'aide d'un **cathéter d'insémination** (22).

Il est possible d'inséminer la jument toutes les 48 heures pendant sa période d'œstrus. Néanmoins, dans la majeure partie des cas, pour diminuer le nombre de récoltes et le risque d'endométrite associée à une insémination d'une grande quantité répétée de spermatozoïdes, l'ovulation de la jument est souvent induite. **L'induction de l'ovulation** s'effectue lorsque la jument présente sur un de ces ovaires un **follicule de plus de 35 mm de diamètre** et un **œdème utérin de grade I à II/V** (4).

Le taux de réussite est d'environ **55 %** pour la semence fraîche et **50 %** pour la semence réfrigérée (4) ;

(ii) *Insémination en semence congelée*

Dans le cas où la semence de l'étalon est **congelée**, **l'induction de l'ovulation** de la jument est indispensable. Elle a lieu 30 heures avant l'insémination, selon un **suivi échographique régulier** toutes les 6 à 12 heures environ (4).

La dose de spermatozoïdes est concentrée à **50 millions de spermatozoïdes par paillette de 0,5 mL**. Il est conseillé, d'après l'IFCE, d'utiliser **8 paillettes** pour obtenir une concentration de **400 millions de spermatozoïdes**. Cependant, l'insémination peut également se faire à petites doses si le suivi échographique de la jument se fait toutes les 6 heures pour permettre une insémination la plus proche possible du moment de l'ovulation (35).

Les spermatozoïdes sont dilués dans un milieu spécifique, tel que l'INRA 82 + 2% de jaune d'œuf + 2,5 % de glycérol auxquels sont associés de la gentamycine et de l'amoxicilline, ou dans le milieu INRA freeze (36).

Les paillettes sont stockées dans de l'azote liquide à -196 °C (22). Pour l'insémination, elles sont donc plongées dans un bain marie à 35 °C pendant 30 secondes pour les décongeler. L'insémination peut se faire directement à partir de la paillette ou par l'intermédiaire d'une seringue. Dans les deux cas, l'extrémité scellée de la paillette doit être découpée à l'aide d'un ciseau propre (4).

Pour l'insémination de semence congelée, la technique **d'insémination artificielle profonde** est la plus souvent utilisée (28).

Avec cette technique, le taux de réussite approche les **45 %** (4).

La réussite de l'insémination artificielle dépend de nombreux facteurs, tels que le moment de l'insémination par rapport au moment d'ovulation de la jument, la qualité de la semence, le type de semence utilisé ou encore les conditions sanitaires.

Cette technique permet d'obtenir des taux de gestation très intéressants et est une excellente option pour permettre la reproduction de certains étalons ou de certaines juments non éligibles à la monte naturelle (subfertilité/ infertilité ou limites logistiques).

Certaines causes de subfertilité de la jument ne peuvent cependant pas être contournées par l'insémination artificielle. Ainsi, une jument ne pouvant pas mener une gestation à terme pourra être dirigée vers un programme de transfert embryonnaire.

2. Transfert embryonnaire

Le transfert embryonnaire est une technique de reproduction consistant à transférer l'embryon d'une jument dite donneuse, collecté en moyenne 7 jours après l'ovulation, dans l'utérus d'une jument dite receveuse, dont l'ovulation a eu lieu de zéro à deux jours après celle de la jument donneuse (38).

Cette technique a été introduite pour la première fois en France en 1986 (39).

Le transfert embryonnaire est une technique intéressante pour les juments présentant un haut potentiel génétique et dont on souhaite obtenir plusieurs poulains au cours d'une même saison de monte. Il s'agit souvent de juments ayant une carrière sportive active que l'éleveur ne souhaite pas interrompre à cause d'une gestation en cours, ou alors de juments âgées ou présentant des problèmes gynécologiques (endométrite chronique, incompetence cervicale, ...), qui pourraient les empêcher de mener la gestation à terme (40).

a) Récolte chez la jument donneuse

L'embryon est collecté chez la **jument donneuse** 6,5 à **7,5 jours après l'ovulation** par un **lavage utérin** à l'aide de Ringer Lactate, de PBS ou de liquide de collecte spécifique (cf. figures 18 et 19) (40).

Le liquide collecté est filtré, puis l'embryon est cherché sous une loupe binoculaire dans une hotte stérile. Au moment de la récolte, l'embryon fait environ **300 µm**. Sa qualité est évaluée, puis il est lavé de manière à éliminer les cellules de desquamation du liquide utérin (39).

Enfin, il est conditionné dans une **paillette**, puis transféré dans l'utérus de la **jument receveuse** ou bien **réfrigéré** pour permettre son acheminement vers le centre où se trouve la jument receveuse. La réfrigération de l'embryon s'effectue à **4 °C** et permet de maintenir un embryon viable pendant **24 heures** (40).

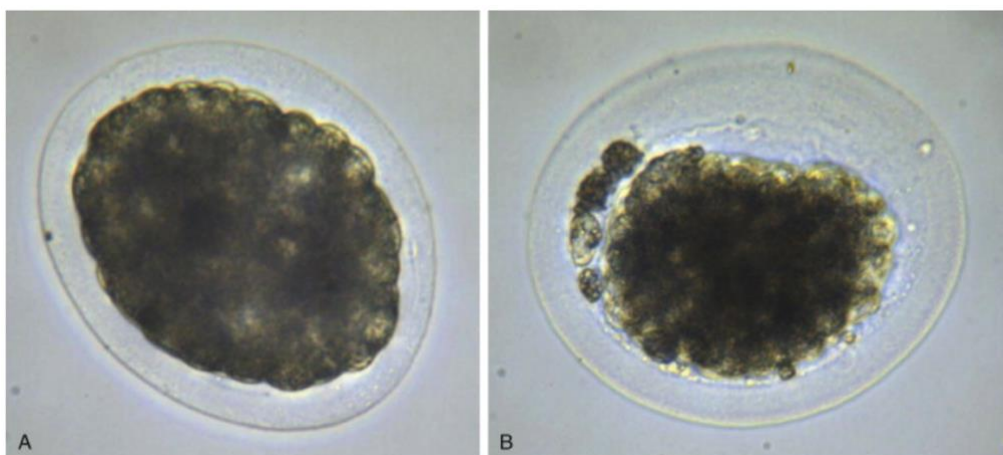


FIGURE 18: IMAGE D'UN EMBRYON RECOLTE AU STADE MORULA - 6,5 JOURS
SOURCE : RIERA, 2009 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (38)

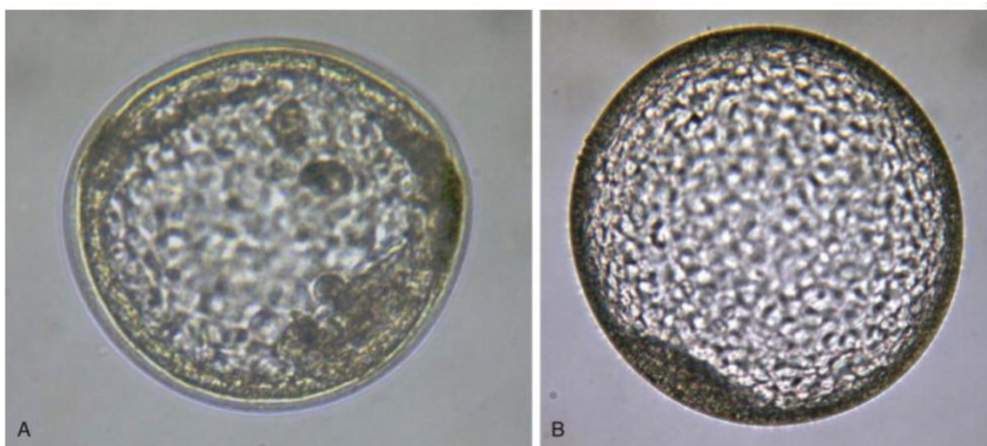


FIGURE 19: IMAGE D'UN EMBRYON RECOLTE AU STADE BLASTOCYTE - 7,5 JOURS
SOURCE : RIERA, 2009 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (38)

Il est également possible de **cryoconserver** l'embryon récolté pour permettre un transfert ultérieur chez une jument receveuse (cf. partie II-B-3-d)) Cette dernière technique a pour avantage de ne pas synchroniser les juments donneuses et receveuses et de créer une banque d'embryons d'une jument donneuse à haut potentiel génétique dans le cas où le premier transfert ne fonctionnerait pas.

Le **taux de récolte** d'embryons est généralement de **70 %** mais il est influencé par de nombreux facteurs, tels que la fertilité intrinsèque de la jument ou de l'étalon, la gestion de cette dernière et de son insémination artificielle, ou encore la technique de récolte de l'embryon, et, notamment, le moment de récolte (38).

b) Transfert chez une jument receveuse.

Le transfert d'embryons nécessite la présence d'une ou plusieurs **jument(s) receveuse(s)**. Ces dernières sont **sélectionnées** avec attention car elles contribuent à la réussite de la procédure. Les critères de sélection reposent sur l'état de santé de la jument et son score corporel (il ne faut pas qu'elle soit trop maigre ou trop grosse), son comportement (il faut qu'elle soit facile à manipuler), sa taille par rapport à la jument donneuse (taille légèrement plus grande que la donneuse), son âge (idéalement entre 4 et 10 ans), la qualité de son cycle ovarien et la santé de son tractus reproducteur (38).

Une fois la ou les juments receveuses sélectionnées, elles sont **synchronisées** avec les juments donneuses. En effet, il a été démontré que le taux de réussite du transfert embryonnaire était optimal si la jument receveuse ovule 24 heures avant à 48 heures après la jument donneuse (38).

Le transfert embryonnaire peut se faire par une **technique chirurgicale** ou **non-chirurgicale**. En pratique, cette dernière, la non-chirurgicale, est la plus utilisée car plus facile à mettre en place et moins invasive pour la jument.

Une fois la jument receveuse préparée (de la même manière que pour une insémination artificielle), l'embryon est introduit dans l'utérus. Cela peut se faire selon la **technique de Douglas et al** (41)., notamment si l'embryon est récolté à J8 ou J9 post-ovulation. L'embryon est alors placé dans une pipette d'insémination stérile de 55 mm de diamètre, entre deux colonnes d'air et deux colonnes de milieu, et cette pipette est fixée à une seringue stérile de 10 mL. L'embryon est ensuite déposé dans le corps de l'utérus.

Lorsque l'embryon est plus petit, la **technique de Pashen** (42) est utilisée. L'embryon est aspiré stérilement dans une paillette de 0,5 mL de manière à ce qu'il y ait 0,2 mL de milieu de transfert, 0,05 mL d'air, 0,10 mL de milieu contenant l'embryon, 0,05 mL d'air, 0,1 mL de milieu de transfert. Le transfert de l'embryon se fait ensuite de la même manière qu'une insémination artificielle de semence congelée (38).

Cette biotechnologie de la reproduction est de plus en plus utilisée puisqu'elle représente 2,3 % des techniques de reproduction en 2022 d'après les haras nationaux (24). Elle présente un **taux de gestation par cycle** d'environ **35 %** (40) avec un **taux de gestation à 14 jours** de **65 à 85 %** et un **taux de gestation à 45 jours** de **50 à 75 %** d'après l'IFCE (39). Le taux de gestation peut être affecté par la qualité de l'embryon, son âge, le matériel et le milieu de transfert utilisé, mais également par des facteurs de fertilité intrinsèques à la jument receveuse (38).

Le transfert embryonnaire consiste au transfert d'un embryon de 6 à 9 jours récolté chez une jument donneuse, puis transféré chez une jument receveuse dont l'ovulation a eu lieu 24 heures avant à 48 heures après la jument donneuse.

Le transfert de l'embryon peut s'effectuer directement après collecte et préparation de l'embryon ou à la suite de la congélation de ce dernier.

Actuellement l'insémination artificielle et le transfert embryonnaire sont les techniques de reproduction assistées les plus utilisées dans l'espèce équine en raison de leur accessibilité autant financière que logistique par les éleveurs et les vétérinaires mais également par leur taux de réussite.

Néanmoins, au cours de ces dernières années, d'autres techniques de reproduction ont vu le jour dans l'espèce équine et sont commercialisées car elles présentent d'autres intérêts que nous allons voir dans la partie suivante.

B. Production *in vitro* d'embryons

Les **biotechnologies de 3^{ème} génération** correspondent à la **production *in vitro* d'embryons**. Ces biotechnologies ont commencé à être utilisées dans les années 1990 mais leur taux de réussite encore faible a retardé leur commercialisation (43). Ces biotechnologies permettent d'une part l'utilisation de spermatozoïdes de « faible qualité » (44), et d'autre part la reproduction de jument présentant des problèmes au niveau de l'ovulation, de l'oviducte ou encore de l'utérus, mais également de juments âgées pour lesquelles le transfert embryonnaire et l'insémination artificielle ne donnent aucun résultat (45).

La production *in vitro* d'embryons est également une technique permettant une manipulation moindre des juments et une absence de perturbation de leur cycle d'entraînements ce qui la rend attractive pour les éleveurs (46). En effet, la ponction d'ovocytes peut se réaliser à n'importe quel moment de l'année.

La collecte et la manipulation des ovocytes d'équidés ainsi que la manipulation des embryons produits *in vitro* à partir de ces derniers sont soumis à des contrôles sanitaires et des réglementations définies par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé animale) (47).

1. Ponction d'ovocyte (OPU)

Les **ovocytes** peuvent être récoltés à partir de **follicules matures**, dont la maturation peut avoir été induite par l'utilisation d'hormone lutéinisante, ou de **follicules immatures**. La récolte se fait par **voie trans-vaginale échoguidée**.

a) Préparation de la jument

La procédure n'étant pas anodine, elle nécessite la sédation et l'analgésie de la jument donneuse.

L'**analgésie** s'effectue à l'aide de Flunixin meglumine (300-500 mg) et de N-butylscopolamine (100-150 mg) (44).

Concernant la **sédation**, il y a une généralement association de butorphanol (5-10 mg) avec des alpha-2 agonistes (xylazine 150-400 mg ou détomidine 2-5 mg) (44).

Dans le cas de récoltes d'ovocytes provenant de follicules immatures, la procédure de récoltes est plus longue, donc des doses répétées de détomidine sont souvent utilisées. Il est également possible d'administrer de l'acépromazine (10-20 mg) chez les juments nerveuses, cependant cela favorise l'apparition de pneumovagin (44).

Une fois la jument sédaturée, elle est placée dans une barre d'examen et un lavage de la région périnéale est effectué.

b) Protocole de prélèvement

Le prélèvement s'effectue à l'aide d'une **aiguille à double lumière**, permettant une aspiration et une injection de liquide dans les follicules simultanément. Elle est reliée à une **bouteille de collecte** et à une **pompe d'aspiration** (cf. figure 20) (44). De nombreux **milieux stériles**, maintenus à **38 °C** environ (température corporelle de la jument) peuvent être utilisés pour récolter les ovocytes. Les milieux les plus utilisés, et permettant d'obtenir les meilleurs résultats, sont les solutions préparées de flush d'embryon ou le milieu « Medium 199 » (44). Ces milieux permettent de maintenir l'ovocyte dans un état de quiescence jusqu'à sa micromanipulation au laboratoire.



FIGURE 20: ILLUSTRATION D'UNE PONCTION D'OVOCYTE
SOURCE : BRINSKO ET AL., 2011 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (17)

c) Types de follicules pouvant être récoltés

L'aspiration folliculaire des ovocytes peut se faire sur **des follicules immatures** qui mesurent au minimum **5 à 10 mm de diamètre**, permettant ainsi de s'affranchir des contraintes de suivi échographique fréquent et d'induction de l'ovulation. Cependant, la récolte d'ovocytes provenant de follicules immatures nécessite la maturation des ovocytes *in vitro* par la suite (44).

La ponction peut également se faire à partir de **follicules en cours de maturation**. Pour cela, il faut que l'ovulation de la jument soit induite par des analogues de la GnRH (desloréine) ou de l'hCG. La récolte a alors lieu 20 à 24 heures après l'induction et jusqu'à 36 à 40 heures post-induction. Cette technique permet de ne pas procéder à une maturation *in vitro* des ovocytes, cependant elle ne permet de récolter qu'un ou deux follicules par cycle (44).

Les **taux de réussite** de ces récoltes sont de l'ordre de 50 à 70 % pour les ovocytes immatures contre 70 % pour les ovocytes matures (46).

La procédure idéale réside dans une récolte simultanée de follicules en cours de maturation et de follicules immatures, également présents lors de la procédure.

La récolte d'ovocytes peut également s'effectuer à partir **d'ovaires de jument en post-mortem**, donnant la possibilité de conserver le potentiel génétique de la jument morte accidentellement ou atteinte de pathologie nécessitant son euthanasie (44).

d) *Recherche et maturation des ovocytes*

Une fois le liquide folliculaire prélevé, les opérateurs recherchent des ovocytes sous une **loupe binoculaire** dans une **hotte à flux laminaire horizontal *biblio***. Il est important de définir le stade d'évolution de l'ovocyte pour permettre une **culture** et une **maturation *in vitro*** de ce dernier. Cela se fait à partir de son aspect morphologique, mais également de l'aspect des cellules de la granulosa. Une fois les ovocytes identifiés et isolés, ces derniers peuvent être transportés ou cultivés *in vitro* pour permettre leur maturation.

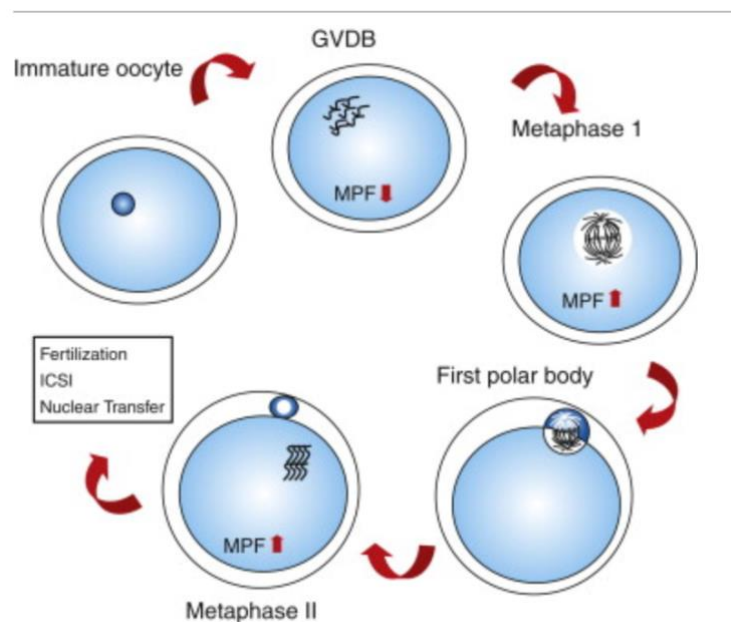


FIGURE 21: ILLUSTRATION DE LA CULTURE *IN VITRO* D'OVOCYTES

SOURCE : ALVARENGA ET LANDIM-ALVARENGA, 2009 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (48)

Légende :

Immature oocyte = ovocyte immature
Fertilization = fécondation
ICSI = Intra-Cytoplasmic Sperm Injection =
injection intracytoplasmique de spermatozoïde
Nuclear Transfer = Transfert nucléaire
Metaphase II = métaphase II

MPF = Maturation Promoting Factor = facteur de
stimulation de la maturation
First polar body = corps polaire primaire
Metaphase I = métaphase I
GVDB = Germinal Vesicle Breakdown = rupture
de la vésicule germinale

L'ovocyte est considéré comme mature lorsqu'il atteint le **stade métaphase II avec extrusion du corps polaire** (cf. figure 21). Il existe différents milieux de maturation des ovocytes. L'**atmosphère de culture** est souvent de 5 % de CO₂ et d'air (un labo fait 5 % CO₂, 5 % O₂ et 90 % N₂). Les **températures d'incubation** vont souvent de 37,9 °C à 38,5 °C. La durée de culture est souvent de **40 à 46 heures** (44).

Dans le cas d'ovocytes immatures, les **hormones** suivantes sont ajoutées au milieu : FSH (5 mU), en général, mais possible de faire LH (1 µg/mL), FSH (15 ng/mL), estradiol (1 µg/mL), progestérone (200 ng/mL), insuline like growth factor (10 mg/mL) et epidermal growth factor (100 ng/mL) (44).

Les ovocytes sont récoltés par voie trans-cervicale échoguidée à partir de follicules matures ou immatures. Les protocoles utilisés associent généralement les aspirations de ces deux types de follicules. Lorsque l'ovocyte récolté est immature, il doit être cultivé dans des milieux de maturation spécifiques.

Une fois l'ovocyte mature, il sera soit micromanipulé pour permettre la production *in vitro* d'un embryon, soit cryoconservé. Avant les manipulations de l'ovocyte, ce dernier peut être transporté vers un autre laboratoire.

2. Cryoconservation des ovocytes

La **cryoconservation** des ovocytes peut avoir de nombreux intérêts, tels que le stockage d'information génétique d'espèces en voie de disparition, le stockage d'ovocytes de jeunes juments n'ayant pas encore fait leur preuve, ou encore la création de banques d'ovocytes pour de futures études sur les biotechnologies de la reproduction.

Il existe actuellement de nombreux protocoles pour la **vitrification** des ovocytes. Les deux principaux protocoles disponibles sont : le protocole **de courte exposition avec de hautes concentrations en agent cryoprotecteur**, décrit par Tharasanit et al (49)., et le **protocole de longue exposition avec des concentrations faibles en agent cryoprotecteur**, mis en place pour les ovocytes bovins et humains par Kuwayama et al (50). Les étapes de ces protocoles sont résumées dans le tableau II.

Ortiz-Escribano et al (51)., ont mis en évidence en 2018 qu'il n'y avait pas différence entre ces deux protocoles sur le taux de clivage des blastocytes obtenus *in vitro*, qui était de 7 %.

TABLEAU II: RECAPITULATIF DES PROTOCOLES DE VITRIFICATION ET DE RECHAUFFEMENT DES OVOCYTES ACTUELLEMENT DISPONIBLES

	Protocole de vitrification long		Protocole de vitrification rapide	
	Solution	Temps	Solution	Temps
Solution de conservation (SC)	TCM199Hanks + 20% FBS	1 min	TCM199Hanks + 0,014% BSA	1 min
Solution d'équilibration (SE)	SC + 7,5% EG + 7,5% DMSO	10 min	SC + 10% EG + 10% DMSO	25 min
Solution de vitrification (SV)	SC + 15% EG + 15% DMSO + 0,5mol/L glucose	1 min	SC + 20% EG + 20% DMSO + 0,5 mol/L glucose	15 min
Réchauffement 1	SC + 1mol/L glucose	1 min	SC + 0,5 mol/L glucose	5min
Réchauffement 2	SC + 0,5 mol/L glucose	3 min		
Réchauffement 3	SC + 0,25 mol/L glucose	5 min		

SOURCE : TRADUIT D'APRES ORTIZ-ESCRIBANO ET AL., 2018 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (51)

Légende :

FBS = Fetal Bovine Serum = sérum fœtal de bovin

EG = Ethylen Glycol = éthylène glycol

DMSO = Dymethyl sulfoxyde = sulfoxyde de dyméthyle

BSA = Bovine Serum Albumin = albumine sérique bovine

La cryoconservation des ovocytes s'effectue par vitrification avec une congélation courte ou rapide. Cette cryoconservation peut s'effectuer à partir d'ovocytes matures ou d'ovocytes immatures. Cependant, il a été démontré que les ovocytes matures survivaient mieux à la cryoconservation (52).

Cette cryoconservation peut avoir de nombreux intérêts, tels que le stockage d'informations génétiques d'espèces en voie de disparition, le stockage d'ovocytes de jeunes juments n'ayant pas encore fait leurs preuves, ou encore la création de banques d'ovocytes pour de futures études sur les biotechnologies de la reproduction.

3. FIV-ICSI

Une fois les ovocytes décongelés, ils sont aptes à être micromanipulés de manière à obtenir un embryon produit *in vitro*. En équine, la production *in vitro* d'embryon se fait par ICSI, car la FIV (fécondation *in vitro*) ne fournit, à l'heure actuelle, pas de résultats efficaces (53).

Il existe encore peu d'études sur le taux de gestation après l'ICSI dans l'espèce équine, du fait de la faible utilisation de cette technique et de sa nouveauté. Il serait possible d'atteindre un **taux de gestation de 55 à 80 %**, mais le taux de **pertes précoces** d'embryons serait plus élevé que pour les inséminations artificielles, les saillies naturelles et les transferts embryonnaires (46). Par conséquent, le **taux de gestation au-delà de 90 jours** pour un embryon issu d'ICSI serait uniquement de l'ordre **de 60 %**.

Le taux de réussite de cette procédure est influencé par différents facteurs, tels que l'étalon, mais également le lot de semences utilisé, et notamment la technique utilisée pour préparer la semence. Cependant, la jument donneuse d'ovocytes aurait deux fois plus d'influence sur le taux de réussite que l'étalon, notamment sur le taux de récolte des ovocytes (46).

Il n'y actuellement pas de résultats efficaces de l'utilisation de la fécondation *in vitro* pour l'obtention d'embryons produits *in vitro* dans l'espèce équine.

a) *Procédure de l'ICSI*

Pour permettre l'ICSI, les **ovocytes**, au stade **métaphase II avec extrusion du bord polaire**, sont dénudés de leur cumulus par incubation dans des milieux contenant des hyaluronidases et par micromanipulation.

L'objectif est d'introduire un spermatozoïde dans l'ovoplasme de l'ovocyte. Pour cela un **spermatozoïde** morphologiquement normal et **progressif** est sélectionné et rendu **non motile** par fixation de la pipette au milieu du spermatozoïde ou utilisation des pulsations du piezo drill (54). L'ovocyte est maintenu par une légère succion d'une pipette de maintien et est positionné de façon à ce que le corps polaire soit à 6 ou 12 heures. La pipette d'injection est positionnée à 3 heures et le **piezo drill** est utilisé pour traverser la zone pellucide. Le spermatozoïde est placé au sommet de la pipette d'injection. Cette dernière aspire une partie de l'ovoplasme puis le réinjecte avec le spermatozoïde. La figure 22 illustre cette procédure.

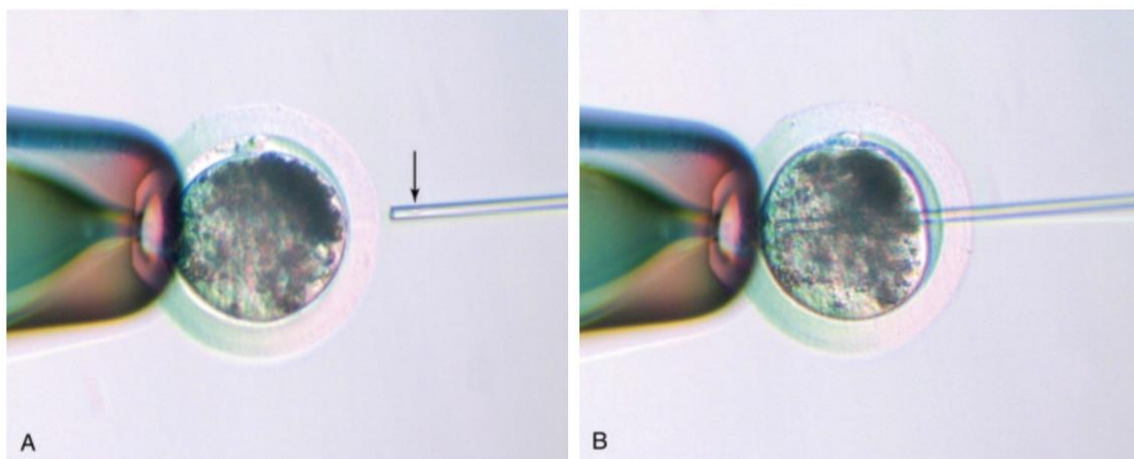


FIGURE 22: PHOTOGRAPHIE DE L'ICSI REALISE SOUS LOUPE-BINOCULAIRE
SOURCE : BRINSKO ET AL., 2011 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (17)

L'embryon est ensuite placé dans un milieu de culture pour permettre sa maturation jusqu'au stade blastocyte, où il pourra être transféré dans l'oviducte de la jument porteuse.

b) Maturation des embryons

La **maturation** des embryons a pour objectif d'atteindre le stade **blastocyte** à **7-10 jours** (45).

Cela est possible *in vivo* dans l'oviducte de mouton, ce qui permet un meilleur taux de réussite (54). Cependant, en pratique, cela est peu utilisé car contraignant et éthiquement discutable.

D'après l'article publié par Carnevale et al (54)., en 2012, le **milieu de maturation** le plus utilisé est le DMEM/F12 avec 10 % de sérum fœtal de bovin, dans une atmosphère à 5 % O₂, 5 % CO₂ et 90 % N₂ et une température de 38,2-38,5 °C. Le pourcentage de blastocytes obtenus par ovocyte injecté est actuellement de l'ordre de **17 à 20 %**, en considérant des laboratoires qui réalisent cette technique en routine (55).

c) Transfert d'embryon

Le **transfert de l'embryon** peut se faire directement après fécondation *in vitro* de l'ovocyte par ICSI. Cette technique est chirurgicale, nécessitant une laparotomie pour introduire les embryons à 3 cm de l'oviducte. Le taux de gestation avec cette technique serait aux alentours de 58 % (54).

Cependant, la technique la plus utilisée est un transfert d'embryon après maturation *in vitro* des ovocytes fécondés. Le taux de gestation obtenu serait alors aux alentours de 71 %. Pour cela, l'embryon doit souvent être transporté du laboratoire vers le site de transfert. Un transport à 5 °C pendant 24 heures n'altère pas le taux de gestation obtenu (56).

Une autre possibilité pour l'embryon produit est d'être cryoconservé, dans l'objectif d'être implanté ultérieurement chez une jument receveuse. Cela permet, entre autres, de s'affranchir d'une synchronisation des juments receveuses.

L'ICSI est une biotechnologie de la reproduction permettant de produire des embryons *in vitro*. Elle implique le transfert d'un spermatozoïde rendu non motile dans l'ovoplasme de l'ovocyte puis la maturation du zygote obtenu jusqu'au stade blastocyte. Ce blastocyte peut ensuite être cryoconservé ou non.

Elle est d'un intérêt croissant pour les éleveurs puisqu'elle permet la reproduction de juments ou d'étalons subfertiles pour lesquels les autres biotechnologies qualifiées de plus « classiques » sont inefficaces. De plus, elle permet à l'éleveur de concilier la carrière sportive et reproductive des juments. Ainsi, le nombre de poulains issus de l'ICSI augmente même si leur nombre reste encore faible (45).

4. Cryoconservation des embryons

La première gestation issue d'un embryon équin congelé survint en 1981 et le premier poulain issu d'un embryon congelé naît en 1982. Cependant, en 2010, moins de 2 % des embryons équins récoltés sont congelés (57).

En effet, de nombreux paramètres participent au ralentissement du développement de cette technique : le coût, l'impossibilité d'induire des superovulations chez la jument (permettant une récolte importante d'embryons), le taux de gestation très faible suite au transfert d'embryons cryoconservés de plus de 300 µm de diamètre, la difficulté de récolter *in vivo* des embryons suffisamment précocement pour qu'ils puissent être vitrifiés et les sensibilités individuelles des embryons à la cryoconservation.

Cependant, la **cryoconservation des embryons** présente de nombreux avantages, tels que la possibilité de ne pas synchroniser tout un lot de juments porteuses pour le transfert d'embryons, de transporter les embryons à l'international, de stocker sur du long terme des embryons obtenus *in vitro* ou *in vivo*, ou encore de diagnostiquer certaines maladies génétiques héréditaires précocement.

Actuellement, il existe deux techniques majeures de cryoconservation des embryons équins : la vitrification et la congélation lente. Pour les deux techniques, la décongélation de l'embryon se fait ensuite en le plaçant dans un bain marie à 37 °C pendant 20 secondes avant transfert dans la jument porteuse (58).

Des **kits de congélation lente** ou de **vitrification d'embryons** sont en cours de mise sur le marché pour une utilisation accessible sur le terrain. Cependant, des études supplémentaires sont encore nécessaires pour commercialiser cette technique à grande échelle (59).

La cryoconservation des embryons présente à l'heure actuelle un enjeu majeur car elle permettrait de créer une banque de patrimoine génétique prêts à être implanté chez une jument receveuse.

Cependant, elle n'est pas encore une pratique proposée régulièrement aux clients car des études supplémentaires sont encore nécessaires pour obtenir des taux de réussite satisfaisants.

5. Test génétique pré-implantatoire des embryons

Le **diagnostic pré-implantatoire** de l'embryon par **biopsie cellulaire** permettrait de déterminer certaines caractéristiques de l'embryon, en rapport avec des maladies génétiques, des intérêts agronomiques, la couleur de la robe ou encore le sexe de l'animal à venir. Cela est permis par la cartographie du génome des équidés grâce au « Horse Genome Project », ou projet de génome équin (60).

Les biopsies embryonnaires peuvent se faire par **micro-section** ou **par micro-aspiration**. Cependant, d'après l'étude réalisée par Guinot et al (61), la technique de micro-section est délétère pour l'embryon.

Le principe de la biopsie par aspiration est d'aspirer 70 % du fluide blastocœlique et des cellules du trophoctoderme de l'embryon par introduction d'une pipette à l'aide d'un système **Piezo**. Il est important que l'échantillon contienne un minimum de 10 cellules pour permettre des diagnostics pré-implantatoires suffisants (62).

Guignot et al (63)., ont montré que les biopsies des embryons pour les tests génétiques à l'aide de piezo drill n'affectaient pas le taux de survie des blastocytes ni le taux de gestation qui en découlait. De plus, il a été démontré par Herrera et al (62)., que des gestations avec un taux de réussite similaire pouvaient être obtenues si l'aspiration se faisait avec une micropipette conventionnelle. Ils ont également souligné que le génotypage de l'embryon pouvait se faire à partir de n'importe quelle taille d'embryon sans influence sur le taux de gestation obtenu après transfert.

Ces biopsies sont ensuite soumises à des **PCR** pour permettre le **sexage des embryons** ou d'autres tests génétiques plus spécifiques de certaines pathologies à prédisposition génétique.

D'après Choi et al (64)., l'embryon reste viable lorsqu'il est maintenu 10 heures après la biopsie. Cela permet d'effectuer une PCR pour le génotypage de l'embryon avant son transfert dans une jument porteuse.

a) Sexage des embryons

Le **sexage des embryons équins** peut être intéressant dans certaines races telles que le Polo Argentín, où les femelles sont privilégiées par rapport aux mâles (65).

Le sexage des embryons est effectué par **PCR duplex** pour amplifier le fragment génomique spécifique du chromosome X et celui du chromosome Y. Il a été également démontré que le génotypage de l'embryon pouvait se faire à partir de n'importe quelle taille d'embryon sans influence sur le taux de gestation obtenu après transfert (66).

b) *Autres tests génétiques*

Choi et al (66)., ont démontré en 2015 que les diagnostics génétiques pré-implantatoires présentant une précision globale de > 95 % lorsqu'ils sont effectués à partir de biopsies embryonnaires à l'aide d'un piezo drill et de l'amplification du génome entier. Ils permettraient alors de tester les embryons pour les mutations génétiques associées à certaines maladies équines (67). Ces maladies sont récapitulées dans le tableau III.

TABLEAU III: RECAPITULATIFS DES MALADIES EQUINES ASSOCIEES A DES MUTATIONS GENETIQUES

Maladie	Abréviation	Race affectée	Mode de transmission
Immunodéficience sévère combinée	SCID	Arabe	Autosomique récessive
Hyperkaliémie périodique paralysante	HYPP	Quarter Horse et chevaux croisés Quarter Horse	Autosomique dominant
Syndrome léthal du poulain blanc overo	OLWS	Principalement les Paint Horse	Autosomique récessive
Asthénie dermique héréditaire localisée équine	HERDA	Quarter Horse et chevaux croisés Quarter Horse	Autosomique récessive
Déficiencia en enzyme branchante du glycogène	GBED	Quarter Horse, Paint Horse	Autosomique récessive
Myopathie de stockage des polysaccharides	PSSM	Quarter Horse, Paint Horse, Appaloosa, Chevaux à sang chaud, Chevaux de trait	Autosomique dominant
Epidermolyse bulleuse jonctionnelle	EBJ	Chevaux de trait, chevaux de race belge, Chevaux de selles américains	Autosomique récessive
Hyperthermie maligne	MH	Quarter Horse	Autosomique dominant

SOURCE : TRADUCTION D'APRES LE TABLEAU DE ANTczak., 2009 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (60)

Légende:

SCID = Sever Combined Immunodeficiency Disease = immunodéficience sévère combinée
 HYPP = Hyperkalemic Periodic Paralysis = hyperkaliémie périodique paralysante
 OLWS = Overo Letal White Syndrome = syndrome léthal du poulain blanc overo
 HERDA = Hereditary Equine Regional Dermal Asthenia = asthénie dermique héréditaire localisée équine

GBED = Glycogen Branching Enzyme Deficiency = déficiencia en enzyme branchante du glycogène
 PSSM = PolySaccharide Storage Myopathy = myopathie de stockage des polysaccharides
 MH = Maligne Hypertermia = hyperthermie maligne
 EBJ = Epidermolyse Bulleuse Jonctionnelle

Par exemple, l'hyperkaliémie périodique paralysante (HYPP) est une pathologie musculaire due à une mutation du gène codant la pompe à sodium voltage-dépendant des muscles squelettiques. Sa transmission est autosomale codominante et est présente cliniquement chez 1,5 % des Quarter Horse et 4,5 % des Paint Horse (68). Cette pathologie est cliniquement gérable par le vétérinaire, mais elle peut tout de même être fatale si les épisodes de paralysies musculaires sont sévères.

Les tests génétiques pré-implantatoires des embryons présentent un intérêt grandissant de la part des vétérinaires et des éleveurs car ils permettent d'éliminer les embryons présentant des séquences génomiques délétères. La mise en place des banques d'embryons rend ces tests d'autant plus intéressants.

Le séquençage du génome équin par le Broad Institut a permis de développer des tests génétiques pour certaines maladies associées à des mutations génétiques. Cela a un intérêt grandissant pour éradiquer ces maladies notamment en effectuant des diagnostics pré-implantatoires sur des embryons produits *in vitro* ou collectés *in vivo*. Ces diagnostics s'effectuent par biopsie de l'embryon.

Il est également possible d'effectuer un sexage de ces embryons lors des diagnostics pré-implantatoires.

En somme, il est actuellement possible de prélever des ovocytes chez les juments dans le but de produire un embryon *in vitro* ou de préserver son patrimoine génétique de cette jument. La production *in vitro* d'embryons est particulièrement intéressante pour des juments dont la fécondité est altérée par différents facteurs.

Cette production *in vitro* présente également un intérêt grandissant avec la possibilité de cryoconserver les embryons et d'effectuer des tests génétiques pré-implantatoires.

Des études supplémentaires sont néanmoins nécessaires avant de commercialiser ces procédures à grande échelle. Par ailleurs, la récolte d'ovocytes peut présenter un intérêt pour le transfert d'ovocytes dont l'objectif est la production *in vivo* d'embryons.

C. Transfert d'ovocytes

Le transfert d'ovocytes permet de s'affranchir des problèmes de reproduction liés à l'oviducte, à l'utérus et au col de l'utérus. Les ovocytes transférés sont généralement récoltés par OPU, puis transférés dans l'oviducte d'une jument receveuse après maturation *in vitro*, si besoin.

Le transfert d'ovocytes peut se faire avec des juments cyclées et non cyclées, les taux de gestation n'étant pas significativement différents entre les deux procédures (69). Lorsque les juments sont non cyclées, une reprise de la cyclicité doit être provoquée.

1. Transfert d'ovocytes intra-salpingien

Le premier poulain issu d'un transfert d'ovocytes est né en 1980 mais il a fallu attendre 1995 pour obtenir un poulain issu du transfert d'ovocyte avec un taux de réussite intéressant (92 %).

Cette technique de reproduction assistée permet d'obtenir des poulains à partir de juments présentant des troubles de la reproduction, tels que des **défauts d'ovulation**, des **infections ou adhérences utérines**, des **lésions cervicales** et d'autres anomalies du tractus génital non forcément diagnostiquées de façon précise (69).

Le transfert d'ovocytes intra-salpingien se fait par **laparotomie**. Une fois le péritoine ponctionné, l'ovaire est extériorisé et l'ovocyte est déposé à l'aide d'une pipette dans l'**oviducte** via l'infundibulum (cf. figure 23).

Il est important **d'aspirer le follicule pré-ovulatoire** de la **jument receveuse** et d'en extraire l'ovocyte, car si la ponction de ce dernier est incomplète le risque de produire un embryon issu de la receveuse est de 30 % (40).

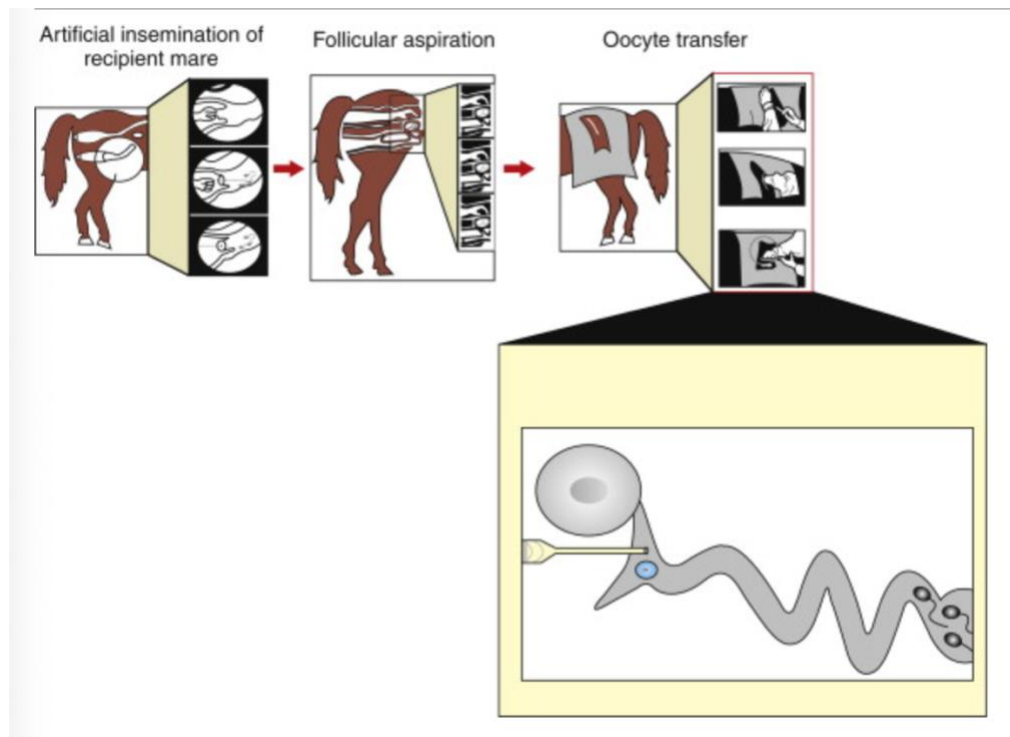


FIGURE 23: ILLUSTRATION DE LA PROCEDURE DU TRANSFERT INTRA-SALPINGIEN D'OVOCYTE
 SOURCE : ALVARENGA ET LANDIM-ALVARENGA, 2009 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (48)

Légende :

*Artificial insemination of recipient mare =
 Insémination artificielle de la jument receveuse*

Follicular aspiration = aspiration folliculaire

Oocyte transfer = transfert d'ovocyte

La **jument receveuse** est ensuite **inséminée** avec une grande quantité de spermatozoïdes motiles (**1.10⁹ à 2.10⁹**) (69). Il est recommandé d'effectuer l'insémination jusqu'à 12 heures avant le transfert et jusqu'à 2 heures après, mais si la semence est de faible qualité, d'inséminer 2 heures après le transfert uniquement (48).

Le **taux de développement d'une vésicule embryonnaire** après transfert d'ovocytes intra-salpingien est de 92 % lorsque l'ovocyte est collecté chez une jument âgée de 6 à 10 ans, tandis qu'il chute à 31 % lorsque la collecte a lieu chez une jument âgée de 20 à 26 ans. Cela peut être lié au fait que les ovocytes des juments âgées présentaient plus d'anomalies morphologiques que ceux des juments jeunes (69). Cette technique peut également être utilisée lors de la mort d'une jument dont on souhaite conserver le potentiel génétique.

Le transfert d'ovocytes intra-salpingien consiste à transférer un ovocyte mûri *in vivo* ou *in vitro* suite à une procédure d'OPU, dans l'oviducte d'une jument receveuse. Cette technique permet de s'affranchir de certaines causes d'infertilité ou de subfertilité de la jument donneuse ou d'utiliser le potentiel génétique d'une jument morte.

Actuellement, toutes juments confondues, le taux de blastocystes pouvant être obtenus est aux alentours de 85 %, ce qui en fait une technique intéressante pour l'éleveur et le vétérinaire (40).

2. Gamete intrafallopian transfert (GIFT)

La technique **GIFT** consiste à transférer **simultanément** l'ovocyte et les spermatozoïdes dans l'oviducte de la jument receveuse. La quantité de spermatozoïdes utilisée est alors plus faible (**2 à 5 10⁵ spermatozoïdes motiles**). Cette technique permettrait donc d'obtenir des poulains à partir d'**étalons subfertiles**, de **semence sexée** ou de **semence congelée** (69).

Le **taux de développement embryonnaire** obtenu par GIFT en utilisant des semences fraîches et des ovocytes de juments entre 6 et 10 ans varie entre 27 et 82 %. Cependant, lors d'utilisation de semences réfrigérées ce taux chute à 25 % et, lors d'utilisation de semences congelées, il chute à 8 % (69). Par conséquent, même si cette procédure permet d'utiliser des doses de spermatozoïdes plus faibles, ces taux de réussite la rendent moins intéressante pour l'éleveur et le vétérinaire.

De plus, avec le développement de l'ICSI, qui est une technique beaucoup moins invasive pour la jument receveuse, le transfert d'ovocytes n'est pas la technique de choix pour les étalons et les juments subfertiles (70).

3. Transfert d'ovocyte intra-folliculaire (TOIF)

L'objectif du **TOIF** est le transfert d'ovocytes d'une jument donneuse dans le follicule pré-ovulatoire d'une jument receveuse. Après collecte des ovocytes (71) par OPU chez une jument donneuse, le follicule pré-ovulatoire de la jument receveuse est ponctionné pour aspirer quelques millilitres de liquide folliculaire puis les ovocytes sont injectés dans le follicule et le circuit est rincé avec le liquide folliculaire aspiré précédemment (40).

Une étude de Deleuze et al., apparue en 2009, a permis de mettre en évidence que le **taux de développement embryonnaire** était de 12,8 % après un TOIF réalisé immédiatement après collecte des ovocytes, et de 5,5 % lorsque le TOIF était réalisé à la suite d'une maturation *in vitro* des ovocytes (72).

Le TOIF n'est actuellement pas encore commercialisé mais il pourrait être une alternative peu chère et facile à réaliser face à l'absence d'efficacité des traitements de superovulation chez la jument (40). Cela permettrait de limiter les répétitions des OPU et des transferts embryonnaires chez les juments à haut potentiel génétique.

Le transfert d'ovocytes intra-salpingien ou le GIFT sont des procédures qui consistent à introduire des ovocytes (maturés *in vivo* ou *in vitro*) dans l'oviducte d'une jument receveuse, respectivement avant ou simultanément, au dépôt de spermatozoïdes dans l'utérus.

Néanmoins, leur caractère invasif les rend moins intéressantes que l'ICSI ou le transfert embryonnaire. Seul le TOIF semble avoir un intérêt, en permettant de contrer l'inefficacité de la superovulation chez la jument. Cette technique permettrait, si elle est commercialisée, de créer des banques génétiques à partir du patrimoine génétique d'une seule jument.

Cette conservation du patrimoine génétique est également un des objectifs du transfert nucléaire, dernière biotechnologie développée et mise sur le marché dans l'espèce équine.

D. Transfert nucléaire (= clonage)

Le transfert nucléaire permet d'obtenir un poulain présentant une génétique identique à celle de la jument ou du cheval donneur. Cela permet de conserver la génétique d'un individu, et c'est notamment intéressant pour des hongres qui présentent de très bons résultats en compétition (73). La conservation du potentiel génétique permise par le clonage est également intéressante dans le cas de races d'équidés en voie de disparition telles que le cheval de Przewalski (74). Enfin, le cheval joue un rôle de compagnon pour certains propriétaires, ayant une place à part entière dans leur vie. Ainsi, le clonage pourrait jouer un rôle émotionnel chez ces derniers (74).

Le premier embryon équin produit par transfert nucléaire a vu le jour en 2000 (73). Le premier clone équin issu de cellules fœtales est obtenu en 2003 par Woods et al (75)., et le premier clone équin issu de cellules provenant d'un cheval adulte voit le jour la même année chez Galli et al (76).

Actuellement le transfert nucléaire est proposé dans des programmes commerciaux au sein de certains pays de l'Union Européenne, des États Unis, de l'Australie, de la Nouvelle Zélande mais également de certains pays de l'Amérique du Sud (77). En 2012, il a été estimé à 100, voire 200, le nombre de chevaux issus du transfert nucléaire à travers le monde (78).

1. Procédure

Le transfert nucléaire s'effectue à partir d'ovocytes au **stade métaphase II** de la méiose, dont la maturation a lieu préférentiellement *in vitro* pour augmenter le taux de réussite. Les chromosomes en métaphase et les corps polaires sont retirés par micromanipulation sous microscope à fort grossissement (x 400) pour obtenir un **ovoplaste** (79).

Le patrimoine génétique du donneur est obtenu à partir d'une **biopsie de tissu cutané** de ce dernier, prélevé de façon stérile (80). Le donneur peut être un animal vivant ou un cheval mort depuis moins de quelques jours (selon les conditions de conservation du cadavre). Pour cela une zone de **4 cm x 4 cm** est préparée stérilement pour permettre une **incision cutanée de 2 cm** afin de prélever **2 ou 3 échantillons** (79).

Les **cellules somatiques** du donneur sont cultivées *in vitro* et une des cellules somatiques est sélectionnée pour être associée avec l'ovoplaste par pulsations électriques ou à l'aide d'une micropipette par injection à travers la membrane de l'ovoplaste.

Le produit obtenu est ensuite activé artificiellement ce qui permet la décondensation de la chromatine et le développement embryonnaire par mitose (73).

Le **transfert de l'ovoplaste recombiné activé** dans l'oviducte de la jument porteuse peut se faire directement par laparotomie par les flancs, ou après une maturation *in vitro* de 7 à 8 jours permettant l'obtention d'un blastocyte transféré ensuite par voie vaginale dans l'utérus.

La figure 24 est une représentation schématique synthétisée de cette procédure.

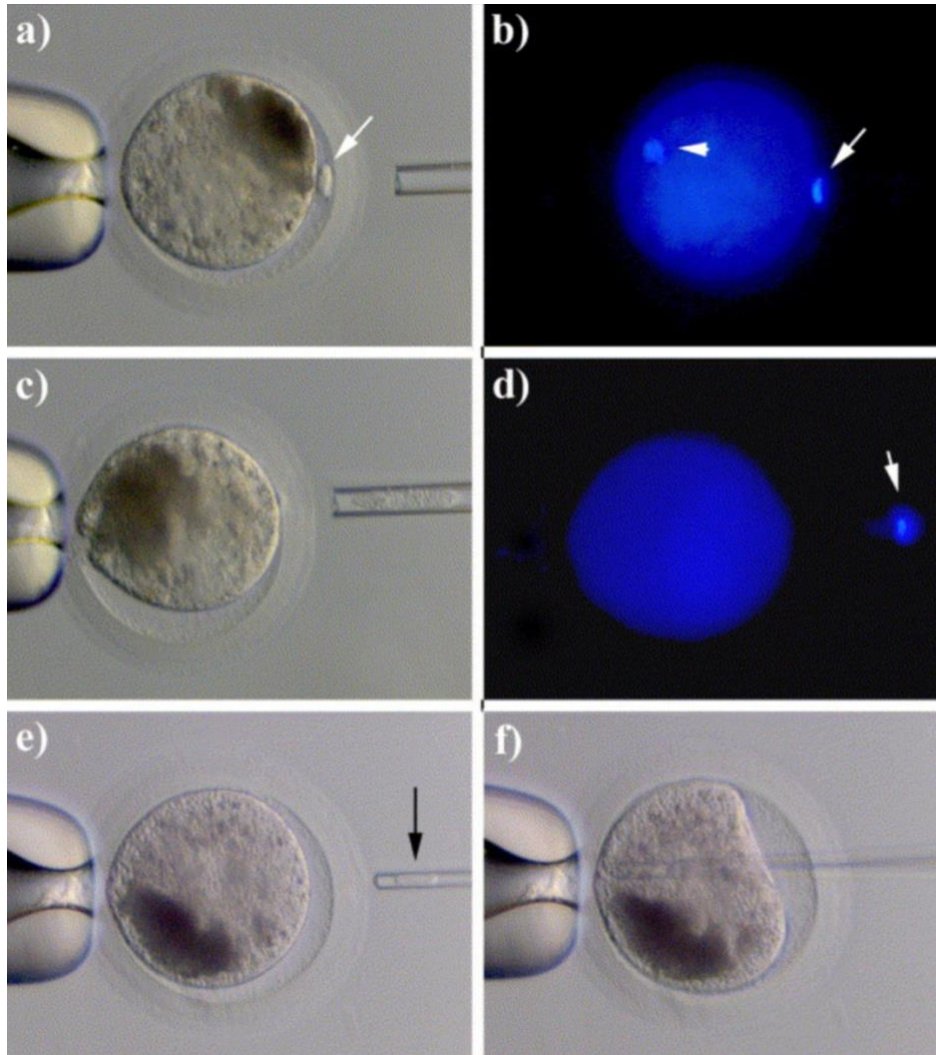


FIGURE 24: PROCEDURE DE TRANSFERT NUCLEAIRE REALISE PAR HINRICH ET CHOI
SOURCE : HINRICH ET CHOI, 2005 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (81)

Légende :

- a) ovocyte mature (stade métaphase ii) avec un corps polaire identifié par une flèche*
(b) même ovocyte avec marquage de l'ADN observé sous microscope avec fluorescence. L'ADN est identifié par la flèche et le plateau de métaphase par la tête de flèche
(c) énucléation de l'ovocyte (d) même procédure sous microscope avec fluorescence
(e,f) injection des cellules somatiques du donneur dans le cytoplasme de l'ovocyte énucléée.

La génétique de la jument donneuse d'ovocytes n'est pas essentielle, cependant il est important de garder en tête que son patrimoine génétique mitochondrial sera transmis au produit issu du clonage.

2. Résultats

D'après les différentes études menées en Italie en 2003 par Galli et al (76)., et celles menées par Hinrichs et al (73)., le taux de développement de blastocytes dans cette procédure est de 1 à 17 %, ce qui est inférieur aux autres méthodes de reproduction assistée commercialisées dans l'espèce équine. Le taux de réussite d'obtention d'un poulain serait, avec ces études, compris entre 0,7 % et 2,7 %. Le facteur limitant apparaîtrait pour le moment être le développement de blastocytes qui est généralement compris entre 1 % et 10 % tandis que le taux de gestation après transfert de l'embryon peut monter jusqu'à 60 % (79).

En 2018, Olivera et al (82)., ont permis de mettre en évidence de meilleurs résultats lors de transfert nucléaire avec l'utilisation de cellules souches mésenchymateuses issues de moelle osseuse.

Des études sont encore nécessaires pour augmenter le taux de réussite et permettre la commercialisation de cette technique. Les résultats pourraient notamment s'améliorer avec le développement de nouvelles méthodes pour l'activation des ovocytes subissant le transfert nucléaire (79).

Le transfert nucléaire, ou clonage, est une biotechnologie au cours de laquelle des cellules somatiques provenant d'un donneur sont introduites dans un ovoplaste, c'est-à-dire un ovocyte dont les chromosomes et les bords polaires sont retirés. Le produit obtenu est ensuite transféré dans le tractus génital d'une jument receveuse pour conduire à la formation d'un poulain.

Actuellement, cette technique n'est pas encore commercialisée à grande échelle mais la poursuite des recherches en cours fournit des résultats prometteurs.

Les biotechnologies de la reproduction sont nombreuses dans l'espèce équine. L'insémination artificielle et le transfert embryonnaire sont déjà largement intégrés dans les méthodes d'élevage et de reproduction des juments et des étalons.

Les autres biotechnologies de la reproduction telles que l'ICSI, le transfert d'ovocytes et le transfert nucléaire sont quant à elles en plein essor. Leurs coûts ne les rendent pas accessibles à tous les éleveurs mais leurs développements récents les amèneront certainement à une application plus large aux cours des prochaines années. En effet, ces dernières biotechnologies confèrent des avantages non négligeables dans la gestion du patrimoine génétique des chevaux et la propagation de certains traits de caractère recherchés par les éleveurs.

L'utilisation de plus en plus importante de ces biotechnologies conduit cependant à se questionner sur l'impact qu'elles pourraient avoir, à la fois chez les équidés impliqués (jument, étalons et poulains produits), mais également sur la filière équine, de manière plus générale.

III. IMPACT DES BIOTECHNOLOGIES DE LA REPRODUCTION SUR LA JUMENT, LE POULAIN ET L'ÉTALON

Les biotechnologies de la reproduction sont de plus en plus utilisées, à la fois dans l'espèce équine mais également dans d'autres espèces telles que les animaux de production ou encore les hommes. En effet, celles-ci permettent de contourner les problèmes de subfertilité ou d'infertilité comme nous l'avons vu précédemment, mais confèrent également de nombreux avantages pour l'élevage. Néanmoins, leur utilisation de plus en plus massive commence à induire des questionnements sur leur impact sur les individus concernés. En effet, en médecine humaine par exemple, les biotechnologies de la reproduction semblent avoir des conséquences sur la santé de la mère mais également de l'enfant (69).

Les conséquences que peuvent avoir l'utilisation des biotechnologies de la reproduction sur les juments et sur les étalons impliqués dans ces procédures seront étudiées dans cette partie. La santé et les performances des poulains produits seront également mis en avant.

A. Impacts sur la jument

Les biotechnologies de la reproduction impliquent différentes interventions sur les juments, qu'elles soient porteuses ou donneuses d'embryons/d'ovocytes. Ces biotechnologies prennent de plus en plus d'ampleur dans la filière équine permettant l'obtention de poulains à partir de juments ou d'étalons à fort potentiel génétique mais ayant une faible fertilité ou fécondité, ainsi que la reproduction d'équidés poursuivant une carrière sportive en parallèle. Néanmoins, les manipulations des juments et de leurs cycles hormonaux ne sont pas sans conséquences sur leur état de santé, ni sur leur bien-être.

1. Atteinte de l'état de santé de la jument

Les biotechnologies de la reproduction sont à l'origine **d'interventions vétérinaires sur les juments**, au cours des inséminations, des transferts embryonnaires mais également des ponctions d'ovocytes. Ces interventions ne sont pas sans risques et peuvent altérer **l'état de santé** des juments. C'est notamment le cas des **OPU** répétés au cours desquels il y a de nombreuses **manipulations ovariennes et folliculaires**.

a) *Conséquences de l'OPU sur l'état de santé des juments*

L'**OPU** est une technique de plus en plus utilisée pour permettre la récolte d'ovocytes chez des juments à haut potentiel génétique, notamment grâce au développement de l'ICSI mais également dans une moindre mesure du transfert nucléaire.

Chez la femme, les complications consécutives aux ponctions folliculaires d'ovocytes sont bien documentées, même si elles sont rares (72, 73). Parmi ces complications figurent la ponction accidentelle de vaisseaux ou d'autres structures pelviennes avec l'aiguille d'aspiration, l'introduction par cette dernière d'agents pathogènes issus du vagin dans la cavité péritonéale, l'inconfort, des saignements et dilatations vaginales, un hémopéritoine ou une rupture de l'endomètre (86, 87).

Velvez et al (88)., mentionnent au cours de leurs études les risques de **péritonite** et de **lacération rectale** chez des juments subissant des procédure d'OPU.

D'après une étude rétrospective de 99 chevaux menée par Claes et al (89)., les **palpations transrectales** du tractus génital des juments est la seconde cause de **lacérations rectales**. Ceci est d'autant plus important que ces palpations sont réalisées de façon répétée par les vétérinaires au cours des procédure d'OPU. Les lacérations rectales de bas grade (grade I et II) guérissent généralement sans complications avec un taux de survie de 100 %. Néanmoins, des sténoses, des abcès péritonéaux ou des diverticules rectaux peuvent apparaître. Dans le cas de lacérations rectales de grade III ou IV, le taux de survie est respectivement de 38 % et 2 % (90). Ainsi, même si la fréquence de cette complication est faible, les conséquences sont très importantes pour la jument, ce qui rend ce risque non négligeable.

Concernant les **péritonites**, les paracentèses et les **laparoscopies** réalisées (88), respectivement à 3 jours et à 3 ou 10 jours, la présence de globules rouges et de cellules inflammatoires (notamment de cellules nucléées totales, de protéines et de neutrophiles) a été mise en évidence dans le liquide péritonéal. Cela a également été observé dans l'étude d'Orellana-Guerrero et al. (91), où il a été démontré que l'utilisation d'une canule pour les ponctions répétées de fluides péritonéaux n'affectait pas les paramètres, sauf ceux de la lignée rouge (92). De plus, cette réaction inflammatoire est également visible au niveau sanguin par la présence d'une leucocytose neutrophilique sans conséquence sur l'état clinique de la jument (91). Ces péritonites pourraient être secondaires au **transport de microorganismes** provenant de la **flore vaginale** lors de la procédure. Cela pourrait également conduire à des **abcès tubulo-ovariens**.

Pour limiter ces risques, l'utilisation d'antibiotiques peut être discutée, même s'il est plutôt conseillé de procéder à des lavages vaginaux avec des solutions de Ringer Lactate dans lesquelles des antibiotiques sont inoculés (91).

Enfin, des cas **d'hémorragies internes sévères** ont également été rapportées à la suite d'OPU (84). La prévalence de ce risque est faible, car il est survenu chez une seule jument sur les 132 juments de l'étude, avec un total de 388 ponctions réalisées. Cependant, le risque existe et doit tout de même être mentionné au propriétaire.

L'OPU présente des risques pour la santé des juments. Cette procédure peut engendrer des péritonites, des lacérations rectales ou encore des hémorragies internes. L'exposition est, dans la plupart des cas, faible mais le danger est important, ce qui rend ces risques non négligeables.

Ces risques doivent être mentionnés à l'éleveur avant la procédure dans un souci d'éthique professionnelle.

Cependant, il est important de garder en tête que la prévalence de ces risques est très faible, ce qui permet tout de même de conclure que ces biotechnologies de la reproduction peuvent être utilisées de manière relativement sécurisée pour la jument.

Les biotechnologies de la reproduction n'ont cependant pas pour seules implications les manipulations de l'appareil génital femelle. En effet, il y a également des transferts d'embryons produits *in vitro*. Ces transferts d'embryons peuvent conduire à des défauts placentaires ou à des dystocies.

b) Augmentation du risque de dystocie

La dystocie est définie comme l'ensemble des difficultés qu'une poulinière peut rencontrer pour mettre bas. Ces dystocies augmentent les risques de complications post-partum telles que les non-délivrances, les métrites puerpérales, les hémorragies, les prolapsus utérins ou encore les lacérations recto-vaginales ou utérines. Ces complications peuvent engager le pronostic vital de la jument (94).

(i) *Dystocies consécutives à des insuffisances placentaires*

La production *in vitro* d'embryons et le transfert nucléaire ont tendance à conduire à des **gestations plus longues** et donc à une exposition plus longue aux risques associés à la gestation, notamment un poids de naissance plus élevé et une prévalence aux **dystocies** plus importante. Cela est très bien rapporté dans la littérature pour l'espèce bovine (95) mais encore peu étudié dans l'espèce équine.

Il a été démontré dans l'espèce équine que le **poids à la naissance** était plus conséquent et la **durée de gestation** plus longue dans le cas de **transfert nucléaire** à partir de cellules fibroblastiques (82). L'augmentation du poids à la naissance pourrait conduire à une **augmentation de la prévalence des dystocies** à la suite du **transfert nucléaire** (96).

Par ailleurs, la durée plus longue de la gestation serait due à des **insuffisances placentaires** conduisant à une réduction des apports placentaires nutritionnels au poulain. Le défaut de la fonction est reflété par une augmentation de la **créatinine sanguine** chez les **poulains** issus de cette technique. Cela est cohérent avec les observations de Vanderwall et al (74)., sur le placenta.

Cependant, cela ne s'observe pas dans le cas des poulains issus de **I'ICSI** d'après Valenzuela et al (97). Ils ont montré qu'il n'y avait pas de différence de l'expression de 17 gènes placentaires impliqués dans la croissance et la vascularisation du placenta par rapport aux biotechnologies de la reproduction de première génération. Or, la taille du poulain est directement reliée à la taille de la jument du fait de la physiologie placentaire (98). Par conséquent, l'I'ICSI n'induirait pas d'augmentation du poids du poulain à la naissance pouvant conduire à des dystocies. Une augmentation de la prévalence des dystocies n'a également pas été rapportée pour l'insémination artificielle ni pour le transfert embryonnaire.

Le transfert nucléaire augmente le poids de naissance des poulains ce qui pourrait engendrer des dystocies. Ces dystocies n'ont pas été rapportées à l'heure actuelle dans l'espèce équine mais des études n'ont pas encore été réalisées spécifiquement, d'autant plus qu'il y a encore peu de poulains issus du transfert nucléaire. Il pourrait donc s'agir d'une piste future de recherches.

Il est cependant admis que l'I'ICSI, le transfert embryonnaire et l'insémination artificielle n'induisent pas d'augmentation du poids de naissance des poulains ni de dystocies.

(ii) *Risque de gémellité induisant des dystocies*

Le risque de **gémellité monozygote** consécutif à la production *in vitro* d'embryons est connu en médecine humaine, avec un risque de 2 à 12 fois plus élevé que le risque physiologique (99). La gestation monozygote est extrêmement rare dans l'espèce équine et se limite principalement aux embryons issus des biotechnologies de la reproduction.

Ces gestations monozygotes ont été rapportées pour les **transferts embryonnaires**, ainsi que pour l'**ICSI**, mais peu de données sont encore disponibles. Parmi les gémellités observées, les résultats suivants ont été rapportés :

- Robert et al (100)., ont eu un cas de gémellité monozygote diagnostiquée à 29 jours.
- Dijkstra et al (101)., ont eu quatre cas de gémellités monozygotes.
- Mancill et al (102)., ont eu trois cas de gémellités monozygotes issus de transfert embryonnaire d'un seul embryon dans une mère porteuse. Dans le premier cas, la gémellité a été diagnostiquée à 37 jours mais la jument a avorté à 10 mois. Dans le deuxième cas, la gémellité n'a pas été diagnostiquée mais la jument a avorté à 10,5 mois de deux poulains. Enfin, dans le troisième cas, la jument a avorté de deux poulains à 345 jours. Les génotypes des poulains étaient identiques et compatibles avec celui de la jument donneuse.

Ces gémellités tardives pourraient être dues, d'après Dijkstra et al (101)., à la cryoconservation des embryons, l'ICSI en tant que telle ou encore la culture *in vitro* dans des conditions suboptimales. Ces hypothèses ont également été émises par Roberts et al (100).

L'utilisation d'**hormones** pourrait également avoir un impact sur le risque de gestation gémellaire, notamment en induisant un durcissement de la zone pellucide qui pourrait comprimer les masses cellulaires internes et causer leur migration vers le trophoblaste.

D'après Mancill et al (102)., ce qui peut expliquer le diagnostic tardif de la gémellité serait que l'allantoïde équin soit formé aux alentours de 21 jours post-ovulation à partir du gros intestin car la majorité des gémellités monozygotes sont diamniotiques, di-allantoïdiennes et monochorioniques. Ceci peut expliquer qu'une seule vésicule embryonnaire soit visible lors de l'échographie transrectale avec cependant deux sacs vitellins adjacents à 20 jours post-ovulation.

Ce diagnostic tardif limite les possibilités de réduction embryonnaire par le vétérinaire. Les techniques de réduction d'un des deux fœtus dépendent du stade auquel on souhaite le réaliser, mais ne sont pas anodines pour la jument ni pour le conceptus que l'on souhaite garder (103, 104).

De plus, la mise bas de jumeaux s'accompagne bien souvent de dystocies chez la jument ce qui peut engendrer des atteintes de son état de santé (105, 106).

Une échographie doppler des vésicules embryonnaires entre 16 jours et 18 jours post-ovulation pourrait révéler la séparation future de deux structures embryonnaires (107).

L'ICSI, la cryoconservation des embryons et le transfert embryonnaire sont des procédures qui semblent augmenter le risque de gémellité monozygote dans l'espèce équine.

Ces gémellités sont diagnostiquées tardivement ce qui limite les possibilités de réduction embryonnaire par le vétérinaire. Le risque de dystocies suite à la mise bas de jumeaux est donc plus important que lors d'insémination artificielle ou de monte naturelle. Cela constitue une atteinte de l'état de santé de la jument.

De fait, les biotechnologies de la reproduction induisent des altérations de l'état de santé de la jument (péritonites, lacérations rectales). Il pourrait également y avoir une augmentation de la prévalence des risques de dystocies lors des poulinages consécutifs aux transferts nucléaires.

Néanmoins, la prévalence des risques qu'elles induisent est minime ce qui en fait des procédures relativement sécurisées, qui peuvent être mises en place dans les modes d'élevages d'équidés.

De plus, ces dernières permettent de limiter les transmissions de pathologies infectieuses (cf. partie IV-B). Par conséquent, elles peuvent également être bénéfiques pour la santé des juments.

2. Impact sur la fertilité des juments

Les atteintes de l'état de santé de la jument peuvent également se traduire par des atteintes de la fertilité de cette dernière.

Les juments pour lesquelles les propriétaires ont recours aux biotechnologies de la reproduction subissent généralement plusieurs interventions par le vétérinaire ou le chef de centre. Ces interventions peuvent ne pas être anodines sur leur fertilité et leur fécondité ce qui compromettrait leur utilisation au cours des futures saisons de reproduction. Cela a notamment une importance lorsque ces technologies sont utilisées chez des juments fertiles pour des raisons sportives ou génétiques.

La **fertilité** est définie comme la capacité à produire un nouveau-né. Elle dépend de la **fécondation** (capacité des ovocytes et des spermatozoïdes de s'unir pour former un zygote) et de la capacité à maintenir une **gestation** à terme.

a) Atteinte de la fonction ovarienne chez des juments non gestantes

La qualité des **ovocytes** et leur production par les **ovaires** sont donc des facteurs déterminants de la fertilité de la jument et peuvent être affectés par les biotechnologies de la reproduction.

(i) Atteinte de la morphologie des ovaires

Chez les brebis, les ponctions folliculaires échoguidées d'ovocytes causent dans 30 % des cas des adhésions entre l'ovaire et l'oviducte (108). Cela souligne le caractère délétère des OPU sur la santé des ovaires.

D'après l'étude de Bøgh et al(109)., parue en 2006, l'aspiration transvaginale échoguidée de follicules causent des **altérations pathologiques** de la morphologie des ovaires. Ces altérations seraient des **fibroses du stroma ovarien**, des **adhésions** de l'ovaire à la paroi abdominale et de multiples petits **abcès** avec, sur l'ovaire controlatéral, des **structures kystiques** de 3 cm x 2 cm (cf. figure 25).

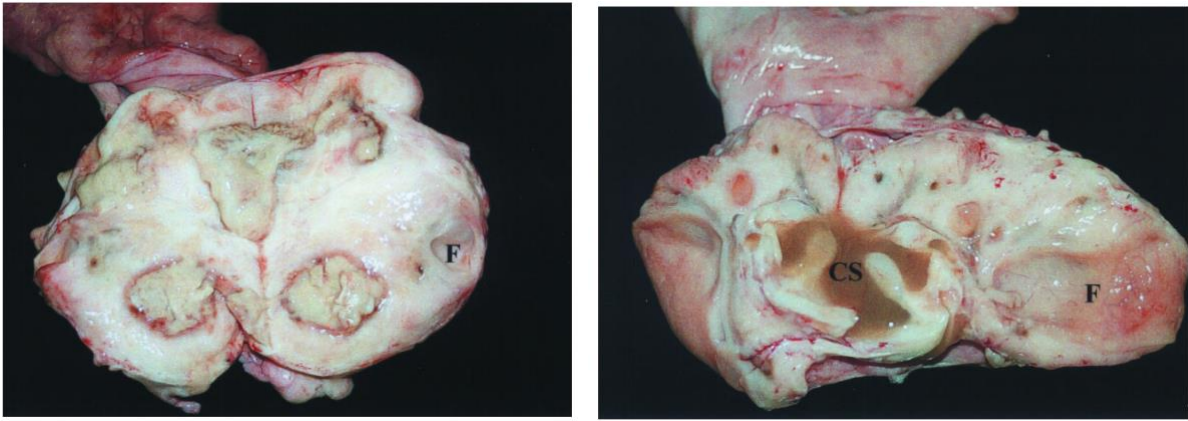


FIGURE 25: OVAIRES GAUCHE (EN HAUT) ET DROIT (EN BAS) D'UNE JUMENT EN COUPE LONGITUDINALE
SOURCE : BØGH ET AL., 2003 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (109)

Légende :

Gauche : présence d'un follicule < 20 mm (F) et de multiples abcès chroniques

Droite : Présence de follicules de 30x20mm (F) de de kyste > 20 mm (CS)

Les adhésions ne sont pas retrouvées dans d'autres études telles que celles de Vanderwall et al (110)., en 2006 ou celles de Velvez et al.,(88) en 2012. Ces derniers ont mis en évidence comme conséquence ovarienne uniquement les abcès ovariens avec un risque < 0,5%. Néanmoins, au cours de ces études, certains paramètres tels que la pression d'aspiration ou encore le degré de manipulation de l'ovaire ont varié, notamment du fait de l'implication de différents opérateurs. Ainsi, des études sur l'influence de ces paramètres sur la morphologie ovarienne seraient nécessaires.

Les OPU pourraient donc affecter la morphologie ovarienne et, par conséquent, affecter la physiologie de cet organe. Cela pourrait conduire à un défaut de physiologie ovarienne et, par conséquent, à une atteinte de la fertilité de la jument.

(ii) *Atteinte de la physiologie ovarienne*

Les atteintes de la morphologie ovarienne consécutives aux ponctions répétées de follicules invitent à se questionner sur la physiologie ovarienne.

La **physiologie ovarienne** est définie par la production **d'hormones stéroïdiennes** par les cellules de la thèque et de la granulosa des follicules, ainsi que par la **croissance folliculaire** et l'**ovogénèse**.

- **Croissance folliculaire et ovogénèse**

Velvez et al (88)., ont réalisé une étude en 2018 au cours de laquelle la **croissance folliculaire** et la **viabilité des ovocytes** étaient mesurées sur des juments ayant subi des OPU répétées tous les 10 à 24 jours pendant une saison de reproduction. Ils ont mis en évidence que ces aspirations transvaginales échoguidées de follicules immatures répétées n'avaient pas de conséquence sur la croissance folliculaire ni sur la viabilité des ovocytes. Cette stabilité de la fonction ovarienne a également été observée sur plusieurs années par Bøgh et al (109)., En effet, ils ont mis en évidence que les ponctions répétées de follicules n'altéraient pas l'ovulation du follicule pré-ovulatoire ni la formation du corps jaune.

Néanmoins, l'OPU aurait des conséquences sur l'**ovogénèse**. D'après une étude de Duchamp et al (111)., parue en 1995, la ponction répétée de follicules induirait tout de même une **maturation précoce** des ovocytes. Cette procédure pourrait donc induire la suppression de facteurs inhibant la maturation des ovocytes sur du cours terme, modifiant donc le taux de maturation et de récoltes des ovocytes. Cependant des études menées par Velez et al (88). en 2012 et Vanderwall et al (110). en 2006 ont montré que le **taux de gestation** des juments ayant des ponctions d'OPU lorsqu'elles étaient non gestantes était **identique** à celui des juments n'ayant pas subi ces ponctions. Cette maturation précoce des ovocytes ne semble donc pas affecter leur capacité fécondante et donc la fertilité de la jument.

Enfin, l'OPU implique généralement l'utilisation de protocoles de maîtrise de l'ovulation et en particulier l'utilisation de gonadotrophines exogènes. Leurs **utilisations répétées** pourraient potentiellement impacter la **fonction ovarienne**, en **altérant le schéma de dominance folliculaire** (112). Ainsi, les gonadotrophines exogènes sont à utiliser avec précaution car elles peuvent altérer la fertilité de la jument.

Les ponctions répétées de follicules ne semblent pas affecter la croissance folliculaire, l'ovulation du follicule pré-ovulatoire ou la formation du corps jaune. La viabilité et la capacité fécondante des ovocytes semblent également intègres. Ces procédures ne paraissent donc pas altérer la fertilité des juments.

Néanmoins ces procédures s'accompagnent souvent d'utilisations de gonadotrophines exogènes qui pourraient altérer le schéma de croissance folliculaire. Leur utilisation doit donc être modérée.

- **Endocrinologie ovarienne**

L'ovaire a pour fonction la **synthèse d'hormones stéroïdiennes**. Ces dernières interviennent dans la régulation hormonale du cycle œstral via l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien. L'intégrité de cette fonction doit donc être maintenue pour assurer la fertilité des juments.

Parmi les hormones stéroïdiennes produites par l'ovaire figurent l'**E2** (œstradiol) et la **P4** (progestérone) qui jouent un rôle prépondérant dans l'endocrinologie de la reproduction et dans le cycle œstral.

Iacono et al (113)., en 2014, ont mesuré le taux plasmatique de E2 et de P4 chez des juments en anœstrus et des juments cyclées qui subissaient des ponctions transvaginales répétées de follicules. Ils ont mis en évidence que ces taux étaient non significativement différents par rapport à ceux de juments non gestantes au même stade physiologique qui ne subissaient par ces ponctions.

La synthèse d'hormones stéroïdiennes par les cellules de la thèque et de la granulosa ne semblent pas être affectées par les ponctions répétées de follicules. L'OPU ne paraît donc pas altérer l'endocrinologie ovarienne.

Malgré une modification de la morphologie de l'ovaire consécutive aux ponctions répétées de follicules lors de l'OPU, aucune modification de la qualité ou de la production des ovocytes ne semble se produire. C'est également le cas pour les autres biotechnologies de la reproduction. Seules l'utilisation répétée de gonadotrophines pourrait altérer le schéma de croissance folliculaire.

b) Altération de la fécondation et de la survie de l'embryon

Le taux de gestation reflète une partie de la fertilité de la jument. Ce paramètre peut être modifié à la suite d'altérations de la physiologie ovarienne chez des juments gestantes ou en présence d'un environnement utérin défavorable.

(i) Atteinte de la physiologie ovarienne des juments gestantes

Le maintien de la gestation est permis, au cours de la gestation précoce, par la sécrétion de progestérone par les corps jaunes (primaires puis secondaires).

Menjes et al (114)., en 1997, ont également voulu évaluer le **taux de progestérone circulante suite aux OPU chez des juments gestantes**. Cette étude a permis de mettre en évidence que l'aspiration folliculaire interférait avec la formation du second corps jaune à 21-34 jours de gestation car elle induit une lutéinisation des follicules de 20 à 30 mm avec une production de progestérone moindre.

L'altération de la fonction lutéale dans cette étude pourrait être due au fait que les follicules étaient « flushés », ou rincés, et le liquide aspiré plusieurs fois, ce qui pourrait dégrader un plus grand nombre de cellules de la granulosa et par conséquent altérer la fonction lutéale, comme suggéré par Mozzaquatro et al (115).

Néanmoins, après arrêt de la procédure, le taux de P4 circulante a recommencé à augmenter, donc cette altération n'a semblé être que transitoire.

Les procédures d'OPU répétées pourraient altérer transitoirement la fonction lutéale.

(ii) Modification de l'environnement utérin par les biotechnologies de la reproduction

L'environnement utérin est un facteur déterminant du maintien de la gestation. Il peut être affecté par les manipulations du tractus génital. En effet, les interventions au niveau du tractus génital de la jument, que ce soit pour les inséminations artificielles ou le transfert d'embryons, augmentent le risque d'**endomérites** chez les juments (116).

L'endomérite post-insémination, ou post-saillie, est un phénomène **physiologique** chez la jument car il s'agit d'une réaction immunitaire contre le liquide séminal et les spermatozoïdes. Elles sont normalement **transitoires** mais deviennent **pathologiques** lorsqu'elles sont **persistantes**

Le **transfert embryonnaire** induit une **endomérite subclinique** chez la **jument receveuse**, comme le suggère l'augmentation de polynucléaires neutrophiles dans l'étude de Koblischke et al (117). Les endométrites observées étaient **non septiques** car les résultats de bactériologies réalisées sur des écouvillons utérins étaient négatifs. Ces endométrites peuvent être dues à l'embryon lui-même, le milieu dans lequel il est mis en paillette ou l'intervention au niveau de l'utérus qui peut induire une entrée d'air.

Des **endométrites subcliniques chroniques** sont également observées chez les **juments donneuses d'embryons** et corrélées positivement avec les récoltes répétées d'embryons, d'après l'étude de Carnevale et al (118)., publiée en 2005.

Les conséquences sur le long terme de ces inflammations utérines chroniques ne sont pas encore évaluées mais il est reconnu que les endométrites chroniques affectent la **fertilité de la jument** (119). Pour prévenir les éventuelles complications associées, Squires et al (120)., conseillent que les juments donneuses d'embryons mènent au moins une gestation à terme, et idéalement plusieurs pour maintenir la santé de l'utérus.

Par ailleurs, ce risque d'endomérite persistante semble diminué par l'insémination artificielle par rapport aux saillies naturelles du fait de la diminution de la quantité de sperme introduite dans l'utérus, nécessitant moins de clairance (22).

Le transfert embryonnaire induit un risque d'endomérite subclinique aussi bien chez la jument donneuse que chez la jument receveuse, mais les conséquences sur le long terme de ces endométrites ne sont pas encore identifiées.

Par ailleurs, ce risque d'endomérite semble diminué lors de l'utilisation de l'insémination artificielle par rapport à la saillie naturelle.

c) Conséquence du stress induit par les manipulations des juments sur leur fertilité

Il y a de nombreuses interactions entre l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien et l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique. Chez la femme et les ovins, il a été démontré un effet négatif d'un excès de glucocorticoïdes sur la fonction de reproduction (121). Or, la production de glucocorticoïdes est corrélée positivement au niveau de stress de l'individu. Ainsi, le stress pourrait affecter la fonction de reproduction.

Selon de nombreuses études (cf. partie III-A-3)), les biotechnologies de la reproduction induisent un **stress** chez la jument se traduisant par une **augmentation** de la concentration sanguine en **cortisol**. Néanmoins, d'après Berghold et al (122)., l'augmentation du cortisol sanguin ne semble pas affecter la fonction de reproduction des juments car les **taux d'ovulation** et de **gestation** étaient **identiques** à ceux obtenus chez des juments présentant des taux de cortisol sanguin faibles. Des études supplémentaires seraient tout de même nécessaires pour conclure à l'absence d'effets du stress sur la fonction de reproduction de la jument.

L'augmentation de la concentration sanguine en cortisol, consécutive au stress subi par la jument lors des procédures d'OPU, ne semble pas altérer sa fonction de reproduction. Des études supplémentaires sont cependant nécessaires pour confirmer avec certitude cette observation.

Les biotechnologies de la reproduction peuvent altérer la fertilité des juments impliquées dans ces procédures suite à une utilisation répétée de gonadotrophines exogènes ou encore au stress subi par les juments lors des interventions.

Néanmoins, les biotechnologies de la reproduction ne semblent pas altérer la qualité et la viabilité des ovocytes ou des embryons. La fécondité ne semble pas non plus être affectée par l'utilisation des biotechnologies de la reproduction.

De plus, la morphologie et la physiologie ovarienne apparaissent comme stables suite à l'utilisation directe de ces biotechnologies.

Par conséquent, une utilisation modérée des gonadotrophines exogènes permettrait une utilisation raisonnée des biotechnologies de la reproduction sans modification de la fertilité des juments.

3. Impact sur le bien-être des juments

Les différentes biotechnologies de la reproduction n'ont pas uniquement des conséquences sur la fertilité, la fécondité ou l'état de santé des juments. En effet, les différentes manipulations de ces dernières peuvent également avoir un impact sur leur **bien-être**. Le faible taux de réussite de certaines biotechnologies de la reproduction telles que le transfert nucléaire (taux de naissance de moins de 5 % (123)) augmente les manipulations des juments et par conséquent augmente les conséquences sur leur bien-être.

Les biotechnologies de la reproduction induisent un **stress** chez les juments. Il a été mis en évidence une augmentation significative du cortisol salivaire et de la fréquence cardiaque consécutivement aux échographies transrectales (124), qui sont effectuées en routine dans ces procédures. Ces paramètres de stress induit chez les équidés est à prendre en compte, notamment lors de procédures de transferts embryonnaires, où plusieurs juments receveuses potentielles sont palpées et échographiées à de maintes reprises pour recevoir un embryon de la jument donneuse (125).

Même si le stress subi par les juments pourrait être diminué lorsque l'équipe est expérimentée et familiarisée avec les juments (126), en pratique les juments risquent de rester stressées car le vétérinaire peut difficilement être familier avec toutes les juments de propriétaires ou d'élevage qu'il manipule.

Ce stress peut être associé à de la **douleur**, notamment lors de la manipulation des ovaires ou des ponctions répétées d'ovaires, de la paroi vaginale et du péritoine, et ce malgré l'utilisation standardisée d'analgésiques, de sédatifs et d'antispasmodiques.

Orellana-Guerrero et al., dans une étude parue en 2022 (91), ont mis en évidence une **augmentation de la fréquence cardiaque** des juments subissant l'OPU, au moment de la manipulation de l'ovaire et notamment de la traction du ligament large. La procédure induit de fait un stress et/ou une douleur chez la jument.

Cette augmentation de la fréquence cardiaque peut être diminuée par l'utilisation d'**analgésiques**. Diego et al (126)., ont observé une absence d'augmentation de la fréquence cardiaque à la manipulation de l'ovaire chez les juments qui avaient reçu de la détomidine. L'efficacité de l'analgésie a également, au cours de cette étude, pu être mise en évidence grâce à l'utilisation d'une grille d'expression faciale de la douleur. Néanmoins, au cours de leur étude, la fréquence cardiaque avait significativement augmenté lorsque l'aiguille de ponction avait traversé les différentes structures jusqu'aux follicules. Par conséquent, l'analgésie à base de détomidine permettrait certes de **diminuer la douleur** ressentie par les juments au cours de l'OPU mais pas de l'effacer totalement. De plus, une augmentation du dosage de la détomidine pourrait induire des effets secondaires et l'utilisation d'analgésiques locaux pourrait altérer la qualité des ovocytes.

La gestion de la douleur pourrait également se faire par **la réalisation d'une anesthésie épidurale**. Néanmoins, la procédure nécessite une manipulation plus longue et s'accompagne d'un risque de chute de la jument dans la barre de contention. Même si l'incidence de cette complication est faible, elle n'en reste pas moins non négligeable freinant l'utilisation d'anesthésie épidurale lors de la mise en pratique des ponctions d'ovocytes chez la jument.

Il est tout de même important de noter que le développement des biotechnologies de la reproduction dans l'espèce équine présente également des **impacts positifs sur le bien-être** des juments, notamment en permettant de ne pas transporter les juments d'un point A à un point B (ce qui génère du stress mais également un risque de blessure (22)) ou bien en permettant à des juments dont la gestation présente un risque pour leur santé de ne pas à avoir à porter un poulain, par exemple lors de risques de ruptures de muscles abdominaux au cours de la gestation à cause d'une chirurgie ou d'une gestation pathologique antérieures (125).

Les biotechnologies de la reproduction induisent un stress et de la douleur chez les juments qui peut être diminué avec l'utilisation d'analgésiques.

Le stress induit par ces procédures n'est cependant pas plus élevé que pour d'autres interventions vétérinaires et peut donc être considéré comme acceptable.

Il faut également noter que les biotechnologies de la reproduction peuvent également un impact positif sur le bien-être des juments, en limitant les transports ou les gestations à risques.

Les biotechnologies de la reproduction semblent avoir peu d'impact sur la santé et la fertilité des juments. En effet, les risques présentés sont minimes ce qui est en faveur d'une poursuite de leurs développements et de leurs implantations dans l'élevage équin. De plus, d'une certaine manière, ces biotechnologies améliorent le bien être des juments même si cela est à prendre en considération avec précaution, car au moment des procédures un stress et des douleurs peuvent être ressenties par les juments

Les juments ne sont cependant pas les seuls individus à être impliqués dans l'intégration de ces techniques d'élevage, les conséquences sur l'étalon et le poulain devant également être considérées.

B. Impact sur les étalons

Les étalons sont sélectionnés selon leur pédigré, leurs performances et/ou leurs conformations. Ils peuvent être à l'origine d'un nombre plus ou moins important de poulains à chaque saison de reproduction et le nombre de collectes de semence/saillies n'est pas sans conséquence sur leur bien-être et leur santé, car la reproduction implique des manipulations et des conditions de vie spécifiques.

1. Impact sur la santé des étalons

Les biotechnologies de la reproduction permettent d'exporter du « matériel génétique » à l'international, **évitant ainsi le transport des étalons**, et, par conséquent, les risques inhérents à ces derniers (risques infectieux, risque de blessures, risque de coliques, fourbures ou diarrhées) (125).

La récolte de semences **empêche le contact direct** entre les étalons et les juments, réduisant ainsi la transmission de **maladies infectieuses sexuellement transmissibles**, telles que l'artérite virale équine, l'anémie infectieuse équine ou encore la métrite contagieuse équine. Elle limite aussi la transmission d'autres **maladies infectieuses** qui se transmettent par contact direct ou indirect telle que la grippe équine ou la rhinopneumonie équine. Cela est développé dans la dernière partie (cf. partie IV-A)).

À l'heure actuelle, aucune étude n'a été réalisée sur le risque que pouvait présenter la récolte de semences sur la santé de l'étalon. Cette procédure étant très répandue, sans rapport d'altération sur la santé de l'étalon, on peut supposer qu'elle n'a pas de conséquences directes sur cette dernière. De plus, une étude menée par Burger et al (127). a démontré que le fait que l'étalon monte sur un mannequin pour permettre la récolte n'affectait pas les membres postérieurs, la charge portée par ces derniers étant similaire à celle qu'ils supportent lors de récolte au sol.

La récolte de semences chez les étalons, indispensable aux biotechnologies de la reproduction, ne semblent pas présenter d'impacts négatifs sur la santé de ces derniers. Au contraire, elle semble bénéfique puisqu'elle limite les transmissions de maladies infectieuses et les risques associés à un transport.

2. Impact sur le bien-être des étalons

Cependant, la récolte de semences semble induire des altérations du bien-être de l'étalon. Les cinq besoins fondamentaux indispensables au **bien-être animal** sont : l'absence de faim et de soif, l'absence de peur et de détresse, l'absence de stress physique et thermique, l'absence de douleurs, lésions et de maladies, ainsi que la possibilité pour l'animal d'exprimer les comportements normaux de son espèce.

Nous avons vu que les biotechnologies de la reproduction permettent de **limiter le transport** des étalons pour la saillie des juments, grâce à la récolte de semences réduisant les atteintes à leur bien-être causé par le transport (128).

Malgré tout, les biotechnologies de la reproduction ont un impact négatif sur le bien-être des étalons. En effet, lors des récoltes de semences, l'étalon ne peut pas exprimer son **comportement physiologique** d'accouplement avec la jument dans la mesure où le contact avec cette dernière n'est pas autorisé (124, 128).

Ces **interactions, réduites à inexistantes** pourraient suffire à affecter le bien-être des étalons. En effet, les concentrations sanguines en cortisol (marqueur de stress) chez le cheval sont fortement dépendantes des conditions socio-sexuelles dans lesquelles il se trouve (131). Cette altération du bien-être, régie par les conditions socio-sexuelles des étalons, est exacerbée par le fait que, pour permettre l'élevage des étalons, ils sont généralement isolés des autres chevaux.

Aurich et al (132)., ont montré que le taux de cortisol salivaire chez les étalons élevés dans des box individuels, sans contact les uns avec les autres, augmentait lors de la saison de reproduction tandis qu'il avait tendance à diminuer chez les hongres vivant dans les mêmes conditions et chez les jeunes étalons vivant au sein d'un troupeau. Ainsi, les conditions d'élevage des étalons pendant les saisons de reproduction pourraient être sources de stress pour eux.

Ces phénomènes de stress se traduisent chez les étalons par le développement de **tics**. Ces tics, (ou stéréotypies) sont des « actes moteurs répétitifs, non régulés, qui apparaissent comme invariants et sans finalité évidente » (133). Il peut s'agir de tics à l'air principalement, mais également de tics à l'appui ou encore de tics à l'ours. Par ailleurs, le développement de ces stéréotypies est plus important chez les étalons, que chez les juments et les hongres, probablement en raison de leur isolement et/ou de l'empêchement qu'ils ont d'exprimer leurs comportements physiologiques, accompagné par un manque d'exercice physique (133–135).

L'isolement n'est pas spécifique à l'intégration des biotechnologies de la reproduction dans les modes d'élevage des équidés car il est également présent lorsque les étalons sont utilisés en monte naturelle. Néanmoins, c'est un point qu'il est important de soulever au regard de son impact sur le bien-être des équidés.

Ce bien-être des étalons pourrait cependant être diminué si les contacts avec leurs congénères étaient autorisés. Des études sont actuellement en cours en Allemagne pour développer des « social box » (cf. figure 26) en Allemagne (136) ou, en Suisse et en Autriche, pour mettre les étalons ensemble dans un troupeau (137). Même si les résultats de ces études sont encourageants, les propriétaires d'étalons de haute valeur préfèrent cependant souvent isoler leur étalon pour ne pas prendre le risque de les voir se blesser.



FIGURE 26: PHOTO D'UN "SOCIAL BOX" TESTE EN ALLEMAGNE POUR L'ELEVAGE DES ETALONS
SOURCE : GEHLEN ET AL., 2021 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (136)

Légende :

Il s'agit de box dont un des murs présente des barres en métal verticales séparées de 30 cm l'une de l'autre, permettant des contacts entre les chevaux.

Il existe d'autres possibilités d'amélioration du bien-être des étalons reproducteurs. Si l'étalon poursuit sa **carrière sportive** en parallèle de sa carrière reproductive, cela lui permettrait de maintenir à la fois des contacts avec ses congénères et une activité physique autre que celle de la reproduction (138).

De plus, la possibilité de **cryoconservation des semences** d'étalons permettrait de stocker la semence des étalons avant de castrer ces derniers, puis de les mettre en troupeau et ainsi d'améliorer leur bien-être (125). Ce serait également permis grâce au **transfert nucléaire** pour la reproduction des hongres. Bien entendu, la procédure de castration pourrait également être discutée dans son aspect éthique et de bien-être pour l'étalon.

Par conséquent, les biotechnologies de la reproduction peuvent affecter de manière négative le bien-être des étalons, les empêchant d'exprimer leurs comportements physiologiques.

Les étalons sont, par ailleurs, souvent hébergés dans des box individuels, ce qui a une répercussion sur leur bien-être physique et mental de l'animal, même si cela n'est pas spécifique à l'utilisation de biotechnologies de la reproduction. Des alternatives sont, par ailleurs, en cours d'études pour limiter cet impact, avec la mise en troupeau ou l'utilisation de « social box ».

Enfin, la cryoconservation des semences pourrait améliorer le bien-être des étalons en permettant une conversation préalable de la semence, suivie d'une castration éventuelle et d'une mise en contact permanent avec ses congénères.

Les biotechnologies de la reproduction ne sont donc pas sans conséquence sur les étalons, ni sur les juments comme on a pu le voir dans la partie précédente. Il est donc légitime de se demander si elles ont des impacts sur les poulains produits, derniers individus impliqués dans leur utilisation.

C. Impact des biotechnologies de la reproduction sur les poulains

Les biotechnologies de la reproduction ont pour objectif de faire naître des poulains viables et en bonne santé. Ces poulains ont souvent un haut potentiel génétique et les éleveurs souhaitent obtenir d'eux des performances sportives et/ou reproductives. Cependant, elles impliquent la micromanipulation de gamètes et/ou d'embryons ce qui n'est pas anodin et peut avoir des conséquences sur l'ensemble des critères décrits précédemment. Ce fut par exemple le cas du « large offspring syndrome » chez les bovins et les ovins, où les veaux nés par fécondation *in vitro* étaient de taille beaucoup plus grande que ceux nés par techniques de reproduction naturelle, avec une organomégalie associée conduisant à des atteintes de leur état de santé (139).

Il est donc important d'étudier l'impact des biotechnologies de la reproduction sur les poulains de manière à les prendre en considération lors des choix d'élevages si ces derniers sont significatifs. À l'heure actuelle, peu d'études sont disponibles mais des pistes de réflexions sont suggérées.

1. Impact des biotechnologies de la reproduction sur la santé des poulains

La santé des poulains est un paramètre essentiel à prendre en compte, l'éleveur souhaitant en obtenir en bonne santé. Or, les biotechnologies de la reproduction peuvent avoir des conséquences sur cet état de santé.

a) Anomalies congénitales et mortalités consécutives aux biotechnologies de la reproduction

La **survie** des nouveau-nés issus des biotechnologies de la reproduction est très diminuée par rapport à celle des poulains issus de monte naturelle, notamment dans le cas des biotechnologies impliquant des micromanipulations d'ovocytes et d'embryons. Cela a été notamment très étudié chez les animaux de rente, où les nouveau-nés issus d'embryons produits *in vitro*, par exemple, tendaient à être plus grands, léthargiques et présentaient plus d'anomalies congénitales (140).

Actuellement, le taux de naissance de poulains issus du transfert nucléaire est très faible (< ou = à 5 %) avec un **taux de poulains viables** de seulement 50 %, en moyenne (123).

D'après l'étude de Johnwon et al (123)., parue en 2010, les poulains issus du **transfert nucléaire** présentent de nombreuses **anomalies congénitales**, telles que des **anomalies des membres** (exemple :les valgus), des **contractures des tendons**, de **l'hypertension pulmonaire**, de **l'hypoxémie néonatale**, des **anomalies ombilicales** qui les prédisposent aux omphalites et par conséquent aux septicémies, ou encore une **mauvaise régulation de la glycémie** (cf. figure 27).



FIGURE 27: ILLUSTRATION D'UN OMBILIC DE POULAIN ISSU DU TRANSFERT NUCLEAIRE, PRESENTANT UN EPAISSISSEMENT, UN ŒDEME ET UNE ABSENCE DE POINT DE RUPTURE PHYSIOLOGIQUE
SOURCE : JOHNSON ET AL., 2010 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (123)

Cela induit une **hospitalisation intensive** des poulains et par conséquent un poulinage dans un centre spécialisé.

Ces anomalies seraient diminuées lorsque le transfert nucléaire s'effectue à partir de cellules souches mésenchymateuses issues de la moelle osseuse d'après Olivera et al (82)., avec un taux de viabilité de 95 % et une absence d'anomalies congénitales des poulains issus de cette technique lors de leur étude. De plus, la durée d'hospitalisation serait diminuée, passant de 3 semaines à 1 semaine. Néanmoins, une seule étude sur cette technique a actuellement vu le jour et d'autres seraient nécessaires pour l'appliquer.

Cependant, une fois que les poulains issus du transfert nucléaire passent la phase critique de néonatalité, ils évoluent de la même manière que d'autres poulains sans prédisposition à des anomalies de santé particulières.

Le transfert nucléaire a des conséquences sur la viabilité du poulain à la naissance. En effet, ces derniers sont prédisposés à de nombreuses anomalies congénitales. Néanmoins, une fois la période néonatale critique passée, les poulains issus du transfert nucléaires évoluent normalement.

Des pistes d'amélioration de la viabilité du poulain sont actuellement en cours.

b) Modifications épigénétiques induites par les biotechnologies de la reproduction

Les anomalies congénitales mentionnées précédemment seraient en partie dues à des modifications épigénétiques, comme le suggère Hinrichs et al (79).

Il a été notamment démontré que le « large offspring syndrome », ou syndrome du gros veau, était lié à des modifications de l’empreinte génomique des veaux, secondaires à des modifications épigénétiques (141).

Les biotechnologies de la reproduction pourraient donc conduire à des **modifications épigénétiques** ayant des conséquences sur l’état de santé des poulains.

Au cours de la gamétogénèse, une reprogrammation du génome a lieu, avec, par conséquent, d’importantes modifications épigénétiques physiologiques permettant le développement du fœtus.

L’expression des gènes seraient régulées par trois mécanismes (142) :

- La **méthylation de l’ADN** qui induit une absence d’expression du gène tandis qu’une déméthylation conduit à une augmentation d’expression du gène ;
- La **modification des histones**, où les protéines sont alors plus ou moins liées à l’ADN empêchant ou non la transcription des gènes ;
- Les mécanismes liés à l’ARN, tels que les **ARN non codants**, qui peuvent se fixer à l’ADN ou aux ARN dont la séquence nucléotidique est complémentaire induisant des modifications de la transcription ou des destructions des ARNm, ou les **ARN inhibiteurs**.

Il apparaîtrait que les **facteurs environnementaux** tels que la disponibilité en nutriments, le stress, la pollution environnementale et les toxines induiraient des **changements dans l’épigénome** (= schéma épigénétique régulant le fonctionnement de l’ADN). En effet, la période d’activation majeure du génome embryonnaire (la plus précoce) est la période la plus sensible aux modifications de l’environnement embryonnaire.

Certaines biotechnologies de la reproduction sont à l’origine de **méthylation anormale** des gènes. Il peut s’agir de la **stimulation hormonale**, la **culture *in vitro***, la **cryoconservation** et le **transfert embryonnaire**.

En médecine humaine, ces anomalies d’empreinte génétique peuvent conduire aux syndromes de Beckwith-Wiedemann (croissance excessive, prédisposition tumorale et malformation congénitale), de Prader-Willi (déficit intellectuel, malformation du cœur, caractéristiques physiques et comportementales particulières), d’Angelman (déficience mentale d’intensité variable associée à un retard de développement moteur, une hyperactivité et une quasi-absence de langage), voire à des cancers (143).

Chez les bovins et les murins, la vitrification des ovocytes conduit à des modifications des procédés de méthylation et de déméthylation de l’ADN, une vraisemblable augmentation de l’acétylation des histones et une modification des mécanismes de transcription des ARNm (144). De plus, le noyau d’embryons produits *in vitro* est plus à risques de présenter des anomalies chromosomiques que le noyau d’embryon produit *in vivo* (145). Ces anomalies chromosomiques sont à l’origine de pertes embryonnaires majeures.

Chez le lapin, il a été démontré que la vitrification embryonnaire modifie le phénotype placentaire et le phénotype des lapereaux qui en découlent avec une diminution du poids fœtal et du poids placentaire au milieu de la gestation, puis une augmentation du poids fœtal et une surexpression de nombreux gènes impliqués dans la synthèse protéique, le métabolisme lipidique et le transport moléculaire (146).

Chez les souris, il a été démontré que, après vitrification des embryons, les niveaux de transcription et de méthylation du gène à empreinte *Grb100* étaient réduits. Or, ce gène régule le comportement social et intervient dans la croissance du fœtus (147).

À l’heure actuelle, aucune modification sur le long terme de l’état de santé des poulains n’a été rapporté à la suite de l’utilisation commerciale des biotechnologies de la reproduction impliquant des micromanipulations de gamètes. Néanmoins, ces biotechnologies sont utilisées dans la filière équine que depuis peu et des études supplémentaires seraient nécessaires pour confirmer l’inoffensivité de leurs utilisations (97, 148, 149).

Stout et al (46)., ont mis en évidence que les **embryons développés *in vitro*** à la suite de l’ICSI sont principalement des **mâles** (61 %), ce qui serait dû au milieu de culture. Cela suggère alors que la micromanipulation des embryons équins affecte leur développement et que ces derniers ne sont pas insensibles aux modifications épigénétiques induites par ces micromanipulations.

De plus, il a été démontré en équine que la ségrégation des chromosomes et la morphologie du cytosquelette sont affectées par la maturation *in vitro* des ovocytes via une modification de l’acétylation des histones. Cela conduit alors à une aneuploïdie des ovocytes et à des anomalies de développement génétique (150).

Ainsi, les conditions de culture *in vitro* des ovocytes et/ou des embryons ainsi que la vitrification de ces derniers joueraient un rôle dans les modifications épigénétiques pathologiques qui peuvent survenir.

Ces atteintes du développement fœtal ou post-natal du poulain ne sont pas mises en évidence actuellement mais des études suggèrent que les embryons produits ou développés *in vitro* subissent également des modifications épigénétiques.

Par conséquent, la micromanipulation de gamètes et/ou d'embryons pourraient conduire à des perturbations de la croissance fœtale ou du développement du poulain.

Il a été démontré que ces modifications épigénétiques seraient liées au mécanisme de programmation fœtal (142). Il apparaîtrait que l'impact des biotechnologies de la reproduction sur les poulains résiderait dans le choix des juments donneuses d'ovocytes et porteuses d'embryons (151) mais également dans la gestion des juments porteuses une fois que l'embryon leur a été transféré (152).

c) Programmation fœtale et santé des poulains

D'après plusieurs études, l'environnement utérin aurait des conséquences sur la taille des poulains qui naissent. En effet, un environnement utérin restrictif conduirait à des poulains de plus petite taille et de plus petit poids corporel à la naissance, tandis qu'un environnement utérin très favorable conduit à des poulains de plus grande taille à la naissance (20, 98, 153). Ces différences de taille se maintiennent par ailleurs sur le long terme (154, 155).

Par conséquent, l'environnement utérin impacte le développement fœtal, ce qui est expliqué par la notion de programmation fœtale.

(i) *Notion de programmation foetale ou “Developmental Origin of Health and Disease”*

Il existe, notamment en médecine humaine, la notion du « **Developmental Origin of Health and Disease** ». Cette notion suggère que certaines altérations du développement fœtal causées par des stimuli environnementaux auraient un impact sur le développement post-natal, le phénotype des adultes et prédisposeraient à certaines pathologies métaboliques et cardiovasculaires.

En effet, à la fin des années 1990, Barker a postulé que les individus de faible poids de naissance (reflétant une croissance fœtale suboptimale) sont plus à risque de développer des insuffisances coronariennes, une hypertension ou un diabète de type II à l'âge adulte (10).

La **programmation fœtale** est alors définie comme le procédé par lequel le fœtus s'adapte à son environnement utérin, en réponse à sa nutrition et d'autres stimuli environnementaux. Ses stimuli peuvent avoir des conséquences différentes selon le stade de développement fœtal. Il s'agit initialement d'une adaptation évolutive de manière à ce que, si le fœtus a un environnement utérin défavorable par exemple, il développe un métabolisme efficace pour contrer ses carences post-natales. Néanmoins, si les apports nutritionnels, après la naissance, sont élevés, cela conduira plus à des anomalies métaboliques (142).

Cette notion de programmation fœtale est particulièrement importante lors de l'emploi des biotechnologies de la reproduction. Ces dernières impliquent le recours à des juments porteuses d'embryons produits *in vitro* ou *in vivo* qui vont donc régir le développement fœtal via leur placenta. En effet, l'environnement utérin est directement relié à la jument porteuse avec la surface du placenta, le poids et la densité des micro-cotylédons en étant les principaux mécanismes de contrôle (98).

Le choix de la jument porteuse est donc primordial pour assurer un développement optimal du poulain.

La programmation fœtale, procédé par lequel le fœtus s'adapte à son environnement utérin, pourrait avoir des conséquences sur l'état de santé du poulain à naître et par extension sur ses performances sportives ou reproductives.

Cela a une importance dans l'utilisation des biotechnologies de la reproduction, avec un choix judicieux des juments porteuses d'embryons qui doit être fait.

(ii) *Impact sur la santé du poulain*

Les conséquences de la programmation fœtale ont été mises en évidence dans l'espèce équine sur la fonction cardiovasculaire, le métabolisme énergétique (plus précisément la sensibilité à l'insuline) et le risque de développement des lésions d'ostéochondrose.

- **Modification de la fonction cardiovasculaire**

La **fonction cardiovasculaire** est assurée par le système cardiovasculaire. Ce dernier, comprenant le cœur et les vaisseaux sanguins, permet la circulation du sang à travers l'organisme. Cela permet l'apport d'oxygène et de nutriments en quantités suffisantes dans les tissus, ainsi que l'élimination des déchets métaboliques (160).

La fonction cardiovasculaire est déterminée par la **pression artérielle**, régulée par le **baroréflexe** (161). Ainsi, par exemple, une augmentation de la pression artérielle induit, par l'intermédiaire du baroréflexe, une activation du système neurovégétatif parasympathique et une inhibition du système neurovégétatif orthosympathique conduisant à une diminution de la pression artérielle (161). Les voies de fonctionnement de l'arc baroréflexe sont illustrées dans la figure 28.

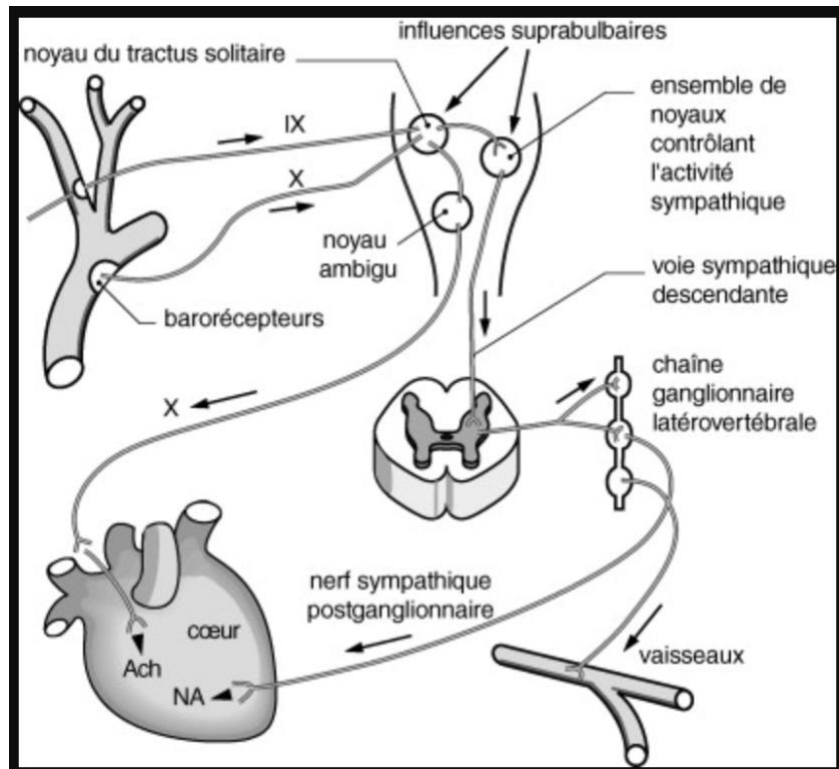


FIGURE 28: ILLUSTRATION DU FONCTIONNEMENT DE L'ARC BAROREFLEXE
SOURCE : R. ASMAR, 2007 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (162)

Légende :

Ach = Acétylcholine
NA = Nord Adrénaline

X = Nerf X (= nerf vague)
IX = Nerf IX (= nerf glosso- pharyngien)

Giussani et al (163)., ont mis en évidence qu'une augmentation de la croissance fœtale lors de transferts d'embryons de ponettes dans des juments porteuses de race Pur-Sang, conduisait, chez les poulains âgés de 6 jours, à une augmentation de la pression artérielle basale et ainsi, en une augmentation du seuil d'activation du **baroréflexe**.

Au contraire, les poulains issus d'une restriction fœtale *in utero* présentaient une augmentation de la sensibilité du baroréflexe et de la réponse des catécholamines plasmatiques à une hypotension aigüe sans modification de la pression artérielle.

La fonction cardiovasculaire est modifiée à la suite d'altérations des schémas de croissance fœtale. Cela peut favoriser l'apparition de maladies cardiaques sur le long terme chez les équidés, telles que des cardiomyopathies hypertensives (164).

- **Prédispositions aux pathologies métaboliques équin**

Les pathologies métaboliques équin

Il a été démontré que ces pathologies pouvaient avoir une prédisposition d'origine fœtale, ce qui questionne sur le rôle des biotechnologies de la reproduction dans le développement de ces pathologies.

- * *Altération du fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien*

Le PPID affecte 20 à 25 % des chevaux âgés de plus de 15 ans. Il s'agit de la principale endocrinopathie chez les chevaux et ses conséquences cliniques sont non négligeables, notamment avec une prédisposition aux fourbures, une diminution du système immunitaire, une léthargie ou une atrophie musculaire (165).

Cette pathologie est due à une production excessive d'ACTH par la *pars intermedia* de l'hypophyse, qui agit ensuite sur la corticosurrénale en stimulant la production de glucocorticoïdes.

Giussani et al (163)., ont observé au cours de leur étude qu'une augmentation de croissance fœtale conduisait à une augmentation de la réponse surrénalienne à l'ACTH.

Ainsi, il y aurait des modifications de fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien consécutives à des modifications des schémas de croissance fœtale.

Une modification du schéma de croissance fœtale, secondaire dans le cadre des biotechnologies de la reproduction au choix de la jument porteuse, modifie le fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien, ce qui peut prédisposer le poulain au PPID.

Cette modification du fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien n'est pas la seule modification du métabolisme énergétique pouvant être engendrée par des modifications des schémas de croissance fœtale.

* *Prédisposition à l'insulino-résistance*

Il a été démontré, que ce soit chez l'homme ou l'animal, des anomalies de l'homéostasie glucidique d'origine fœtale. Chez l'homme, par exemple, il y aurait une origine fœtale du diabète de type II et de l'insulino-résistance, comme illustré précédemment.

Gatford et al (166)., ont également montré chez les ovins qu'une restriction de la croissance fœtale induisait une modification de la sensibilité au glucose des moutons issus de ces gestations : cette dernière était augmentée jusqu'à l'âge de 30 jours et diminuée chez les adultes. Parallèlement, la masse de cellules bêta-pancréatiques des fœtus était réduite et celle des adultes augmentées, mais avec une altération de leur fonction et donc une réduction de la sécrétion de l'insuline.

De plus, des **modifications de la fonction pancréatique**, et notamment des cellules bêta, ont été également démontrées chez les chevaux immédiatement après la mise-bas (167).

Les cellules bêta du pancréas sont la source majoritaire de la production d'insuline et sont également impliquées dans les mécanismes d'insulinorésistance avec une modification possible de la sécrétion d'insuline.

Par conséquent, les modifications de l'environnement utérin et donc des schémas de croissance fœtale entraînent des modifications du métabolisme énergétique avec notamment des modifications de la sensibilité à l'insuline dans la période post-natale.

En équine, cette **résistance à l'insuline** est impliquée dans de nombreuses pathologies telles que le syndrome de Cushing, la fourbure, le diabète de type II, l'hyperlipémie, l'endotoxémie, et le syndrome métabolique équin (168).

L'étude de Peugnet et al (20)., vise à mettre en évidence les conséquences de l'environnement utérin sur le métabolisme énergétique des poulains qui en résultent au long terme.

Au cours de cette étude, il a été observé que la glycémie à jeun était plus élevée à 30 et 90 jours chez les poulains ayant subi une restriction de croissance fœtale. De plus, lors du test de tolérance au glucose par voie intraveineuse, l'augmentation de glycémie était significativement plus élevée chez les poulains ayant eu une restriction de croissance fœtale, avec un pic d'insuline réduit.

La tolérance au glucose et la sensibilité à l'insuline sont augmentées jusqu'à 6 mois d'âge chez les poulains issus d'une croissance fœtale accrue lors de la gestation.

Au contraire, lorsque la croissance fœtale est restreinte, les poulains semblent présenter une insulino-résistance jusqu'à l'âge de 6 mois.

Les cellules bêta du pancréas sont matures à 3 mois d'âge donc les sensibilités à l'insuline ne peuvent pas être associées à leur immaturité à 6 mois d'âge. L'insulino-résistance semble donc être due à une modification de la fonction pancréatique sur du long terme.

Ces résultats sont néanmoins à considérer avec précaution. Ils sont plus des pistes de réflexions pour des études ultérieures du fait du petit nombre d'animaux utilisés dans l'étude mais également du fait de l'utilisation de ponettes pour induire le modèle de restriction intra-utérine de la croissance fœtale. En effet, les poneys sont physiologiquement plus résistants à l'insuline avec des concentrations plasmatiques d'insuline et de leptine plus importantes. De plus, ils sont prédisposés au Syndrome Métabolique Équin (SME), ce qui peut influencer les résultats de l'étude.

Même si des études complémentaires sont nécessaires, il apparaîtrait que le métabolisme énergétique soit influencé par le schéma de croissance fœtale jusqu'à 6 mois d'âge, notamment avec un développement de l'insulino-résistance chez les chevaux issus de restriction fœtale.

Cela a un intérêt en médecine équine du fait de l'implication de l'insulino-résistance dans de nombreuses pathologies métaboliques équines.

Ainsi, de manière indirecte, les biotechnologies de la reproduction peuvent influencer le développement d'endocrinopathie chez les poulains via les choix des juments porteuses.

L'insulino-résistance des poulains aurait également un rôle dans le développement des lésions d'ostéochondrose (169), de telle sorte qu'une modification du métabolisme énergétique pourrait conduire à une modification du risque de développement de lésions d'ostéochondrose.

- **Rôle des biotechnologies de la reproduction dans la prévalence de l'ostéochondrose**

L'**ostéochondrose** affecte jusqu'à 44 % des jeunes chevaux, toutes races confondues (169). Elle est définie comme un défaut de l'ossification endochondrale qui touche la plaque de croissance (cartilage de croissance de la physe) ou le cartilage de l'épiphyse. Elle peut conduire à une **ostéochondrose disséquante** (cf. figure 29) ou à un **kyste de l'épiphyse** (cf. figure 30) (170).



FIGURE 29: RADIOGRAPHIE D'UN FRAGMENT D'OSTEOCHONDROSE DU RELIEF INTERMEDIAIRE DE LA COCHLEE TIBIALE CHEZ UN POULAIN DE 18 MOIS
SOURCE : LEPAGE, 2020 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'AUTEUR) (171)



FIGURE 30: RADIOGRAPHIE DORSO-PLANTAIRE DU PATURON D'UN POULAIN AGE D'UN AN PRESENTANT UNE OSTEOCHONDROSE DE TYPE KYSTIQUE
SOURCE : LEPAGE,2020 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'AUTEUR) (171)

Les lésions d'ostéochondrose du poulain pourraient avoir une origine fœtale consécutive à l'environnement de croissance fœtale.

Peugnet et al (155)., ont mis en évidence que la restriction fœtale intra-utérine était associée à une augmentation de l'ostéocalcine au sevrage.

L'**ostéocalcine** est une protéine non-collagénique de la matrice osseuse, biomarqueur de la formation osseuse. Ce marqueur est positivement corrélé aux lésions d'ostéochondrose à 5 mois (172).

De plus, cette étude a montré une augmentation du risque de lésions d'ostéochondrose à 200 jours chez les poulains issus de cette phase de restriction fœtale.

Même si ces résultats sont à considérer avec du recul en raison du faible nombre de chevaux dans l'étude, ainsi que d'un environnement maternel et une nutrition post-sevrage différentes dans les groupes d'études, cela suggère que les conditions de développement fœtal pourraient affecter l'apparition de lésions d'ostéochondrose chez les poulains via, notamment, le métabolisme de l'ostéocalcine.

Cette même étude a également démontré que la largeur des canons et la longueur des membres restaient plus faibles pour les poulains nés de ponettes par rapport aux autres poulains, alors que le reste des mensurations ne sont pas différentes. La **croissance** était ainsi **disharmonieuse**.

Cette croissance disharmonieuse pourrait engendrer des surfaces articulaires anormales, à l'origine de **microtraumatismes** répétés pouvant être à l'origine entre autres d'ostéochondrose.

Ainsi, une restriction fœtale pourrait induire une croissance disharmonieuse du poulain, augmentant le risque de lésions d'ostéochondrose via des microtraumatismes au niveau des surfaces articulaires.

Enfin, une étude de Van Weeren et al (173)., a corrélée les lésions d'ostéochondrose avec la croissance et le gain de poids des poulains. Ceux présentant des gains de poids et des hauteurs de garrot plus importantes seraient plus à même de développer des lésions d'ostéochondrose, notamment au niveau de l'articulation fémoro-patellaire. Or, l'étude de Peugnet et al (155)., mentionnée précédemment, a montré que les poulains ayant eu une croissance intra-utérine favorable, et donc ayant eu une croissance fœtale augmentée, auraient des gains de poids importants, tandis que les poulains issus de restriction fœtale auraient moins de gains pertes de poids mais des gains de taille, et donc de hauteur au garrot. Néanmoins, l'étude n'a pas montré d'augmentation du risque de lésions d'ostéochondrose à 200 jours chez les poulains issus de conditions fœtales favorables. Cela pourrait être dû aux conditions d'études et au faible nombre de poulains impliqués.

Une restriction fœtale conduit souvent à des gains de poids plus importants après la naissance du poulain, ce qui peut augmenter le risque de lésions d'ostéochondrose.

Il semblerait que les conditions de développement fœtal impacteraient le risque de lésions d'ostéochondrose, notamment avec une augmentation du risque lorsque les conditions sont restrictives.

Cela serait lié à une croissance disharmonieuse, à un gain de poids trop rapide et/ou à une modification du métabolisme de l'ostéocalcine.

Ceci est à prendre en considération lors de l'utilisation des biotechnologies de la reproduction, même si des études supplémentaires sont nécessaires pour objectiver ces hypothèses.

De plus, les lésions d'ostéochondrose chez les chevaux pourraient avoir une origine génétique. En effet, plusieurs études ont mis en évidence des expressions de gènes différentes chez les poulains atteints d'ostéochondrose par rapport aux poulains sains (174, 175).

L'expression des gènes pouvant être modifiée par des modifications épigénétiques survenant plus fréquemment lors de l'utilisation des biotechnologies de la reproduction, celles-ci pourraient génétiquement augmenter le risque d'ostéochondrose même si cela n'a pas encore été mis en évidence actuellement.

Par ailleurs, un poulain est également plus à risques de développer des lésions d'ostéochondrose lorsqu'il est dysmature ou prémature. Cela peut être secondaire à des retards de croissance intra-utérin, une fois de plus pouvant être induit par un mauvais choix de jument porteuse.

- **Prématurité et dysmaturité**

Le transfert embryonnaire est actuellement un modèle de retard de croissance intra-utérin, pouvant conduire à des **prématurités** ou à des **dysmaturités** des poulains. Ces dernières se caractérisent par une insuffisance pulmonaire du nouveau-né, une arythmie en post-natal immédiat, une hémiplegie laryngée, une hyperlipémie, des myopathies, des pathologies pulmonaires obstructives ou encore de l'ostéochondrose (176).

La prématurité ou la dysmaturité des poulains issus du transfert embryonnaire ont été mises en évidence par Allen et al (177).

Au cours de leur étude, les fœtus issus d'embryons de chevaux de selles étaient corrélés à une production plus importante d'œstrogènes, probablement dû au fait que leurs gonades étaient de taille plus importante et donc que leur sécrétion de précurseur C-19 était plus importante également.

De plus, ils ont montré que la concentration en progestagènes dans la dernière semaine de gestation était plus importante chez les ponettes portant des embryons de chevaux de selle que chez les juments de selle portant des embryons de poneys. L'augmentation de cette concentration en progestagènes était également plus précoce.

Or un stress fœtal dû à une placentite ou à l'administration de corticoïdes induit une augmentation précoce des progestagènes maternels et, par conséquent, une mise-bas précoce.

L'étude a montré un stress plus important des embryons de chevaux de selle lorsqu'ils sont transférés chez des ponettes et par conséquent une maturation précoce de leurs glandes surrénales à l'origine d'une sécrétion de pregnelone (hormone de conversion de la progestérone) plus importante par le cortex surrénalien. Les poulains sont alors nés plus précocement que ceux du groupe contrôle (331,6 +/- 2,8 jours contre 338 +/- 6,9 jours) et légèrement dysmatures.

Au contraire les poulains issus d'un environnement utérin plus favorable ont présenté une gestation plus longue que ceux du groupe contrôle (333,1 +/-3 jours contre 324,6 +/-3 jours).

Par conséquent, le transfert embryonnaire peut conduire à des dysmaturités du poulain selon les juments porteuses utilisées. Or, ces dysmaturités peuvent être délétères sur la santé et sur la performance future des poulains.

Enfin, la jument porteuse, qui est indispensable pour une majorité des biotechnologies de la reproduction, a un impact non négligeable sur l'état de santé du poulain. Or, ces juments porteuses sont souvent des juments de course réformées, choisies par l'éleveur pour son faible coût et éventuellement son caractère docile, qui la rendra plus facile à gérer au cours de la gestation et en période péri-partum (169).

Les biotechnologies de la reproduction présentent des risques pour la santé du poulain, notamment via la notion de programmation fœtale.

Actuellement, ces risques ont été mis en évidence pour la fonction cardio-vasculaire, le métabolisme énergétique et les lésions d'ostéochondrose, mais des études supplémentaires sont nécessaires.

Les biotechnologies de la reproduction peuvent également induire une prématurité ou une dysmaturité des poulains, ce qui impacte leur état de santé.

Ces conséquences sont notamment dues aux mères porteuses d'embryons, ce qui rend leur sélection primordiale.

2. Impact des biotechnologies de la reproduction sur le devenir du poulain

Les chevaux sont principalement élevés pour le sport, de compétitions mais également de loisirs. Les performances sportives des chevaux sont donc importantes pour les éleveurs et autres détenteurs. Ces performances sont dépendantes de plusieurs facteurs dont la génétique et la santé. Parallèlement, ou à la suite de leur carrière sportive, les chevaux sont également valorisés avec une carrière reproductive, d'autant plus si leurs performances ont été remarquables. Ainsi les performances de reproduction de ces derniers sont aussi importantes.

Il a été mis en lumière que les biotechnologies de la reproduction pouvaient, d'une certaine manière, affecter l'état de santé des chevaux. Il est donc intéressant de se demander si elles affectent également leurs performances sportives ou reproductives.

a) Modification des performances du poulain

Les performances sportives d'un cheval peuvent se mesurer de différentes façons. Chez les chevaux de selle, elles peuvent se mesurer par leurs résultats lors des compétitions. À titre d'exemple, chez les chevaux de courses, elles se mesurent par leur vitesse de course (178).

Chez les Pur-Sang, Paksoy et al (178). ont montré que les **mâles** présentaient de meilleures performances de course. Or, l'ICSI semble conduire principalement à la naissance de poulains mâles, comme vu précédemment.

Ainsi, à l'échelle des courses, l'ICSI permettrait d'améliorer les performances sportives de l'élevage en permettant la production d'un nombre plus important de poulains mâles.

Ces performances seraient également corrélées à la **taille des chevaux** : les chevaux de plus petite taille présenteraient de moins bonnes performances (178, 179). Or, le choix de la jument porteuse peut conduire, comme vu précédemment, à la production de poulains de plus petite taille.

Ainsi, les biotechnologies de la reproduction affecteraient les performances sportives des poulains indirectement via le choix de la jument porteuse.

Le choix de la jument porteuse exerce également une influence sur le **métabolisme énergétique** et la prévalence de l'**ostéochondrose** chez le poulain.

L'**ostéochondrose** est associée à une diminution des performances sportives des Warmblood, pour lesquels les résultats dans les compétitions de CSO (Concours de Sauts d'Obstacles) sont moins bons (180). Cela était particulièrement marqué lorsque les fragments d'ostéochondrose étaient situés sur le relief sagittal du métacarpe/métatarses III ou sur la lèvre latérale de la trochlée fémorale.

D'autre part, il semblerait que les **pathologies métaboliques** des chevaux affecteraient leurs performances, (169) et plus précisément ce serait l'insulino-résistance qui serait en cause (168, 181). Le mécanisme mentionné serait un défaut du métabolisme musculaire (182).

De plus, l'**insulino-résistance** intervient également dans la prévalence de l'**ostéochondrose**, ce qui renforce les hypothèses selon lesquelles les désordres du métabolisme énergétique induiraient une baisse de performance sportive des chevaux.

Cette **insulino-résistance** serait également impliquée dans la baisse des **performances de reproduction des chevaux** (183, 184). L'insuline intervient dans le fonctionnement ovarien, notamment en régulant la stéroïdogenèse ovarienne, le développement folliculaire et la prolifération des cellules de la granulosa, ce qui explique alors l'effet de l'insulino-résistance sur la fertilité de la jument (185). De plus, la modification du métabolisme des glucocorticoïdes, par une modification de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien, peut altérer les fonctions de reproduction des équidés (cf. figure 29).

Ainsi, les biotechnologies de la reproduction diminueraient les performances sportives et reproductives des chevaux qui en sont issus, en augmentant le risque d'insulino-résistance, de lésions d'ostéochondrose et le fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien.

En somme, les biotechnologies de la reproduction seraient indirectement liées à une modification des performances des chevaux, notamment via la sélection des juments porteuses. En effet, leurs choix conduisent à des modifications de taille, du métabolisme énergétique ou du risque de lésions d'ostéochondrose chez le poulain, ce qui altère ces performances sportives ou reproductives.

Des plus, ces biotechnologies seraient également directement liées à des modifications des performances sportives des chevaux, notamment en augmentant la proportion de poulains mâles suite à l'ICSI.

b) Modification du comportement du poulain

Il a été démontré que le comportement maternel influençait le comportement des chiots et leurs réponses au stress de sorte que si la chienne présente un comportement maternel important alors les chiots auront tendance à être également plus maternels à l'âge adulte s'ils ont une portée et seront moins sensibles au stress. En effet, le léchage et la toilette de la chienne sur les chiots auraient pour conséquence de modifier la méthylation des gènes codant pour les récepteurs aux glucocorticoïdes dans l'hippocampe, augmentant alors la sensibilité du rétrocontrôle des corticoïdes et donc une diminution de la production d'ACTH, hormone associée au stress (142).

Cela aurait une importance considérable dans l'espèce équine où la réponse au stress, la capacité d'adaptation et le contact humain est indispensable pour leurs entraînements et leur carrière sportive ou reproductive. Il y aurait également un impact de ce rôle maternel sur le comportement sexuel des petits une fois arrivés à la puberté.

Cela a été démontré chez les rats, où les ratonnes issues de mère présentant un faible comportement maternel présentaient un comportement sexuel exacerbé. Cela a une importance relative dans l'utilisation des biotechnologies de la reproduction, où la jument porteuse des embryons, que ce soit pour le transfert embryonnaire, le clonage, l'ICSI, n'a pas forcément le même comportement que la jument donneuse.

Les biotechnologies de la reproduction peuvent avoir un impact sur le comportement du poulain via le choix de la jument porteuse, ce qui souligne son importance.

Des études supplémentaires seraient nécessaires dans la filière équine pour confirmer ou non les observations effectuées dans les autres espèces et, par conséquent, l'impact des biotechnologies de la reproduction (dans le choix de la jument porteuse) sur le comportement des poulains.

Il a été mis en évidence que les biotechnologies de la reproduction, même si elles permettent d'obtenir des poulains à haut potentiel génétique, ne sont pas sans risques pour la santé mais également pour les performances de ces derniers. Cela est donc contre-productif pour l'éleveur puisqu'allant à l'encontre de ses objectifs d'élevage. Ces atteintes peuvent cependant être contournées pour la plupart avec un choix judicieux des juments porteuses, mais également grâce à l'utilisation de tests génétiques, notamment pour les performances sportives des poulains (65). Mais ces tests génétiques pré-implantatoires sont éthiquement discutables et posent des questions sociétales et professionnelles pour les vétérinaires.

IV. CONSEQUENCES DES BIOTECHNOLOGIES DE LA REPRODUCTION DANS L'ELEVAGE DES EQUIDES

Les biotechnologies de la reproduction sont actuellement largement répandues à travers le monde avec le développement, ces dernières années, de nombreux laboratoires proposant cette procédure en collaboration avec les centres de reproduction. Par exemple, en 2016, dix programmes de reproduction proposaient l'OPU-ICSI à travers le monde et ce chiffre est passé à quinze en 2017 (186). Le développement à travers le monde de cette biotechnologie n'est qu'un exemple car il est également applicable au transfert d'ovocytes et au clonage nucléaire, le transfert d'embryon et l'insémination artificielle étant déjà bien intégrés aux programmes d'élevage à l'international. Ce contexte a des conséquences sur la filière équine, à la fois sur le patrimoine génétique, mais également sur la gestion sanitaire des équidés intégrés aux programmes de reproduction. L'impact administratif financier et le questionnement éthique lié à ces biotechnologies de la reproduction sont également non négligeables. C'est ce qui sera étudié dans cette dernière partie.

A. Impact sur la variabilité et la conservation génétique

Les biotechnologies de la reproduction ont pour but de favoriser la diversité et la conservation génétique au sein des race d'équidés en permettant la reproduction d'un nombre important d'étalons et de jument à travers le monde. Ces biotechnologies sont notamment intéressantes lorsqu'elles assurent la conservation de races d'équidés.

1. Conservation génétique des races en voie de disparition

L'extinction de races d'animaux d'espèces différentes s'est beaucoup accélérée au cours des dernières décennies. L'une des raisons principales est la croissance exponentielle de la population humaine qui empiète sur les ressources territoriales et alimentaires de ces animaux. Actuellement, 42 100 espèces sont en voie de disparition d'après l'IUCN (International Union for Conservation of Nature) (187), dont 27% sont des mammifères. Chez les équidés, à titre d'exemple, le cheval de Przewalski (*Equus Ferus Przewalskii*) a disparu en Asie dans les années 1970 (cf. figure 31) (188).

Chupin (189) a exposé que les **inséminations artificielles promeuvent les races locales** en permettant des inséminations de femelles par de la semence de mâles de la même race, stockée par cryoconservation. En effet, la **cryoconservation**, en n'altérant pas la qualité de la semence des étalons, participe à la création de banques génétiques conséquentes sur du long terme (190).

Cela fait de l'insémination artificielle une méthode d'élevage efficace des chevaux de Przewalski actuellement en captivité. Les embryons peuvent ensuite être collectés et cryoconservés ou transférés dans des utérus de juments d'autres races. Ce fut notamment le cas de onze embryons de chevaux de Przewalski, transférés chez des juments de type Welsh. Cela a donné naissance à quatre poulains. Le **transfert embryonnaire inter-race** fait donc également partie des méthodes de conservation génétique des races en voie de disparition (191).



FIGURE 31: JUMENT PRZEWALSKI ASIATIQUE ET SON POULAIN DANS LE HUSTAI NATIONAL PARK
SOURCE : COLLINS ET AL., 2011 - PHOTOGRAPHIE PAR LEE BOYD (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (191)

Les poulains Przewalski nés en captivité sont ensuite réintroduits dans la nature (191). Des poulains naissent ensuite en milieu naturel ce qui permet le repeuplement « sauvage » de ces équidés.

L'utilisation des biotechnologies de la reproduction pour la conservation des espèces serait plus efficace que les programmes d'élevage en captivité car ils sont moins chers et généralement plus efficaces (190).

La **fécondation *in vitro*** (FIV) permettrait également d'utiliser des ovocytes de femelles en voie de disparition, notamment à cause de leurs conditions de vie ou à la suite d'un accident, ainsi que des spermatozoïdes subfertiles. Cela assure une conservation du patrimoine génétique de ces animaux qui, sans les biotechnologies de la reproduction n'auraient pas pu transmettre leur génome (189). Chupin a décrit, chez les bovins, la nécessité de faire naître au moins vingt-cinq femelles prêtes à se reproduire et non apparentées pour permettre un repeuplement efficace. Cela peut être réalisé grâce au sexage des embryons après FIV.

Chez les équidés, la fécondation *in vitro* n'est, à l'heure actuelle, pas satisfaisante mais ce raisonnement peut s'appliquer à l'**ICSI**.

Le **repeuplement par clonage** à partir d'un ou deux individus pourrait également être envisagé. Cependant les conséquences sur la variabilité génétique de la population seraient non négligeables. En effet, d'une part, il ne peut pas être considéré que tout le patrimoine génétique d'une race soit représenté par seulement un ou deux individus. D'autre part, le clonage permet également la reproduction d'animaux qui n'auraient pas pu se reproduire autrement (exemple des hongres), ce qui augmente aussi le patrimoine génétique disponible pour la reproduction et, par conséquent, participe à la conservation et à la diversité génétique (190).

En somme, les biotechnologies de la reproduction sont un outil majeur de conservation du matériel génétique et, par conséquent, de préservation de certaines races en voie de disparition, même si elles ne sont, à l'heure actuelle, pas utilisées à ces fins dans l'espèce équine.

Cela se fait grâce au stockage de matériels génétiques par cryoconservation de gamètes et/ou d'embryons, mais également grâce aux inséminations artificielles, à l'ICSI et au clonage.

Parallèlement à cette conservation génétique, les biotechnologies de la reproduction agissent sur la variabilité génétique, au sein des populations, par manipulation directe (micromanipulations des gamètes et embryons) ou indirecte (sélections génétiques) des génomes.

2. Modification de la diversité génétique au sein des populations et conséquences sur la santé et les performances des chevaux

Les biotechnologies de la reproduction visent à permettre la reproduction de chevaux subfertiles ou présentant des impossibilités physiques ou sportives de se reproduire.

D'une part, elles impliquent souvent des micromanipulations de gamètes favorisant les modifications épigénétiques et, par conséquent, favorisant la variabilité génétique des populations (79).

D'autre part, elles permettent d'obtenir des poulains issus des mêmes étalons et/ou des mêmes juments grâce à la multiplication des gamètes et embryons disponibles pour un individu ou un couple d'individus. Cela peut diminuer la variabilité génétique de la population.

a) Diminution de la variabilité génétique

La **diminution de la variabilité génétique** consécutive à l'utilisation des biotechnologies de la reproduction a été étudiée par Azcona et al (192)., au sein de la population de chevaux de Polo.

Cette race de chevaux est issue, depuis les années 1980, de croisements entre chevaux élites de la nation, chevaux de races pures, et d'autres chevaux remplissant des critères morphologiques et des critères d'aptitudes. Depuis sa création, sous le contrôle de « Asociación Argentina de Criadores de Caballos de Polo », cette race a énormément fait appel aux techniques de reproduction assistée. Ainsi, durant cette dernière décennie, le pourcentage de poulains issus du transfert embryonnaire a atteint plus de 50 % des poulains nés.

Pour évaluer l'effet de l'utilisation massive du **transfert embryonnaire** sur la variabilité génétique d'une population donnée, les **profils génétiques** des individus de cette population ont été étudiés.

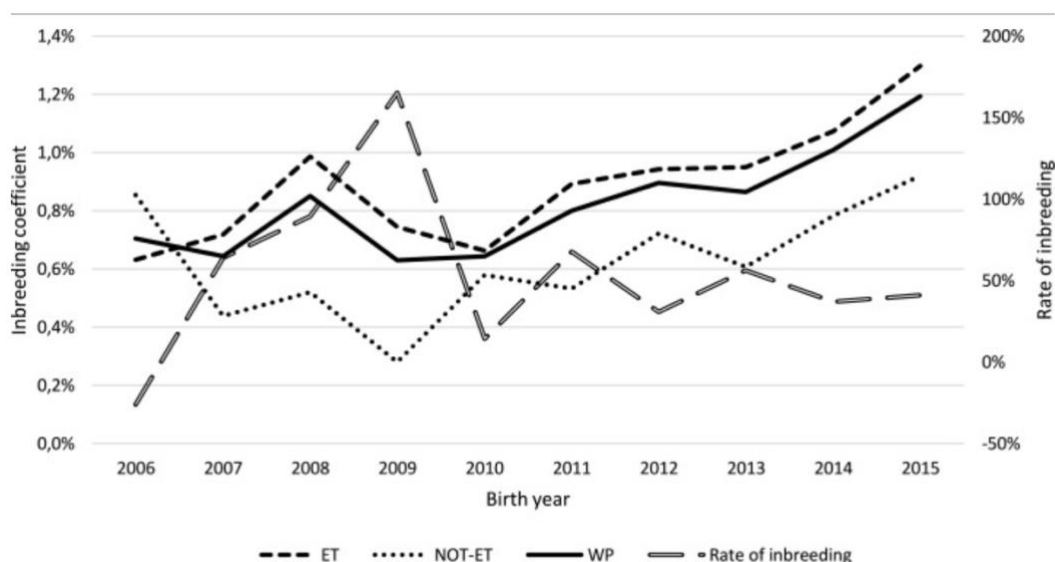


FIGURE 32: ÉVOLUTION DU COEFFICIENT DE CONSANGUINITE CHEZ WP, NOT-ET, ET DES DERNIERES GENERATIONS ET DU TAUX DE CONSANGUINITE ENTRE LES GROUPES ETUDIES
SOURCE : AZCONA ET AL., 2020 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (192)

Légende :

Inbreeding coefficient = coefficient de consanguinité

Rate of Inbreeding = Taux de consanguinité

Birth year = Année de naissance

ET = chevaux nés du transfert embryonnaire

NOT – ET = chevaux non nés du transfert embryonnaire

WP= Population de référence

Azcona et al., ont ainsi pu démontrer au cours de cette étude que cette utilisation massive conduit à une diminution de la variabilité génétique.

Cette diminution de la variabilité génétique a également été observée par Sitzenstock et al (193). au cours d'un programme allemand d'élevage de chevaux, et également par d'autres auteurs pour les chevaux de sports brésiliens (194) ou encore les chevaux de trait (195). Veli et al (196)., ont montré que le taux de consanguinité chez les trotteurs Norvégien-Suédois avait significativement augmenté entre 2000 et 2009, proportionnellement à l'utilisation des biotechnologies de la reproduction.

Par conséquent, le **coefficient de consanguinité** a tendance à augmenter au sein des populations. Ce dernier se définit comme la probabilité que deux allèles dans un locus soient identiques chez un produit de la reproduction (190).

Potočnik (197) a mis en avant le fait que **le système de sélection** dans l'espèce équine se fait principalement selon des critères de performance des chevaux et de ceux qui leur sont généalogiquement proches, ainsi que sur des critères morphologiques. Ainsi les éleveurs font souvent appel aux mêmes étalons, comme Savabell qui est à l'origine de plus de 1 000 poulains.

La **cryoconservation**, le **transport** et les **micromanipulations de gamètes** la possibilité d'utiliser un unique étalon pour de multiples juments ou même la possibilité d'obtenir plusieurs poulains issus du même couple de chevaux. Un étalon peut donc être à l'origine d'un grand nombre de poulains au cours d'une unique saison de monte et, grâce aux techniques de cryoconservation, d'un certain nombre de poulains au cours de sa vie (plusieurs saisons de monte successives). Chez les étalons Selle Français, la majorité des étalons réalisent moins de dix saillies tandis que 2 % seulement en réalisent plus de 100 (198).

Le système de sélection dans les élevages équins conduit à des choix très similaires de juments et d'étalons pour la reproduction. Ainsi, grâce au développement des différentes biotechnologies de la reproduction, un étalon peut être à l'origine de nombreux poulains chaque saison.

Cela diminue la variabilité génétique de la population et augmente le taux de consanguinité.

b) Effet délétère de la consanguinité

La **consanguinité** a été démontrée comme **délétère** dans les populations équines, tant pour les performances sportives que pour les performances de reproduction.

Sevinga et al (199)., ont mis en avant que l'incidence de la rétention placentaire chez les chevaux Frisons était au moins en partie associée à l'augmentation du taux de consanguinité dans cette race.

L'effet de la consanguinité sur les **performances reproductives** des mâles a également été étudié chez les gazelles (190). En effet, des marqueurs de la fertilité, tels que la motilité des spermatozoïdes, leur morphologie et l'intégrité de leurs acrosomes ont été mesurés parallèlement à la consanguinité.

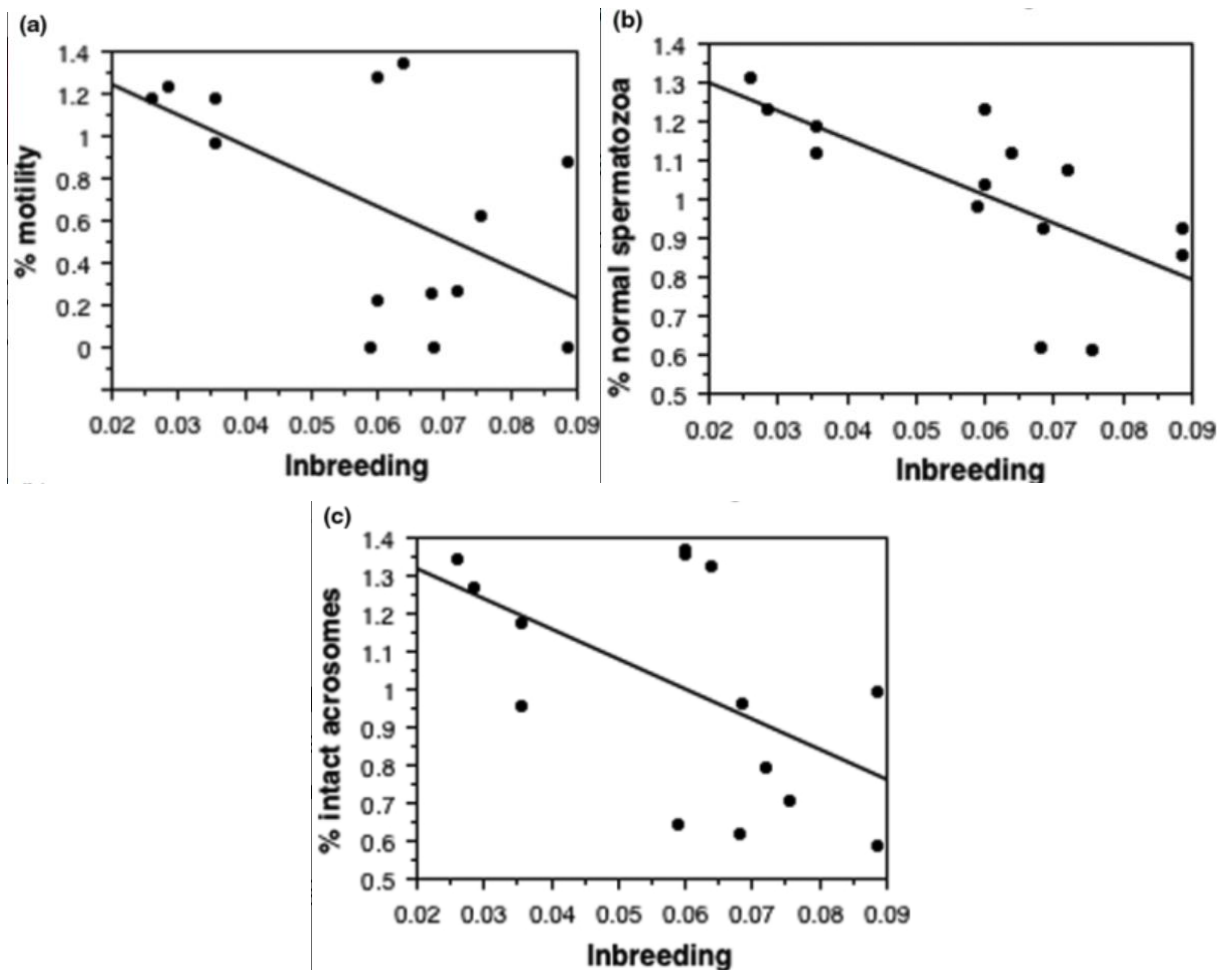


FIGURE 33: GRAPHIQUE REPRESENTANT LE POURCENTAGE DE (A) - MOTILITE, (B) MORPHOLOGIE NORMALE, (C) ACROSOME INTACT DES SPERMATOZOÏDES DE GAZELLE EN FONCTION DU COEFFICIENT DE CONSANGUINITE

SOURCE : ROLDAN ET AL., 2006 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (190)

Légende :

% mobility = pourcentage de mobilité

Inbreeding = consanguinité

% normal spermatozoa = pourcentage de spermatozoïde dont la morphologie est physiologique

% intact acrosomes = pourcentage d'acrosomes intacts

Il a été observé que ces paramètres étaient inversement proportionnels au coefficient de consanguinité (cf. figure 33). Ainsi, la consanguinité altère la fertilité des mâles.

Cela n'a pas été étudié chez les équidés mais c'est une piste à explorer car les conséquences pour l'élevage des équidés ne sont pas anodines. En effet, la proportion d'étalons dont le coefficient de consanguinité est important tend à augmenter avec l'augmentation de l'utilisation des biotechnologies de la reproduction. De fait, les étalons issus des biotechnologies de la reproduction pourraient présenter une fertilité diminuée.

Todd et al (200)., ont mis en avant que la consanguinité affectait négativement les **performances de courses** chez les chevaux de courses australiens.

Enfin, l'augmentation du coefficient de consanguinité peut affecter l'état de santé des animaux avec une augmentation de la **sensibilité aux parasites** chez les gazelles et chez les rennes ibériques (190, 201).

Par conséquent, l'augmentation du coefficient de consanguinité consécutif à l'utilisation massive des biotechnologies de la reproduction au sein d'une population aurait des effets néfastes sur les performances de reproduction, les performances sportives et l'état de santé des chevaux.

c) Augmentation du gain génétique

Néanmoins, parallèlement à la diminution de la variabilité génétique, ces études ont également mis en évidence que l'utilisation des biotechnologies de la reproduction et le mode de sélection actuel en élevage contribuent à une augmentation du gain génétique pour des traits de performance et/ou de reproduction. On entend par gains génétiques l'amélioration des descendants par rapport à leurs parents.

A titre d'exemple Sitzenstock et al (193)., ont étudié le gain génétique dans les populations de chevaux étudiés pour les traits de performance de dressage et de sauts d'obstacles. Ils ont observé que plus le nombre de juments donneuses était important et plus le gain génétique était également important, pouvant atteindre jusqu'à 158 % selon les scénarios. Cette augmentation du gain génétique est également observée par Palmer et al (202). De plus, il y a également une augmentation de la diversité d'étalons disponibles pour la reproduction grâce à la cryoconservation et au transport international de gamètes et/ou d'embryons.

De plus, les tests génétiques pré-implantatoires sur les embryons permettent de dépister certaines maladies à prédisposition génétique, participant à leur éradication dans la race équine concernée (cf. partie II-C-5)).

D'un autre côté, la consanguinité pourrait être évitée par l'augmentation du nombre d'étalons et de juments disponibles pour la reproduction grâce aux biotechnologies de la reproduction. Hamann et al (203)., ont notamment montré au cours de leur étude que le taux de consanguinité au sein de la population de chevaux Hanovriens, population au sein de laquelle les biotechnologies de la reproduction sont très utilisées, était de 1,3 % en moyenne. Ce taux de consanguinité est faible notamment parce que les chevaux Hanovriens ont accès à des étalons et des juments de différentes races pour leur reproduction. De plus, la sélection génomique permettrait également de diminuer le risque de consanguinité, ce qui motive les organismes d'élevage équin à l'implanter dans les programmes de reproduction (197). Le clonage permettrait également de lutter d'une certaine manière contre cette consanguinité car il offre la possibilité de reproduire de nouveaux étalons issus du clonage d'hongres présentant des résultats intéressants en compétition.

Actuellement, les **réglementations de libre concurrence de l'union européenne** contredisent l'implémentation d'un quota de saillies limitées par étalon même si certains gestionnaires de haras et certains étalonniers souhaitent un retour à la limitation. Ce retour à la limitation nécessite cependant un accord de l'ensemble des pays impliqués pour les races dont le Studbook est international, contrairement au Studbook des trotteurs français qui est national et qui limite le nombre de saillies à cent juments par étalon (26). Le nombre d'étalons utilisés pour la reproduction est donc faible, pouvant conduire sur du long terme à un goulot d'étranglement génétique et la perte de certains allèles après plusieurs générations. Pour limiter ce goulot d'étranglement, certains Studbook limitent le nombre de poulains pouvant être produits par étalon et par saison de reproduction.

Ainsi, les biotechnologies de la reproduction ont un effet à double tranchant sur la variabilité génétique, en la promouvant d'une part avec l'augmentation du nombre d'étalons et de juments disponibles à travers le monde, mais en la diminuant d'autre part lorsque les mêmes juments et/ou étalons sont utilisés pour produire plusieurs poulains.

Les banques génétiques participent également à cette diminution en conservant des génomes qui peuvent être réutilisés la saison suivante ou plusieurs années après, même s'il est important de noter que cela permet également une conservation des races.

Des réglementations sur le nombre de poulains pouvant être issus d'une jument, d'un étalon ou d'un couple pourraient donc être mises en place pour réduire l'étranglement génétique. Néanmoins, cela nécessite des accords internationaux et pourrait tendre à diminuer le gain génétique. Un équilibre est donc à trouver, en se basant notamment sur des études supplémentaires.

B. Impacts sanitaires des biotechnologies de la reproduction

Les biotechnologies de la reproduction impliquent la manipulation de gamètes et d'embryons, ainsi que leur import ou leur export. Cela peut être à l'origine de risques sanitaires pour les juments donneuses ou receveuses, ainsi que pour les élevages.

1. Mise en évidence des risques sanitaires associés aux biotechnologies de la reproduction

a) Risques associés à la manipulation des embryons

Une partie des risques sanitaires associés à l'utilisation des biotechnologies de la reproduction proviennent de la récolte et du transfert d'embryons produits *in vivo*, mais également de la récolte d'ovocytes et du transfert d'embryon produits *in vitro*.

Thibier (204) a établi la liste des risques sanitaires associés à la manipulation des embryons et des ovocytes. Les risques mentionnés sont les suivants :

- **Risques associés à la récolte d'embryons produits *in vivo***

Au cours du transfert d'embryons, les pathologies transmises peuvent être des pathologies systémiques de la jument donneuse ou des pathologies génitales de cette dernière.

L'IETS (International Embryo Transfer Society) (205) liste les pratiques à mettre en œuvre pour réduire ce risque. Ces pratiques sont l'examen clinique du donneur, le lavage approprié de l'embryon et son inspection sous microscope. Enfin, pour tout transfert d'embryons, il est nécessaire d'obtenir l'accord officiel de l'équipe de transfert d'embryons.

Les nombreuses procédures préventives mises en place permettent de réduire considérablement ce risque puisqu'actuellement aucun cas de transmission n'a été rapporté.

Les études effectuées n'incluent cependant pas tous les agents pathogènes.

- **Risques associés à la production d'embryons *in vitro***

Il n'est pas possible d'extrapoler les interactions pathogènes-embryons pour des embryons produits *in vivo* à celles pour des embryons produits *in vitro*. En effet, leurs différences de morphologie conduiraient à des interactions différentes.

D'après Thibier et al (204)., pour les embryons produits *in vitro*, les dangers proviennent :

- De la femelle donneuse et du mode de récolte des ovocytes : lors de récolte sur une jument morte, il est difficile d'établir l'état de santé de la jument et il y a un risque de contaminations par le milieu extérieur. Lors d'OPU, il y a les mêmes risques que pour la collecte d'embryons, auxquels s'ajoutent les risques associés à la récolte successive des ovocytes et les risques de transport du matériel
- Du procédé de maturation
- De la fécondation
- De la coculture *in vitro* – risque BVD ou BHV1
- De la cryoconservation
- De la décongélation et du transfert.

Par conséquent, l'IETS Procedures Manual liste également des consignes de bonnes pratiques pour limiter les risques sanitaires. Cependant Guérin, dans le colloque de l'ANSES de 1999 (206), semble considérer que les risques sanitaires associés à la production *in vitro* d'embryons semblent plus faibles du fait d'un contrôle plus important à chaque étape de leur production.

Néanmoins, Thibier et al (204)., ont mis l'accent sur le fait que tous les risques sanitaires n'ont pas encore été identifiés ou mis en évidence. Ils font notamment mention des risques associés au **génotypage des embryons** pour le sexage ou les diagnostics précoces, au cours desquels la **zone pellucide est fragilisée** ce qui peut faciliter l'entrée d'agents pathogènes.

Il y aurait également un risque associé à **l'émergence de rétrovirus** et de pathologies associées. L'épidémiologie a montré que les maladies et les agents pathogènes émergeaient, disparaissaient et potentiellement réémergeaient. Cela peut être dû aux structures génomiques des individus sensibles à ces agents pathogènes. Les rétrovirus sont notamment des agents pathogènes candidats pour ce genre d'interactions.

L'expression d'une maladie est l'association de l'exposition du pathogène avec la sensibilité ou réceptivité de l'hôte. Ainsi la **manipulation des embryons** à un niveau génomique pourrait résulter en des changements drastiques induisant des modifications de sensibilité ou de réceptivité des individus.

La micromanipulation des embryons, que ce soit lors de collecte, de production *in vitro* ou de génotypage, s'accompagne de risques sanitaires pour la jument receveuse d'embryons. Des consignes de bonnes pratiques sont alors éditées pour limiter ces risques.

Néanmoins, tous les risques n'ont pas encore été explicités, notamment celui de la réémergence de rétrovirus. Il est donc important de rester vigilant et de poursuivre les études en cours.

b) Risques associés à l'import et à l'export de gamètes et d'embryons

L'import et l'export de produits vivants n'est pas anodin pour la santé des individus impliqués.

De nombreuses études ont permis de mettre en place des modèles d'évaluation des **risques sanitaires** lors du **transport d'embryons ou d'ovocytes**.

Asseged et al (207)., ont mis en évidence le risque faible d'introduction du virus de l'anémie infectieuse équine aux États Unis à partir d'embryons clonés de chevaux importés du Canada.

Ce risque faible à inexistant est également confirmé par l'étude de Gregg et al (208).

Cependant, peu d'études sont encore disponibles sur le risque de transmission de pathogènes lors du commerce international d'embryons ou d'ovocytes, comme décrit dans l'extrait de l'article de Gard Schnuelle (209). Des mesures de biosécurité strictes doivent donc être appliquées.

Le **transport de spermatozoïdes** (frais, réfrigérés ou congelés) peut également être source de risques sanitaires.

Wrathall et al (210)., ont mentionné un travail non publié de Holoyak au cours duquel ils ont émis l'hypothèse que le virus de l'artérite virale équine est étroitement lié à la membrane des spermatozoïdes des étalons infectés. Dans ce travail, ils auraient réussi à éliminer le virus des spermatozoïdes infectés expérimentalement par centrifugation avec le gradient de Percoll, colonne de séparation de Sephadex et lavages. Mais leurs travaux n'ont pas abouti pour des spermatozoïdes d'étalons infectés naturellement.

Par conséquent, les **spermatozoïdes d'étalons** pourraient, malgré les traitements mis en place, être porteurs de l'artérite virale équine qui représente un **risque sanitaire** pour l'espèce équine.

En somme, le transport de gamètes peut être source de risques sanitaires pour les juments receveuses et pour l'élevage dans lequel elles se trouvent. Des mesures sanitaires strictes doivent être appliquées pour contrer ces risques.

2. Réglementation permettant de contrôler actuellement les risques sanitaires

Les biotechnologies de la reproduction sont soumises à un certain nombre de règlements, au niveau national, intra-communautaire (Européen) mais également international. Ces règlements ont pour but d'assurer une innocuité sanitaire aux juments, aux étalons mais également à l'ensemble de la population dans une optique « One Health ».

Humblot, dans un colloque scientifique de l'ANSES de 1999 (206), a décrit que ce contrôle sanitaire strict correspond au contrôle des différents protagonistes, ainsi qu'au contrôle de toutes les étapes impliquées dans les différentes biotechnologies de la reproduction.

a) Réglementation relative aux équidés

(i) Réglementation relative aux équidés impliqués dans la monte artificielle

Depuis le début de la mise en place des biotechnologies de la reproduction dans les différentes espèces animales, les vétérinaires ont pris soin de mettre en place des tests et des recommandations pour éviter la transmission de maladies infectieuses par la semence. Les exigences sanitaires pour l'insémination artificielle sont listées, avec leurs dérogations, dans la note de Service DGAL/SDSPA/N2008-8038 en date du 22 février 2008 du ministère de l'agriculture (211).

Les réglementations sanitaires concernent les maladies à transmission vénérienne, telles que de l'Artérite Virale Équine, de l'Anémie Infectieuse Équine et de la Mérite Contagieuse Equine, ainsi que les pathologies infectieuses telles que la Grippe Équine, la Rhinopneumonie Equine et la Dourine. Les contrôles dépendent à la fois du centre de collecte de la semence mais également du Stud-Book de l'étalon. La figure 34 résume ces conditions sanitaires.

Suivi sanitaire des étalons



Race de production	Certificat aptitude Monte naturelle	Dourine	Anémie Infectieuse des Equidés (AIE)	Métrite Contagieuse Equine (MCE)	Artérite Virale Equine (AVE)	Grippe	Rhino pneumonie
Étalons en IA toutes races ⁽¹⁾			X	X	X	X	X
PS, AQPS ^{Niveau 4}	X	X	X	X + Métrite à K. pneumoniae et P. aeruginosa	Complet	X	X
Selle Français, trotteur Français ^{Niveau 4}			X	X	Complet	X	X
Anglo-Arabe, Demi-sang AA, Arabe ⁽²⁾ , Demi-sang Arabe ⁽²⁾ , Cheval Corse, Connemara, CSAN, New-Forest ⁽³⁾ , Poney Français de Selle, Welsh ^{Niveau 4 allégé}			X	X	Allégé	X	X
Mérens ⁽⁴⁾ , Shagya ^{Niveau 3}			X	X		X	X
Trakehner ^{Niveau 2}					Complet		
Cheval de Dressage Français, Cob normand, Crème, Henson, Islandais, Lipizzan, Lusitanien ^{Niveau 1}					Allégée		
Breton ^{Niveau 1 bis}						X	
Castillonnais ^{Niveau 1 ter}							X

Suivi sanitaire des juments



RACES	MCE	AVE	Grippe	Rhino pneumonie
PS, AQPS (toutes les juments saillies par un PS ou un AQPS quelle que soit la race de production)	X + Métrites à K. pneumoniae et P. aeruginosa	X	X	X
Arabe et Anglo-Arabe adhérent au protocole sanitaire « label course »	X	X	X	X
Trotteur Français			X	X
Selle Français, Anglo-Arabe			X	(recommandé)

FIGURE 34: EXIGENCES SANITAIRES POUR LA REPRODUCTION DES EQUIDES EN 2023
SOURCE : © INSTITUT FRANÇAIS DU CHEVAL ET DE L'EQUITATION (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR)

Grâce à ces réglementations, les biotechnologies de la reproduction permettent, d'après Loigerot (22), de réduire la circulation des maladies vénériennes des équidés (Métrite Contagieuse Équine, Anémie Infectieuse Equine ou encore Artérite Virale équine) et des maladies contagieuses (Grippe Équine, Rhinopneumonie).

À ces contrôles sanitaires sont associés des consignes sanitaires de préparation de la jument. Ces consignes sont identiques pour l'insémination artificielle, la collecte d'embryons et la récolte d'ovocytes par OPU.

(ii) Contrôle sanitaire de la jument

De manière à prévenir l'introduction d'agents pathogènes et autres contaminants dans les voies génitales au cours de la procédure d'insémination, un nettoyage de la région périnéale de la jument est nécessaire, comme illustré dans la figure 35 (4, 212).

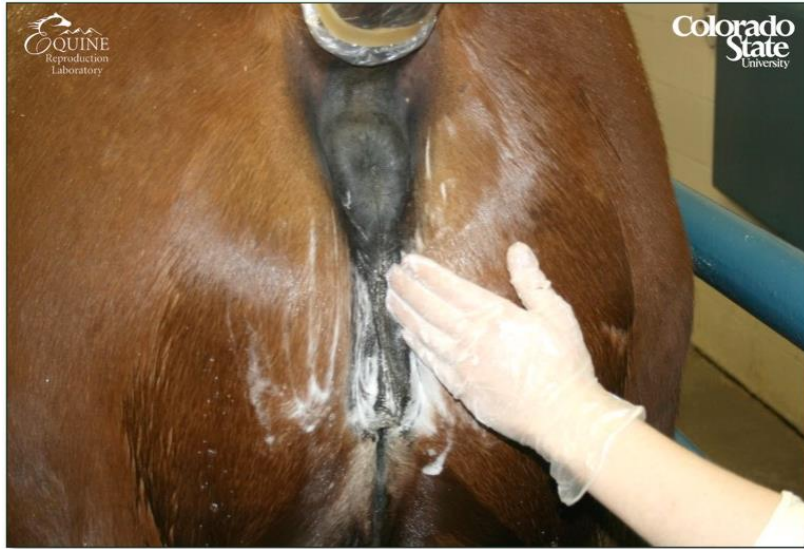


FIGURE 35: NETTOYAGE DE LA REGION PERINEALE DE LA JUMENT
SOURCE : McCUE, 2019 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (4)

Pour cela, la jument est généralement placée dans un travail, au calme, avec la queue attachée de manière à ce qu'elle soit relevée afin d'avoir un accès au tractus génital et au rectum (212).

La région périnéale est nettoyée à la povidone iodée, trois fois de suite selon le protocole suivant : savonnage de la vulve, puis de la périphérie directe de la vulve et enfin de l'anus (sauf au cours du 3^{ème} passage). Entre chaque nettoyage, la vulve est rincée à la douchette ou avec un seau d'eau propre et, à la fin du dernier nettoyage, elle est séchée avec du papier uni-usage jetable. Il est important de veiller à ne pas faire pénétrer de povidone dans le tractus génital au cours des différents lavages pour ne pas causer d'irritations de la muqueuse génitale (4, 212).

b) Réglementation relative aux centres et aux pratiques

Dans le cadre des **inséminations artificielles**, les centres de collecte de semences doivent respecter un certain nombre de règles, développées dans l'arrêté du 4 novembre 2010.

Pour les centres d'insémination, les dispositions sont mentionnées dans l'arrêté du 21 janvier 2014. Le centre doit être sous la responsabilité d'un chef de centre titulaire d'une licence de chef de centre (ou à défaut d'un inséminateur titulaire de cette même licence si la collecte et l'insémination ont lieu au même endroit) et d'un vétérinaire sanitaire. Les locaux de collectes du centre doivent être réservés à cet usage, isolés des aires de logements et d'exercice des équidés ainsi qu'interdits au passage d'animaux de statut sanitaire inférieur. Les équipements de récolte doivent être nettoyés, désinfectés et stérilisés. Quant au traitement du sperme, celui-ci doit se faire dans un local séparé des installations de collecte et de nettoyage.

De la même manière, l'arrêté du 28 mars 1996 fixe les **conditions relatives à la transplantation d'embryons** dans l'espèce équine : conditions générales de récoltes et d'embryons, procédure d'agrément des centres de transferts d'embryons et identification et propriété des embryons.

En plus de ces réglementations visant, entre autres, à assurer une immunité sanitaire aux équidés, des règlements concernant les **contrôles sanitaires des activités de reproduction animale** sont énumérés dans le code rural. Ils sont en particulier mentionnés dans les articles L222-1 relatifs aux activités professionnelles soumises à agréments sanitaires et règles sanitaires à respecter, R222-2 et R222-3 relatifs aux conditions et modalités de délivrance de l'agrément sanitaire, D222-5 relatif aux règles de fonctionnement et règles sanitaires des établissements et professionnels agréés, et enfin à l'article R222-11 relatif aux organismes subordonnés à l'obtention d'un agrément sanitaire.

Ainsi, un certain nombre de réglementations sont mises en place pour assurer une immunité sanitaire aux équidés impliqués dans les biotechnologies de la reproduction au niveau national.

Les biotechnologies s'accompagnent souvent d'échanges intra-communautaires de gamètes et d'embryons. Ces échanges sont également soumis à des réglementations.

c) Réglementations relatives aux échanges intra-communautaires

La réglementation en vigueur a pour objectif d'assurer une **immunité sanitaire des embryons** produits à partir des ovocytes collectés *in vivo* puis maturés *in vitro*. Cela permet également de garantir une absence de germes pathogènes spécifiques lors d'échanges internationaux ou intracommunautaires, de manière à préserver la santé des femelles receveuses et de leur descendance. La réglementation est également valable pour assurer **une immunité sanitaire des ovocytes et des spermatozoïdes**.

La réglementation pour les échanges intracommunautaires est définie par le parlement européen. Elle concerne les agréments des centres.

Dans le cas d'un agrément intra-communautaire, la réglementation est définie dans les règlements délégués de l'Union Européenne (UE 2020/686, 2020/999 et 2021/403). La conformité du centre est vérifiée par la DDPP (Direction Départementale de la Protection des Populations). Le préfet du ministère de l'agriculture est informé et des inspections sont réalisées régulièrement.

De plus, le code rural fait également mention de **règles d'importation de ressources génétiques**. Cela concerne les articles D653-106 à D653-114 qui font état des périmètres d'application, des enregistrements et tests de performances des reproducteurs ainsi que leurs évaluations génétiques, des obligations à respecter pour l'importation d'animaux/spermes/ovules et des contrôles zootechniques obligatoires à l'entrée sur le territoire.

Enfin, l'arrêté du 11 mars 1996 met en évidence les dispositions d'application de ces réglementations en fixant les conditions sanitaires requises pour les échanges intracommunautaires d'ovules et d'embryons de l'espèce équine (conditions sanitaires pour les échanges, conditions d'agrément, exigences relatives aux femelles donneuses/ovules/embryons et certificats sanitaires pour les échanges d'ovules et d'embryons).

Il en est de même pour les **échanges internationaux**, où les réglementations sont listées dans le chapitre 4.8 du Code sanitaire pour les animaux terrestres de l'OIE (47). La réglementation concerne l'équipe de production d'embryons, les laboratoires de manipulation, les conditions sanitaires applicables aux femelles donneuses, les conditions de stockages et de transport des embryons, la gestion des risques, les examens et les traitements facultatifs.

De ce fait, l'ensemble des réglementations mises en vigueur permettent de contrôler les risques sanitaires associés aux biotechnologies de la reproduction et à leur commercialisation à l'international.

Les biotechnologies de la reproduction sont associées à des risques sanitaires pour les juments porteuses des embryons et/ou des gamètes.

Ainsi, de nombreuses réglementations sont mises en place pour prévenir les dangers sanitaires. Ces réglementations sont établies au niveau national, intercommunautaire mais également international.

Parallèlement, les biotechnologies de la reproduction ont permis de réduire la circulation de certaines maladies vénériennes et limitent la transmission de maladies infectieuses.

Cet attrait conduit alors à une utilisation massive de ces dernières et donc à des questionnements éthiques sur ces manipulations directes ou indirectes des génomes.

C. Questionnement éthique sur les biotechnologies de la reproduction et leur place dans la filière équine

L'**éthique** est, d'après la définition du Larousse (12), l'ensemble des principes moraux qui sont à la base de la conduite de quelqu'un. Ces principes moraux sont définis par la culture de l'individu concerné, ainsi que par son environnement politique et religieux.

Les êtres humains présentent, pour la plupart, une forte empathie envers les animaux et particulièrement ceux auxquels ils sont attachés. Ils ont donc une notion d'éthique sur la gestion de ces animaux. Les chevaux sont très présents dans la vie des hommes. En 2023, il y a 1 024 000 équidés en France (213). C'est pourquoi les biotechnologies de la reproduction utilisées dans cette espèce peuvent conduire à des questionnements éthiques de la part des personnes impliquées.

1. Problématiques éthiques associées au transfert nucléaire

Depuis 2012, la FEI (Fédération Équestre Internationale) autorise les chevaux issus de **transferts nucléaires** et les poulains nés de chevaux issus du transfert nucléaire à participer aux compétitions. Néanmoins, depuis 2015, le parlement Européen autorise le clonage uniquement dans le but de préservation de races en voie d'extinction (77). Cela souligne alors un **problème éthique** relatif au transfert nucléaire dans l'espèce équine.

Pour l'espèce humaine, le **clonage** pose une problématique d'ordre moral et éthique car elle a pour objectif d'obtenir un individu quasiment similaire au donneur, ce qui est un affront à la dignité humaine pour de nombreux auteurs (214, 215). Des sondages auprès du public ont permis de mettre en évidence les mêmes problématiques éthiques vis-à-vis du clonage d'animaux et notamment de chevaux. En 2008, Anon (216) a mis en évidence que 61 % des répondants considèrent le clonage animal comme moralement répréhensible et 38 % le trouve éthiquement discutable.

L'obtention d'animaux considérés « identiques » au donneur par le grand public explique que seul le transfert nucléaire soulève des problématiques éthiques très étudiées par rapport aux autres biotechnologies de la reproduction (217).

Néanmoins, d'après Hinrichs et al (79)., un ensemble de phénomènes tels que les phénomènes épigénétiques, l'ADN mitochondrial, les variations individuelles et l'environnement dans lequel évolue les produits du transfert nucléaire, conduisent à obtenir des poulains dont le phénotype et le comportement sont différents de ceux du donneur. Ainsi, la problématique éthique relative au fait d'obtenir des poulains identiques au donneur peut être relativisée.

De plus, Campbell (77) a tenu à nuancer la problématique éthique relative à la dignité des animaux soumis au clonage car, selon lui, cette procédure n'est pas moins une atteinte à leur dignité que l'élevage intensif .

Ainsi, le transfert nucléaire chez les équidés soulève des questionnements éthiques au sein de la société, notamment du fait d'une atteinte à la dignité d'un individu car l'individu produit est aperçu comme identique au donneur.

Néanmoins, il a été démontré que le produit et le donneur étaient différents phénotypiquement et en termes de comportement. Ainsi, cette atteinte de la dignité doit être relativisée.

Il y a un questionnement éthique également sur **la consommation de viande** issue d'animaux clonés.

En Europe, le clonage pour la production de produits animaux est interdit mais elle est autorisée aux USA, en Argentine et au Brésil. Or, cette viande peut être importée en Europe sans mention spécifique du fait qu'elle soit issue d'animaux clonés ou pas.

Cela pose des problèmes éthiques aux consommateurs qui se considèrent en droit de savoir ce qu'ils mangent même si aucun risque relatif à la santé n'a été démontré concernant la consommation de viandes clonées. Cela est applicable aux chevaux puisqu'ils peuvent être consommés (77).

Ainsi, le transfert nucléaire dans l'espèce équine s'accompagne de problématiques éthiques tant au niveau de la dignité des équidés impliqués que de la consommation de viandes génétiquement modifiées.

Si le transfert nucléaire semble poser des problématiques éthiques, il présente tout de même des **avantages**, comme la possibilité de conserver des races en voie d'extinction.

Néanmoins, la balance bénéfique de préservation de la race – risque pour le bien-être animal doit être pris en considération lors des discussions sur l'éthique de l'utilisation du clonage à de telles fins.

La bio-conservation des espèces est une obligation légale d'après l'« United Nations Convention on Biological Diversity (1992) ». Mais la conservation de toutes les races n'est pas forcément une nécessité éthique. Campbell (77) prend notamment l'exemple des Sufflok Punch dont le rôle initial dans l'agriculture peut être remplacé par la mécanisation de cette dernière. Leur extinction est donc une atteinte à la biodiversité mais n'aura pas d'impact réel sur l'environnement.

Le transfert nucléaire permet la conservation de certaines races d'équidés en voie de disparition, ce qui peut éthiquement justifier son utilisation. Néanmoins, la balance bénéfique de préservation de la race – risque pour le bien-être animal n'est pas toujours en faveur de sa mise en place.

Parallèlement aux problématiques éthiques soulevées, le transfert nucléaire, ainsi que les autres biotechnologies de la reproduction, interrogent éthiquement du fait de leur atteinte du bien-être animal.

2. Problématiques éthiques associées au bien-être animal

Une autre des problématiques éthiques relatives au transfert nucléaire est **l'atteinte au bien-être animal** avec l'induction d'anomalies placentaires, de dystocies et d'anomalies métaboliques ou congénitales comme démontrées dans les parties précédentes.

D'après Olsson et al (218), **l'élevage éthique** doit impliquer « *l'utilisation d'animaux sains et fidèles à leur espèce dans le comportement et l'apparence, et le cas échéant, montrant une performance durable* ». L'éthique de l'élevage et le bien-être animal sont, par conséquent, étroitement liés.

L'utilisation des biotechnologies de la reproduction peut être éthiquement discutable pour les vétérinaires impliqués. En effet, ces procédures n'ont pas pour but d'améliorer le bien-être des équidés ni leur santé et peuvent même induire le contraire comme cela a été dit précédemment (77). Or la tâche principale des vétérinaires est de protéger et de surveiller la santé et le bien-être des animaux (219).

La **matrice éthique modifiée** présentée par England et Millar (220) dans l'espèce canine, mais pouvant s'appliquer à l'espèce équine, peut être utilisée pour illustrer cette problématique éthique du vétérinaire (cf. tableau IV).

TABLEAU IV: MATRICE ETHIQUE DE ENGLAND ET MILLAR ILLUSTRANT LA TRANSLATION DES PRINCIPES ETHIQUES AUX DIFFERENTS GROUPES D'INTERETS DANS L'ELEVAGE DES ESPECES DOMESTIQUES

Matrice éthique modifiée (transposition des principes éthiques aux groupes d'intérêts correspondant)			
	Bien-être	Autonomie	Equité
Chien (mâle, femelle, chiots)	Bien-être animal	Liberté de comportement	Valeur intrinsèque
Éleveurs	Revenu et conditions de travail satisfaisants	Liberté de management	Vente et contrôles équitables
Propriétaire	Sureté et qualité de vie	Choix	Caractère abordable des animaux
Vétérinaire	Revenu et conditions de travail satisfaisants	Liberté professionnelle	Standards de pratique équitables
Société	Sureté et harmonie sociale	Choix démocratique	Equités des allocations de ressource

SOURCE : ENGLAND ET MILLAR, 2008 (AUTORISATION ACCORDEE PAR L'EDITEUR) (220)

Cette matrice peut s'interpréter de la façon suivante : « *Du point de vue des éleveurs, la décision d'élever un animal individuel est le but pour vouloir élever un animal. Ensuite, la décision de reproduction doit être prise sur la base d'une évaluation des risques de compromettre le bien-être de la mère, le bien-être de la progéniture et la qualité de vie de la progéniture. Sont ensuite pris en compte le mode d'élevage, les techniques de saillie naturelle ou d'élevage assisté e le coût économique. Enfin, les conséquences pour les parties concernées (d'abord l'animal individuel, puis l'éleveur, le nouveau propriétaire, les vétérinaires et la société) sont évaluées. Le caractère abordable des produits animaux, le coût économique et l'allocation équitable des ressources sont des facteurs importants pour la société lors de l'examen de l'éthique de l'élevage des animaux de production.* » (220).

Par ailleurs, parmi les biotechnologies de la reproduction figurent les tests génétiques pré-implantatoires sur les embryons produits *in vitro*. Ces tests génétiques permettraient de dépister des troubles héréditaires et d'autres pathologies affectant les performances sportives des chevaux. Actuellement, l'édition de gènes est interdite pour des impératifs éthiques, mais elle pourrait, d'après Campbell et al (65)., être justifiée à des fin de corrections/préventions des maladies et des blessures.

Ainsi, les biotechnologies de la reproduction soulèvent des questionnements éthiques au sein de la société, notamment avec l'utilisation du transfert nucléaire.

Ce dernier pose des problèmes éthiques par rapport à son atteinte sur la santé des poulains et des juments, la production de viandes clonées et son enjeu sociétal, ainsi que son atteinte à la dignité des animaux.

Les problématiques soulevées par ces biotechnologies ne sont qu'un exemple des enjeux éthiques de l'utilisation de ces biotechnologies.

Néanmoins, il est important de prendre en considération les bénéfices de ces dernières sur les populations d'équidés, notamment en permettant la conservation de races en voie de disparition ou en permettant la reproduction d'animaux subfertiles ou infertiles à haut potentiel génétique, permettant une évolution de la race et une amélioration de ces performances.

En définitive, l'utilisation des biotechnologies de la reproduction n'affecte pas uniquement les équidés concernés mais également l'ensemble de l'espèce.

Leur utilisation doit être raisonnée car elle agit sur la variabilité génétique des populations d'équidés.

Ces biotechnologies présentent également des enjeux sociétaux, d'une part sanitaire avec le risque d'importations et/ou de développement de certaines pathologies infectieuses, et d'autre part avec les questionnements éthiques qu'elles impliquent.

Elles confèrent des avantages non négligeables à l'élevage en espèce équine mais leur utilisation doit être réfléchi. Des études supplémentaires sur leurs impacts sont nécessaires de manière à avoir plus de recul et permettre une meilleure utilisation.

CONCLUSION

La reproduction est un pilier majeur de l'élevage des équidés avec comme objectif l'obtention d'un poulain par jument et par an.

Dans ce contexte, les biotechnologies de la reproduction ont pu s'intégrer rapidement dans les méthodes de suivi des élevages. Elles permettent, notamment, de contourner les problèmes d'infertilité ou de subfertilité des juments et des étalons, mais également de répondre aux contraintes logistiques imposées par leurs carrières sportives.

Actuellement, l'insémination artificielle et le transfert embryonnaire sont largement implantés à travers le monde tandis que l'ICSI (injection intracytoplasmique de spermatozoïde), le transfert d'ovocyte et le clonage se développent progressivement.

L'utilisation massive de ces biotechnologies de la reproduction implique des micromanipulations du génome ainsi que de nombreuses interventions des vétérinaires. Cela a des conséquences sur la santé et le bien-être des juments et des étalons, même si la prévalence est faible. Chez les poulains, elles peuvent prédisposer à certaines pathologies ostéoarticulaires, métaboliques ou cardiovasculaires.

Par ailleurs, si ces biotechnologies permettent de limiter la propagation de maladies contagieuses et vénériennes, des risques sanitaires relatifs au transport des embryons et des gamètes à travers le monde persistent, même s'ils sont, à l'heure actuelle, limités de par les différentes réglementations.

Pour conclure, les biotechnologies de la reproduction présentent à l'heure actuelle de nombreux avantages dans l'élevage des équidés, notamment en favorisant aussi bien la conservation et la diversité génétique, ainsi qu'en permettant la production de poulains à haut potentiel génétique. Néanmoins, l'utilisation de ces nouvelles techniques soulèvent des interrogations éthiques et des questions sur la variabilité génétique et sur les conséquences de leur usage pour la santé et les performances du poulain.

Des études supplémentaires sont nécessaires pour évaluer les conséquences au long terme mais les données récoltées aujourd'hui ne justifient cependant pas d'en limiter leur utilisation.

Enfin, ces biotechnologies pourraient avoir d'autres intérêts dans la filière équine telles que l'utilisation de cellules souches embryonnaires issues d'embryons produits *in vitro* ou *in vivo*, eux-mêmes ensuite récoltés pour le traitement de certaines pathologies orthopédiques.

BIBLIOGRAPHIE

1. BERGFELT, Don R. Chapter 11 - Anatomy and Physiology of the Mare. In : SAMPER, Juan C. (éd.), *Equine Breeding Management and Artificial Insemination (Second Edition)*. [en ligne]. Saint Louis : W.B. Saunders, 2009. pp. 113-131. [Consulté le 16 août 2023]. ISBN 978-1-4160-5234-0.
2. IFCE et HARAS NATIONAUX. *Gestion de la jument: reproduction, gestation, poulinage*. . 8ème édition. Le Pin au Haras, 2019.
3. BARONE, R. et TAGAND, R. *Anatomie des équidés domestiques*. . 1956. Splanchnologie et angiologie, Fascicule III-Appareil uro-génital. Peritoine.
4. MCCUE, Patrick. *Clinical equine reproduction: Anatomy, physiology, pathology and breeding management*. . Colorado State University : Equine Reproduction Laboratory, 2019. ISBN 978-0-9965269-7-5.
5. BOULOCHER, Caroline. Appareil génital femelle chez les mammifères domestiques : Développement et Anatomie. . Vetagro-Sup. 2020.
6. KÖNIG, H.E. et LIEBICH, H-G. Female genital organs. In : *Veterinary Anatomy of Domestic Mammals: Textbook and Colour Atlas*. Sixth Edition. Schattauer, 2014. pp. 429-450.
7. GINTHER, O J. *Reproductive biology of the mare. Basic and applied aspects*. . 2nd édition. Cross Plains : EquiServices, 1993.
8. SAINT-DIZIER, M et CHASTANT-MAILLARD, S. *La reproduction animale et humaine*. . Editions Quae. Editions Quae, 2014. ISBN 978-2-7592-2208-7. Google-Books-ID: fc3CBAAAQBAJ
9. MCCUE, P. M., SCOGGIN, C.F. et LINDHOLM, A.R.G. Chapter 1716 - Estrus. In : MCKINNON, A.O., SQUIRES, E. L., VAALA, W.E. et VARNER, D. D. (éd.), *Equine Reproduction*. 2nd Edition. Wiley-Blackwell, 2011. pp. 1716-1727.
10. C.G, Mina et MOREL, D. *Equine Reproductive Physiology, Breeding and Stud Management*,. . 4th édition. Cabi, 2015. ISBN 978-1-78064-442-4.
11. LESTER, G D. Chapter 12 - Prematurity, Dysmaturity and assesement of maturity. In : MCKINNON, A. O., SQUIRES, E. L., VAALA, W.E. et VARNER, D.D. (éd.), *Equine reproduction*. 2nd Edition. Wiley-Blackwell, 2011. pp. 121-127.
12. LAROUSSE, Éditions. Larousse.fr : encyclopédie et dictionnaires gratuits en ligne. [en ligne]. [Consulté le 6 juin 2023]. Disponible à l'adresse: <https://www.larousse.fr/Des-dictionnaires-et-une-encyclopedie-gratuite>.
13. HYTTEL, P, SINOWATZ, F, VEJLSTED, M et BETTERIDGE, K. J. *Essentials of domestic animal embryology*. . Saunders Elsevier, 2010. ISBN 978-0-7020-2899-1.
14. BETTERIDGE, K. J. Chapter 225- Embryon Morphology, Growth and Development. In : MCKINNON, A. O., SQUIRES, E. L., VAALA, W.E. et VARNER, D. D. (éd.), *Equine Reproduction*. 2nd Edition. Wiley-Blackwell, 2011. pp. 2167-2186.
15. MCCUE, P. *Clinical equine reproduction: Pregnancy, foaling, lactation and Foal Care*. . Colorado State University : Equine Reproduction Laboratory, 2019. ISBN 978-0-9965269-8-3.
16. BETTERIDGE, K. J. The structure and function of the equine capsule in relation to embryo manipulation and transfer. *Equine Veterinary Journal*. [en ligne]. 1989. Vol. 21, n° S8, pp. 92-100. [Consulté le 14 juillet 2023]. DOI 10.1111/j.2042-3306.1989.tb04690.x.
17. HARTMAN, D.L, HINRICHS, K., LOVE, C.C., SCHUMACHER, J, VARNER, D.D., BLANCHARD, T.L et BRINSKO, S.P. *Manual of Equine Reproduction*. . Third Edition. Mosby Elsevier, 2011.
18. BETTERIDGE, K J, EAGLESOME, M D, MITCHELL, D, FLOOD, P F et

- BERIAULT, R. Development of horse embryos up to twenty two days after ovulation: observations on fresh specimens. *Journal of Anatomy*. [en ligne]. août 1982. Vol. 135, n° Pt 1, pp. 191-209. [Consulté le 3 mai 2023]. Disponible à l'adresse: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1168142/>
19. MORRESEY, P.R et D.V. Chapter 8 - The Placenta. In : *Equine Reproduction*. 2nd Edition. Wiley-Blackwell, 2011. pp. 84-95.
20. PEUGNET, P, WIMEL, L, DUCHAMP, G, SANDERSEN, C, CAMOUS, S, GUILLAUME, D, DAHIREL, M, DUBOIS, C, JOUNEAU, L, REIGNER, F, BERTHELOT, V, CHAFFAUX, S, TARRADE, A, SERTEYN, D et CHAVATTE-PALMER, P. Enhanced or reduced fetal growth induced by embryo transfer into smaller or larger breeds alters post-natal growth and metabolism in pre-weaning horses. *PloS One*. 2014. Vol. 9, n° 7, pp. e102044. DOI 10.1371/journal.pone.0102044.
21. PYCOCK, Jonathan F. Chapter 13 - Breeding Management of the Problem Mare. In : SAMPER, Juan C. (éd.), *Equine Breeding Management and Artificial Insemination (Second Edition)*. [en ligne]. Saint Louis : W.B. Saunders, 2009. pp. 139-164. [Consulté le 16 août 2023]. ISBN 978-1-4160-5234-0.
22. LOIGEROT, S. *Pratique de l'insémination artificielle chez la jument en France*. . Thèse d'exercice médecine vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 2017.
23. MARGAT, A, DOLIGEZ, P, VIDAMENT, M, FERRY, B et DOLIGEZ, P. L'insémination artificielle équine. *IFCE*. 21 août 2017.
24. IFCE, HARAS NATIONAUX et LE CADRE NOIR. Stats & cartes. *IFCE*. [en ligne]. [Consulté le 4 avril 2023]. Disponible à l'adresse: <https://statscheval.ifce.fr/core/tabboard.php?zone=229&r=1323>
25. *SIRE-RSB-Pur-Sang-2023.pdf*. [en ligne]. [Consulté le 4 avril 2023]. Disponible à l'adresse: <https://www.ifce.fr/wp-content/uploads/2021/12/SIRE-RSB-Pur-Sang-2023.pdf>
26. *SIRE-RLG-TF-2023.pdf*. [en ligne]. [Consulté le 4 avril 2023]. Disponible à l'adresse: <https://www.ifce.fr/wp-content/uploads/2023/02/SIRE-RLG-TF-2023.pdf>
27. *SIRE-RSB-AQPS-2023.pdf*. [en ligne]. [Consulté le 4 avril 2023]. Disponible à l'adresse: <https://www.ifce.fr/wp-content/uploads/2021/12/SIRE-RSB-AQPS-2023.pdf>
28. MORRIS, L. H. A. et LYLE, S.K. Chapter 323- Low Dose insemination. In : MCKINNON, A.O., SQUIRES, E. L., VAALA, W.E. et VARNER, D. D. (éd.), *Equine Reproduction*. 2nd Edition. Wiley-Blackwell, 2011.
29. *Mettre sa jument à la reproduction*. [en ligne]. [Consulté le 4 avril 2023]. Disponible à l'adresse: https://www.ifce.fr/wp-content/uploads/hidden/learnings/elearning7_1/SCO_0001/_course/Syntese7.1.pdf
30. KATILA, T. Chapter 130 - Containers for transport of equine semen. In : MCKINNON, A. O., SQUIRES, E. L., VAALA, W.E. et VARNER, D. D. (éd.), *Equine Reproduction*. 2nd Edition. Wiley-Blackwell, 2011. pp. 1330-1335.
31. VIDAMENT, M., FERRY, B, BARRIER-BATTUT, I et MARGAT, A. Sperme réfrigéré 24h avec envoi de doses. [en ligne]. 2019. [Consulté le 4 avril 2023]. Disponible à l'adresse: https://equipedia.ifce.fr/elevage-et-entretien/elevage/reproduction/sperme-refrigere-24h-avec-envoi-de-doses?tx_web2pdf_pi1%5Baction%5D=&tx_web2pdf_pi1%5Bargument%5D=printPage&tx_web2pdf_pi1%5Bcontroller%5D=Pdf&cHash=1d815ececdea2585968060c2914a3339
32. SAMPER, J.C. Chapter 128- Breeding with cooled transported semen. In : MCKINNON, A.O., SQUIRES, E. L., VAALA, W.E. et VARNER, D. D. (éd.), *Equine Reproduction*. 2nd Edition. Wiley-Blackwell, 2011. pp. 1316-1322.
33. BATELLIER, F, VIDAMENT, M, FAUQUANT, J, DUCHAMP, G, ARNAUD, G, YVON, J.M et MAGISTRINI, M. Advances in cooled semen technology. *Animal Reproduction Science*. 2001. Vol. 68, pp. 181-190.
34. BARBACINI, S. Chapter 318 - Breeding with frozen semen. In : MCKINNON, A. O., SQUIRES, E. L., VAALA, W.E. et VARNER, D. D. (éd.), *Equine Reproduction*. 2nd

- Edition. Wiley-Blackwell, 2011. pp. 2988-2993.
35. MOURET-LAFAGE, M. Gestion des juments en IAC. [en ligne]. 2017. [Consulté le 5 avril 2023]. Disponible à l'adresse: <https://equipedia.ifce.fr/elevage-et-entretien/elevage/jument/gestion-des-juments-en-iac>
 36. HARALD, Sieme. Chapter 315 - Semen Extenders for Frozen Semen. In : MCKINNON, A.O., SQUIRES, E. L., VAALA, W.E. et VARNER, D.D. (éd.), *Equine Reproduction*. 2nd edition. Wiley-Blackwell, 2011. pp. 2964-2971.
 37. BRINSKO, S.P. Chapter 123- Semen collection techniques and insemination procedures. In : MCKINNON, A.O., SQUIRES, E. L., VAALA, W.E. et VARNER, D. D. (éd.), *Equine Reproduction*. 2nd Edition. Wiley-Blackwell, 2011. pp. 1268-1277.
 38. RIERA, Fernando L. Chapter 16 - Equine Embryo Transfer. In : SAMPER, Juan C. (éd.), *Equine Breeding Management and Artificial Insemination (Second Edition)*. [en ligne]. Saint Louis : W.B. Saunders, 2009. pp. 185-199. [Consulté le 16 août 2023]. ISBN 978-1-4160-5234-0.
 39. DOLIGEZ, P et CAILLAUD, M. Le transfert d'embryons chez les équidés. *IFCE*. [en ligne]. 2019. [Consulté le 5 avril 2023]. Disponible à l'adresse: <https://equipedia.ifce.fr/elevage-et-entretien/elevage/reproduction/transfert-d-embryons>
 40. DELEUZE, S. les techniques de reproduction artificielle. *Le nouveau praticien vétérinaire équine*. 2019. Vol. 12, pp. 212-219.
 41. DOUGLAS, R. H., BURNS, P. J. et HERSHMAN, Lizbeth. Physiological and commercial parameters for producing progeny from subfertile mares by embryo transfer. *Equine Veterinary Journal*. [en ligne]. 1985. Vol. 17, n° S3, pp. 111-114. [Consulté le 11 août 2023]. DOI 10.1111/j.2042-3306.1985.tb04611.x.
 42. PASHEN, R. L. Current developments in embryo transfer. *Equine Veterinary Journal*. [en ligne]. 1985. Vol. 17, n° S3, pp. 85-88. [Consulté le 11 août 2023]. DOI 10.1111/j.2042-3306.1985.tb04602.x.
 43. STOUT, T. a. E. Clinical insights: Assisted reproductive technologies. *Equine Veterinary Journal*. [en ligne]. 2019. Vol. 51, n° 4, pp. 427-428. [Consulté le 27 septembre 2022]. DOI 10.1111/evj.13099.
 44. CARNEVALE, Elaine M. Advances in Collection, Transport and Maturation of Equine Oocytes for Assisted Reproductive Techniques. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. [en ligne]. décembre 2016. Vol. 32, n° 3, pp. 379-399. [Consulté le 14 avril 2021]. DOI 10.1016/j.cveq.2016.07.002.
 45. HINRICHS, K. et CHOI, Y-H. Chapter 312 - Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI). In : MCKINNON, A.O., SQUIRES, E. L., VAALA, W.E. et VARNER, D. D. (éd.), *Equine Reproduction*. 2nd edition. Wiley-Blackwell, 2011. pp. 2948-2952.
 46. STOUT, T.A.E. Clinical Application of in Vitro Embryo Production in the Horse. *Journal of Equine Veterinary Science*. [en ligne]. juin 2020. Vol. 89, pp. 103011. [Consulté le 14 avril 2021]. DOI 10.1016/j.jevs.2020.103011.
 47. OIE. Chapitre 4.8 - Collecte et manipulation des ovocytes/embryons du bétail et d'équidés produits in vitro. In : *Code sanitaire pour les animaux terrestres*. [en ligne]. 2011. [Consulté le 4 mai 2023]. Disponible à l'adresse: https://www.woah.org/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahc/2011/fr_chapitre_1.4.8.pdf
 48. ALVARENGA, Marco A. et LANDIM-ALVARENGA, Fernanda da Cruz. Chapter 18 - New Assisted Reproductive Techniques Applied for the Horse Industry. In : SAMPER, Juan C. (éd.), *Equine Breeding Management and Artificial Insemination (Second Edition)*. [en ligne]. Saint Louis : W.B. Saunders, 2009. pp. 209-221. [Consulté le 16 août 2023]. ISBN 978-1-4160-5234-0.
 49. THARASANIT, T, COLLEONI, S., LAZZARI, G., COLENBRANDER, B., GALLI, C. et STOUT, T A E. Effect of cumulus morphology and maturation stage on the cryopreservability of equine oocytes. *Reproduction*. [en ligne]. 2006. Vol. 132, n° 5, pp. 759-769. [Consulté le 4 mai 2023]. Disponible à l'adresse:

<https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/132/5/1320759.xml>

50. KUWAYAMA, M, VAJTA, G, KATO, O et LEIBO, S.P. Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. *Reproductive BioMedicine Online*. [en ligne]. janvier 2005. Vol. 11, n° 3, pp. 300-308. [Consulté le 4 mai 2023]. DOI 10.1016/S1472-6483(10)60837-1.
51. ORTIZ-ESCRIBANO, N., BOGADO PASCOTTINI, O., WOELDERS, H., VANDENBERGHE, L., DE SCHAUWER, C., GOVAERE, J., VAN DEN ABBEEL, E., VULLERS, T., VERVERS, C., ROELS, K., VAN DE VELDE, M., VAN SOOM, A. et SMITS, K. An improved vitrification protocol for equine immature oocytes, resulting in a first live foal. *Equine Veterinary Journal*. [en ligne]. 2018. Vol. 50, n° 3, pp. 391-397. [Consulté le 27 septembre 2022]. DOI 10.1111/evj.12747.
52. THARASANIT, T., COLENBRANDER, B. et STOUT, T.a.e. Effect of maturation stage at cryopreservation on post-thaw cytoskeleton quality and fertilizability of equine oocytes. *Molecular Reproduction and Development*. [en ligne]. 2006. Vol. 73, n° 5, pp. 627-637. [Consulté le 16 juillet 2023]. DOI 10.1002/mrd.20432.
53. ALM, H, VERNUNFT, A, TORNER, H, BHOJWANI, S, BECKER, F et KANITZ, W. ICSI - A biotechnological method to produce equine embryos in vitro. *Pferdeheilkunde*. 1 janvier 2010. Vol. 26, pp. 59-62. DOI 10.21836/PEM20100112.
54. CARNEVALE, E.M et SESSIONS, D.R. In Vitro Production of Equine Embryos. *Journal of Equine Veterinary Science*. [en ligne]. 1 juillet 2012. Vol. 32, n° 7, pp. 367-371. [Consulté le 29 septembre 2022]. DOI 10.1016/j.jevs.2012.05.054.
55. CAILLAUD, M, NORMANDIN, L et DE HUS, Haras. L'ICSI chez la jument : pourquoi ? comment ? où en est-on en France ? .
56. CARNEY, N J, SQUIRES, E L, COOK, V M, SEIDEL, G. E., Jr et JASKO, D J. Comparison of pregnancy rates from transfer of fresh versus cooled, transported equine embryos. *Theriogenology*. [en ligne]. 1991. Vol. 36, n° 1, pp. 23-32. [Consulté le 3 mai 2023]. Disponible à l'adresse: <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.vetagro-sup.fr/science/article/pii/0093691X9190430L?via%3Dihub>
57. STOUT, T.A.E. Cryopreservation of Equine Embryos: Current State-of-the-Art. *Reproduction in Domestic Animals*. [en ligne]. 2012. Vol. 47, n° s3, pp. 84-89. [Consulté le 29 septembre 2022]. DOI 10.1111/j.1439-0531.2012.02030.x.
58. SQUIRES, E. L., SEIDEL JR., G. E. et MCKINNON, A. O. Transfer of cryopreserved equine embryos to progestin-treated ovariectomised mares. *Equine Veterinary Journal*. [en ligne]. 1989. Vol. 21, n° S8, pp. 89-91. [Consulté le 4 mai 2023]. DOI 10.1111/j.2042-3306.1989.tb04689.x.
59. ALLARD, A. Actualités et mise à jour en reproduction équine. *Le Point Vétérinaire*. [en ligne]. 2013. [Consulté le 25 avril 2023]. Disponible à l'adresse: <https://www.lepointveterinaire.fr/publications/pratique-veterinaire-equine/archives/n-177/actualites-et-mise-a-jour-en-reproduction-equine.html>
60. ANTCZAK, Doug F. Chapter 27 - Significance of the Equine Genome for the Horse Industry. In : SAMPER, Juan C. (éd.), *Equine Breeding Management and Artificial Insemination (Second Edition)*. [en ligne]. Saint Louis : W.B. Saunders, 2009. pp. 295-298. [Consulté le 16 août 2023]. ISBN 978-1-4160-5234-0.
61. GUIGNOT, F., PERREAU, C., REIGNER, F, BED'HOM, B, MERMILLOD, P et DUCHAMP, G. Premières gestations après transfert d'embryons équins biopsés et sexés. In : *39ème Journée de la Recherche Equine*. Paris, 2013.
62. HERRERA, C., MORIKAWA, M. I., BELLO, M. B., VON MEYEREN, M., EUSEBIO CENTENO, J., DUFOURQ, P., MARTINEZ, M. M. et LLORENTE, J. Setting up equine embryo gender determination by preimplantation genetic diagnosis in a commercial embryo transfer program. *Theriogenology*. [en ligne]. 15 mars 2014. Vol. 81, n° 5, pp. 758-763. [Consulté le 4 mai 2023]. DOI 10.1016/j.theriogenology.2013.12.013.
63. GUIGNOT, F., REIGNER, F., PERREAU, C., TARTARIN, P., BABILLIOT, J. M.,

- BED'HOM, B., VIDAMENT, M., MERMILLOD, P. et DUCHAMP, G. Preimplantation genetic diagnosis in Welsh pony embryos after biopsy and cryopreservation^{1,2}. *Journal of Animal Science*. [en ligne]. 1 novembre 2015. Vol. 93, n° 11, pp. 5222-5231. [Consulté le 6 juin 2023]. DOI 10.2527/jas.2015-9469.
64. CHOI, Y H, GUSTAFSON-SEABURY, A, VELEZ, I. C., HARTMAN, D. L., BLISS, S, RIERA, F. L., ROLDAN, J E, CHOWDHARY, B et HINRICHS, K. Viability of equine embryos after puncture of the capsule and biopsy for preimplantation genetic diagnosis in: *Reproduction* Volume 140 Issue 6 (2010). *Reproduction*. [en ligne]. 2010. Vol. 140, pp. 893-902. [Consulté le 4 mai 2023]. Disponible à l'adresse: <https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/140/6/893.xml>
65. CAMPBELL, M. L. H et MCNAMEE, M. J. Ethics, Genetic Technologies and Equine Sports: The Prospect of Regulation of a Modified Therapeutic Use Exemption Policy. *Sport, Ethics and Philosophy*. [en ligne]. 3 avril 2021. Vol. 15, n° 2, pp. 227-250. [Consulté le 14 juin 2023]. DOI 10.1080/17511321.2020.1737204.
66. CHOI, Y. H., PENEDO, M. C. T., DAFTARI, P., VELEZ, I. C. et HINRICHS, K. Accuracy of preimplantation genetic diagnosis in equine in vivo-recovered and in vitro-produced blastocysts. *Reproduction, Fertility and Development*. [en ligne]. 11 août 2016. Vol. 28, n° 9, pp. 1382-1389. [Consulté le 6 juin 2023]. DOI 10.1071/RD14419.
67. FINNO, Carrie J., SPIER, Sharon J. et VALBERG, Stephanie J. Equine diseases caused by known genetic mutations. *The Veterinary Journal*. [en ligne]. mars 2009. Vol. 179, n° 3, pp. 336-347. [Consulté le 16 juillet 2023]. DOI 10.1016/j.tvjl.2008.03.016.
68. VALBERG, S.J. Chapter 10 - Disorders of the Musculoskeletal System. In : REED, S.M., BAYLY, W.M. et SELTON, D.C (éd.), *Equine Internal Medicine (Fourth Edition)*. [en ligne]. W.B. Saunders, 2018. pp. 542-579. [Consulté le 15 juin 2023]. ISBN 978-0-323-44329-6.
69. CARNEVALE, E. M. Oocyte transfer and gamete intrafallopian transfer in the mare. *Animal Reproduction Science*. [en ligne]. 1 juillet 2004. Vol. 82-83, pp. 617-624. [Consulté le 26 avril 2023]. DOI 10.1016/j.anireprosci.2004.04.002.
70. ROSER, J.F et MEYERS-BROWN, G. Enhancing Fertility in Mares: Recombinant Equine Gonadotropins. *Journal of Equine Veterinary Science*. [en ligne]. 1 mai 2019. Vol. 76, pp. 6-13. [Consulté le 26 avril 2023]. DOI 10.1016/j.jevs.2019.03.004.
71. MARTINEZ DE ANDINO, E. Intrafollicular Oocyte Transfer in the Mare. *Select Breeder Services*. [en ligne]. 2019. [Consulté le 26 avril 2023]. Disponible à l'adresse: <https://www.selectbreeders.com/es/articles/intrafollicular-oocyte-transfer-in-the-mare>
72. DELEUZE, S., GOUDET, G., CAILLAUD, M., LAHUEC, C. et DUCHAMP, G. Efficiency of embryonic development after intrafollicular and intraoviductal transfer of in vitro and in vivo matured horse oocytes. *Theriogenology*. [en ligne]. 15 juillet 2009. Vol. 72, n° 2, pp. 203-209. [Consulté le 26 avril 2023]. DOI 10.1016/j.theriogenology.2009.02.001.
73. HINRICHS, K. Update on equine ICSI and cloning. *Theriogenology*. [en ligne]. août 2005. Vol. 64, n° 3, pp. 535-541. [Consulté le 13 avril 2021]. DOI 10.1016/j.theriogenology.2005.05.010.
74. VANDERWALL, D.K., WOODS, G.L, ROSER, J.F, SCHLAFER, D.H, SELTON, D.C, TESTER, D.F et WHITE, K.L. Equine cloning: applications and outcomes. *Reproduction, Fertility and Development*. [en ligne]. 13 décembre 2005. Vol. 18, n° 2, pp. 91-98. [Consulté le 27 avril 2023]. DOI 10.1071/RD05130.
75. WOODS, G. L., WHITE, K.L., VANDERWALL, D.K., LI, G-P, ASTON, K.I, BUNCH, T.D, MEERDO, L.N et PATE, B.J. A Mule Cloned from Fetal Cells by Nuclear Transfer. *Science*. [en ligne]. 22 août 2003. Vol. 301, n° 5636, pp. 1063-1063. [Consulté le 27 avril 2023]. DOI 10.1126/science.1086743.
76. GALLI, C, LAGUTINA, I, CROTTI, G, COLLEONI, S, TURINI, P, PONDERATO, N, DUCHI, R et LAZZARI, G. A cloned horse born to its dam twin. *Nature*. [en ligne]. août 2003. Vol. 424, n° 6949, pp. 635-635. [Consulté le 27 avril 2023]. DOI 10.1038/424635a.

77. CAMPBELL, M. L. H. Is cloning horses ethical? *Equine Veterinary Education*. [en ligne]. 2018. Vol. 30, n° 5, pp. 268-273. [Consulté le 4 novembre 2022]. DOI 10.1111/eve.12566.
78. HINRICHS, K. Assisted reproduction techniques in the horse. *Reproduction, Fertility and Development*. [en ligne]. 4 décembre 2012. Vol. 25, n° 1, pp. 80-93. [Consulté le 5 juin 2023]. DOI 10.1071/RD12263.
79. HINRICHS, K. Equine Cloning. *Veterinary Clinics: Equine Practice*. [en ligne]. 1 décembre 2006. Vol. 22, n° 3, pp. 857-866. [Consulté le 27 avril 2023]. DOI 10.1016/j.cveq.2006.07.004.
80. HINRICHS, K. Chapter 307- Nuclear Transfer. In : MCKINNON, A.O., SQUIRES, E. L., VAALA, W.E. et VARNER, D. D. (éd.), *Equine Reproduction*. 2nd edition. Wiley-Blackwell, 2011. pp. 2924-2927.
81. HINRICHS, Katrin et CHOI, Young-Ho. Assisted Reproductive Techniques in the Horse. *Clinical Techniques in Equine Practice*. [en ligne]. 1 septembre 2005. Vol. 4, n° 3, pp. 210-218. [Consulté le 20 août 2023]. DOI 10.1053/j.ctep.2005.07.002.
82. OLIVERA, R, MORO, L, JORDAN, R, PALLAROLS, N, GUGLIELMINETTI, A, LUZZANI, C, MIRIUKA, S et VICHERA, G. Bone marrow mesenchymal stem cells as nuclear donors improve viability and health of cloned horses. *Stem Cells and Cloning: Advances and Applications*. [en ligne]. février 2018. Vol. Volume 11, pp. 13-22. [Consulté le 5 mai 2023]. DOI 10.2147/SCCAA.S151763.
83. FORTUNATO, A et TOSTI, E. The impact of in vitro fertilization on health of the children: an update. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. [en ligne]. 1 février 2011. Vol. 154, n° 2, pp. 125-129. [Consulté le 16 juin 2023]. DOI 10.1016/j.ejogrb.2010.10.012.
84. EVERS, J.L.H., LARSEN, J.F, GNANY, G.G. et SIECK, U.V. Complications and problems in transvaginal sector scan-guided follicle aspiration. *Fertility and Sterility*. [en ligne]. 1 février 1988. Vol. 49, n° 2, pp. 278-282. [Consulté le 2 mai 2023]. DOI 10.1016/S0015-0282(16)59716-7.
85. LEVI-SETTI, P.E, CIRILLO, F, SCOLARO, V, MORENGHI, E, HEILBRON, F, GIRARDELLO, D, ZANNONI, E et PATRIZIO, P. Appraisal of clinical complications after 23,827 oocyte retrievals in a large assisted reproductive technology program. *Fertility and Sterility*. [en ligne]. 1 juin 2018. Vol. 109, n° 6, pp. 1038- 1043.e1. [Consulté le 2 mai 2023]. DOI 10.1016/j.fertnstert.2018.02.002.
86. DICKER, D, ASHKENAZI, J, FELDBERG, D, LEVY, T, DEKEL, A et BEN-RAFAEL, Z. Severe abdominal complications after transvaginal ultrasonographically guided retrieval of oocytes for in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertility and Sterility*. [en ligne]. 1 juin 1993. Vol. 59, n° 6, pp. 1313-1315. [Consulté le 5 octobre 2022]. DOI 10.1016/S0015-0282(16)55997-4.
87. CURTIS, P., AMSO, N., KEITH, E., BERNARD, A. et SHAW, R. W. Evaluation of the risk of pelvic infection following transvaginal oocyte recovery. *Human Reproduction*. [en ligne]. 1 octobre 1991. Vol. 6, n° 9, pp. 1294-1297. [Consulté le 5 octobre 2022]. DOI 10.1093/oxfordjournals.humrep.a137530.
88. VELEZ, I. C., ARNOLD, C., JACOBSON, C. C., NORRIS, J. D., CHOI, Y. H., EDWARDS, J. F., HAYDEN, S. S. et HINRICHS, K. Effects of repeated transvaginal aspiration of immature follicles on mare health and ovarian status. *Equine Veterinary Journal*. [en ligne]. 2012. Vol. 44, n° S43, pp. 78-83. [Consulté le 14 avril 2021]. DOI <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2012.00606.x>.
89. CLAES, A, BALL, B.A, BROWN, J.A et KASS, P.H. Evaluation of risk factors, management, and outcome associated with rectal tears in horses: 99 cases (1985–2006). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. [en ligne]. 15 novembre 2008. Vol. 233, n° 10, pp. 1605-1609. [Consulté le 2 mai 2023]. DOI 10.2460/javma.233.10.1605.
90. ALVAREZ, A.V. Equine rectal tears and current methods of treatment. .

91. ORELLANA-GUERRERO, Daniela, DINI, Pouya, SANTOS, Eduardo, DE LA FUENTE, Alejandro, MEYERS, Stuart, KOSHAK, Sara et DUJOVNE, Ghislaine. Effect of Transvaginal Aspiration of Oocytes on Blood And Peritoneal Fluid Parameters in Mares. *Journal of Equine Veterinary Science*. [en ligne]. 1 juillet 2022. Vol. 114, pp. 103949. [Consulté le 5 octobre 2022]. DOI 10.1016/j.jevs.2022.103949.
92. JUZWIAK, J. S., RAGLE, C. A., BROWN, C. M., KREHBIEL, J. D. et SLOCOMBE, R. F. The effect of repeated abdominocentesis on peritoneal fluid constituents in the horse. *Veterinary Research Communications*. 1991. Vol. 15, n° 3, pp. 177-180. DOI 10.1007/BF00343222.
93. VANDERWALL, D. K. et WOODS, G. L. Severe internal hemorrhage resulting from transvaginal ultrasound-guided follicle aspiration in a mare. *Journal of Equine Veterinary Science*. [en ligne]. 1 février 2002. Vol. 22, n° 2, pp. 84-86. [Consulté le 5 octobre 2022]. DOI 10.1016/S0737-0806(02)70094-4.
94. PAUL-JEANJEAN, S. Les dystocies chez la jument: conduite à tenir. *Pratique vétérinaire équine*. 2012.
95. KRUIP, Th. A. M. et DEN DAAS, J. H. G. In vitro produced and cloned embryos: Effects on pregnancy, parturition and offspring. *Theriogenology*. [en ligne]. 1 janvier 1997. Vol. 47, n° 1, pp. 43-52. [Consulté le 5 octobre 2022]. DOI 10.1016/S0093-691X(96)00338-X.
96. NOAKES, D.E, PARKINSON, T.J et ENGLAND, G.C.W. *Veterinary Reproduction and Obstetrics*. . 9th. Saunders Elsevier, 2009.
97. VALENZUELA, O.A, COUTURIER-TARRADE, A, CHOI, Y-H, AUBRIÈRE, M-C, RITTHALER, J, CHAVATTE-PALMER, P et HINRICHS, K. Impact of equine assisted reproductive technologies (standard embryo transfer or intracytoplasmic sperm injection (ICSI) with in vitro culture and embryo transfer) on placenta and foal morphometry and placental gene expression. *Reproduction, Fertility and Development*. [en ligne]. 30 janvier 2018. Vol. 30, n° 2, pp. 371-379. [Consulté le 14 juin 2023]. DOI 10.1071/RD16536.
98. ALLEN, W R, WILSHER, S, TURNBULL, C, STEWART, F, OUSEY, J, ROSSDALE, P D et FOWDEN, A L. Influence of maternal size on placental, fetal and postnatal growth in the horse. I. Development in utero. *Reproduction*. 2002. Vol. 123, pp. 445-453.
99. ASTON, K. I., PETERSON, C. M. et CARRELL, D. T. Monozygotic twinning associated with assisted reproductive technologies: a review. *Reproduction*. [en ligne]. 1 octobre 2008. Vol. 136, n° 4, pp. 377-386. [Consulté le 9 mai 2023]. DOI 10.1530/REP-08-0206.
100. ROBERTS, M.A, LONDON, K, CAMPOS-CHILLÓN, L.F et ALTERMATT, J.L. Presumed monozygotic twins develop following transfer of an in vitro-produced equine embryo. *Journal of Equine Science*. [en ligne]. 2015. Vol. 26, n° 3, pp. 89-94. [Consulté le 3 octobre 2022]. DOI 10.1294/jes.26.89.
101. DIJKSTRA, A., CUERVO-ARANGO, J., STOUT, T. a. E. et CLAES, A. Monozygotic multiple pregnancies after transfer of single in vitro produced equine embryos. *Equine Veterinary Journal*. [en ligne]. 2020. Vol. 52, n° 2, pp. 258-261. [Consulté le 27 septembre 2022]. DOI 10.1111/evj.13146.
102. MANCILL, S S, BLODGETT, G, ARNOTT, R J, ALVARENGA, M A, LOVE, C C et HINRICHS, K. Description and genetic analysis of three sets of monozygotic twins resulting from transfers of single embryos to recipient mares. *Journal of American Veterinary Medicine*. [en ligne]. 2011. Vol. 238, n° 8. [Consulté le 3 octobre 2022]. Disponible à l'adresse: <https://avmajournals.avma.org/view/journals/javma/238/8/javma.238.8.1040.xml>
103. ROACH, J. M., ARANGO-SABOGAL, J. C., SMITH, K. C., FOOTE, A. K., VERHEYEN, K. L. et MESTRE, A. M. de. Multivariable analysis to determine risk factors associated with abortion in mares. *Reproduction and Fertility*. [en ligne]. 1 octobre 2022. Vol. 3, n° 4, pp. 301-312. [Consulté le 16 août 2023]. DOI 10.1530/RAF-22-0087.

104. HAMON, M. Injection létale autour de 120 jours et autres techniques de réduction gémellaire - Ma revue n° 017 du 01/01/2017. *Le Point Vétérinaire.fr*. [en ligne]. La Semaine vétérinaire. 2017. [Consulté le 9 mai 2023]. Disponible à l'adresse: <https://www.lepointveterinaire.fr/publications/pratique-veterinaire-equine/article-spe/n-2017/injection-letale-autour-de-120-jours-et-autres-techniques-de-reduction-gemellaire.html>
105. RAŚ, Andrzej et RAŚ-NORYŃSKA, Małgorzata. A retrospective study of twin pregnancy management in mares. *Theriogenology*. [en ligne]. 1 décembre 2021. Vol. 176, pp. 183-187. [Consulté le 16 août 2023]. DOI 10.1016/j.theriogenology.2021.09.018.
106. MCKINNON, A.O. Management of Twins. In : *Equine Reproduction*. 2nd. Wiley-Blackwell, 2011. pp. 2099-2117.
107. SILVA, L A et GINTHER, O J. Early Endometrial Vascular Indicator of Completed Orientation of the Embryo and the Role of Dorsal Endometrial Encroachment in Mares. *Biology of Reproduction*. [en ligne]. 2006. Vol. 74, n° 2, pp. 337-343. [Consulté le 9 mai 2023]. Disponible à l'adresse: <https://academic.oup.com/biolreprod/article/74/2/337/2666930?login=true>
108. STANGL, M, KÜHHOLZER, B, BESENFELDER, U et BREM, G. Repeated endoscopic ovum pick-up in sheep. *Theriogenology*. [en ligne]. 1999. Vol. 52, n° 4, pp. 709-716. [Consulté le 2 mai 2023]. Disponible à l'adresse: <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.vetagro-sup.fr/science/article/pii/S0093691X99001648?via%3Dihub>
109. BØGH, I. B., BRINK, P., JENSEN, H. E., LEHN-JENSEN, H. et GREVE, T. Ovarian function and morphology in the mare after multiple follicular punctures. *Equine Veterinary Journal*. [en ligne]. 2003. Vol. 35, n° 6, pp. 575-579. [Consulté le 5 octobre 2022]. DOI 10.2746/042516403775467243.
110. VANDERWALL, D.K., HYDE, K.J et WOODS, G.L. Effect of repeated transvaginal ultrasound-guided follicle aspiration on fertility in mares. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. [en ligne]. 15 janvier 2006. Vol. 228, n° 2, pp. 248-250. [Consulté le 5 octobre 2022]. DOI 10.2460/javma.228.2.248.
111. DUCHAMP, G., BÉZARD, J. et PALMER, E. Oocyte Yield and the Consequences of Puncture of All Follicles Larger Than 8 Millimeters in Mares. *Biology of Reproduction*. [en ligne]. 1 janvier 1995. Vol. 52, n° monograph_series1, pp. 233-241. [Consulté le 5 octobre 2022]. DOI 10.1093/biolreprod/52.monograph_series1.233.
112. MCEVOY, T. G., ALINK, F. M., MOREIRA, V. C., WATT, R. G. et POWELL, K. A. Embryo technologies and animal health – consequences for the animal following ovum pick-up, in vitro embryo production and somatic cell nuclear transfer. *Theriogenology*. [en ligne]. 15 mars 2006. Vol. 65, n° 5, pp. 926-942. [Consulté le 5 octobre 2022]. DOI 10.1016/j.theriogenology.2005.09.008.
113. IACONO, E., MERLO, B., RIZZATO, G., MISLEI, B., GOVONI, N., TAMANINI, C. et MARI, G. Effects of repeated transvaginal ultrasound-guided aspirations performed in anestrous and cyclic mares on P4 and E2 plasma levels and luteal function. *Theriogenology*. [en ligne]. 15 juillet 2014. Vol. 82, n° 2, pp. 225-231. [Consulté le 5 octobre 2022]. DOI 10.1016/j.theriogenology.2014.03.025.
114. MEINTJES, M., GRAFF, K. J., PACCAMONTI, D., EILTS, B. E., PAUL, J. B., THOMPSON, D. L., KEARNEY, M. T. et GODKE, R. A. Effects of follicular aspiration and flushing, and the genotype of the fetus on circulating progesterone levels during pregnancy in the mare. *Equine Veterinary Journal. Supplement*. décembre 1997. N° 25, pp. 25-32. DOI 10.1111/j.2042-3306.1997.tb05095.x.
115. MOZZAQUATRO, F. D., VERSTEGEN, J. P., DOUGLAS, R. H., TROEDSSON, M. H. T., DELACORTE, F. D., SILVA, C. A. M. et RUBIN, M. I. B. Luteal function induced by transvaginal ultrasonic-guided follicular aspiration in mares. *Animal Reproduction Science*. [en ligne]. 1 mai 2010. Vol. 119, n° 1, pp. 56-62. [Consulté le 6 octobre 2022]. DOI 10.1016/j.anireprosci.2009.12.012.
116. HINRICHS, K., BETSCHART, R. W., MCCUE, P. M. et SQUIRES, E. L. Effect of

- timing of follicle aspiration on pregnancy rate after oocyte transfer in mares. *Journal of reproduction and fertility Supplement*. 1 janvier 2000. N° 56, pp. 493-498.
117. KOBLSCHKE, P., KINDAHL, H., BUDIK, S., AURICH, J., PALM, F., WALTER, I., KOLODZIEJEK, J., NOWOTNY, N., HOPPEN, H. -O. et AURICH, C. Embryo transfer induces a subclinical endometritis in recipient mares which can be prevented by treatment with non-steroid anti-inflammatory drugs. *Theriogenology*. [en ligne]. 15 octobre 2008. Vol. 70, n° 7, pp. 1147-1158. [Consulté le 2 mai 2023]. DOI 10.1016/j.theriogenology.2008.06.037.
118. CARNEVALE, E. M, BEISNER, A.E, MCCUE, P. M, BASS, L.D et SQUIRES, E. L. Uterine Changes Associated with Repeated Inseminations and Embryo Collections in Mares. In : *American Association of Equine Praticionner*. [en ligne]. Seattle, 2005. [Consulté le 3 mai 2023]. Disponible à l'adresse: <https://www.ivis.org/library/aaep/aaep-annual-convention-seattle-2005/uterine-changes-associated-repeated-inseminations-and-embryo-collections-mares>
119. CAUSEY, R.C. et LEBLANC, M.M. Clinical and Subclinical Endometritis in the Mare: Both Threats to Fertility. *Reproduction in Domestic Animals*. 2009. Vol. 44, n° s.3, pp. 10-22.
120. SQUIRES, E L. Embryo transfer challenges and perspectives. *Rebista Brasileira de Reproducao Animal*. 2013. Vol. 37, n° 2, pp. 105-107.
121. WHIRLEDGE, Shannon et CIDLOWSKI, John A. Glucocorticoids, Stress, and Fertility. *Minerva endocrinologica*. [en ligne]. juin 2010. Vol. 35, n° 2, pp. 109-125. [Consulté le 11 août 2023]. Disponible à l'adresse: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3547681/>
122. BERGHOLD, P, MÖSTL, E et AURICH, C. Effects of reproductive status and management on cortisol secretion and fertility of oestrous horse mares. *Animal Reproduction Science*. [en ligne]. 1 décembre 2007. Vol. 102, n° 3, pp. 276-285. [Consulté le 3 mai 2023]. DOI 10.1016/j.anireprosci.2006.11.009.
123. JOHNSON, A.K, CLARK-PRICE, S.C, CHOI, Y-H, HARTMAN, D.L. et HINRICHS, K. Physical and clinicopathologic findings in foals derived by use of somatic cell nuclear transfer: 14 cases (2004–2008). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. [en ligne]. 1 mai 2010. Vol. 236, n° 9, pp. 983-990. [Consulté le 5 octobre 2022]. DOI 10.2460/javma.236.9.983.
124. SCHÖNBOM, H, KASSENS, A, HOPSTER-IVERSEN, C, KLEWITZ, J, PIECHOTTA, M, MARTINSSON, G, KISSLER, A, BURGER, D et SIEME, H. Influence of transrectal and transabdominal ultrasound examination on salivary cortisol, heart rate, and heart rate variability in mares. *Theriogenology*. [en ligne]. 1 mars 2015. Vol. 83, n° 4, pp. 749-756. [Consulté le 2 mai 2023]. DOI 10.1016/j.theriogenology.2014.11.010.
125. CAMPBELL, M. L. H. et SANDØE, P. Welfare in horse breeding. *Veterinary Record*. [en ligne]. 2015. Vol. 176, n° 17, pp. 436-440. [Consulté le 3 novembre 2022]. DOI 10.1136/vr.102814.
126. DIEGO, R, DOUET, C, REIGNER, F, BLARD, T, COGNIÉ, J, DELEUZE, S et GOUDET, G. Influence of transvaginal ultrasound-guided follicular punctures in the mare on heart rate, respiratory rate, facial expression changes, and salivary cortisol as pain scoring. *Theriogenology*. [en ligne]. octobre 2016. Vol. 86, n° 7, pp. 1757-1763. [Consulté le 2 mai 2023]. DOI 10.1016/j.theriogenology.2016.05.040.
127. BURGER, D., MERONI, G., THOMAS, S. et SIEME, H. Effects of ground semen collection on weight bearing on hindquarters, libido, and semen parameters in stallions. *Theriogenology*. [en ligne]. 15 septembre 2015. Vol. 84, n° 5, pp. 687- 692.e1. [Consulté le 16 juin 2023]. DOI 10.1016/j.theriogenology.2015.04.029.
128. LEADON, Des, WARAN, Natalie, HERHOLZ, Conny et KLAY, Mariann. Veterinary management of horse transport. *Vet Ital*. 2008. Vol. 44.
129. TIBARY, A. CHAPTER 28 - Stallion Reproductive Behavior. In : SAMPER, J.C.,

- PYCOCK, J.F. et MCKINNON, A.O. (éd.), *Current Therapy in Equine Reproduction*. [en ligne]. Saint Louis : W.B. Saunders, 2007. pp. 174-184. [Consulté le 16 juin 2023]. ISBN 978-0-7216-0252-3.
130. SAMPER, J.C. *Equine breeding management and artificial insemination*. . Second edition. Saunders Elsevier, 2009. ISBN 978-1-4160-5234-0.
131. HOPPEN, Hans-otto. Sexual Activity Influences the Secretion of Reproductive Hormones in the Stallion. *Reproduction in Domestic Animals*. [en ligne]. 1 janvier 1999. Vol. 34, pp. 405-411. [Consulté le 16 juin 2023]. Disponible à l'adresse: https://www.academia.edu/88955599/Sexual_Activity_Influences_the_Secretion_of_Reproductive_Hormones_in_the_Stallion
132. AURICH, J., WULF, M, ILE, N, ERBER, R, VON LEWINSKY, M, PALME, R et AURICH, C. Effects of season, age, sex, and housing on salivary cortisol concentrations in horses. *Domestic Animal Endocrinology*. [en ligne]. 2015. Vol. 52, pp. 11-16. [Consulté le 16 juin 2023]. Disponible à l'adresse: <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.vetagro-sup.fr/science/article/pii/S0739724015000041?via%3Dihub>
133. GAULTIER, E, FALAWEE, C, BOURREAU, V et PAGEAT, P. Les stéréotypies : revue de littérature I - Définitions et épidémiologie - Pratique Vétérinaire Equine n° 146 du 01/04/2005. *Pratique vétérinaire équine*. [en ligne]. 2005. N° 146. [Consulté le 10 mai 2023]. Disponible à l'adresse: <https://www.lepointveterinaire.fr/publications/pratique-veterinaire-equine/article/n-146/les-stereotypies-revue-de-litteraturei-definitions-et-epidemiologie.html>
134. SARRAFCHI, Amir et BLOKHUIS, Harry J. Equine stereotypic behaviors: Causation, occurrence, and prevention. *Journal of Veterinary Behavior*. [en ligne]. 1 septembre 2013. Vol. 8, n° 5, pp. 386-394. [Consulté le 16 août 2023]. DOI 10.1016/j.jveb.2013.04.068.
135. HOUP, K.A. Chapter 145 - Stereotypic behavior of stallion. In : MCKINNON, A. O., SQUIRES, E. L., VAALA, W.E. et VARNER, D. D. (éd.), *Equine Reproduction*. 2nd Edition. Wiley-Blackwell, 2011. pp. 1423-1426.
136. GEHLEN, H, KRUMBACH, K et THÖNE-REINEKE, C. Keeping Stallions in Groups—Species-Appropriate or Relevant to Animal Welfare? *Animals : an Open Access Journal from MDPI*. [en ligne]. 4 mai 2021. Vol. 11, n° 5, pp. 1317. [Consulté le 10 mai 2023]. DOI 10.3390/ani11051317.
137. BRIEFER FREYMOND, S, BRIEFER, E.F, NIEDERHÄUSERN, R.V et BACHMANN, I. Pattern of Social Interactions after Group Integration: A Possibility to Keep Stallions in Group. *PLoS ONE*. [en ligne]. 30 janvier 2013. Vol. 8, n° 1, pp. e54688. [Consulté le 9 mai 2023]. DOI 10.1371/journal.pone.0054688.
138. DE OLIVEIRA, R.A et AURICH, C. Aspects of Breeding Stallion Management with Specific Focus on Animal Welfare. *Journal of Equine Veterinary Science*. [en ligne]. 1 décembre 2021. Vol. 107, pp. 103773. [Consulté le 9 mai 2023]. DOI 10.1016/j.jevs.2021.103773.
139. YOUNG, L.E, SINCLAIR, K.D et WILMUT, I. Large offspring syndrome in cattle and sheep. *Reviews of reproduction*. 1998. Vol. 5, pp. 155-163.
140. MCEVOY, T. G., SINCLAIR, K.D., YOUNG, L.E., WILMUT, I. et ROBINSON, J.J. Large offspring syndrome and other consequences of ruminant embryo culture in vitro: Relevance to blastocyst culture in human ART. *Human Fertility*. [en ligne]. 2009. Vol. 3, n° 4, pp. 238-246. [Consulté le 12 octobre 2022]. Disponible à l'adresse: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/1464727002000199061>
141. MANGIAVACCHI, Paula M.P. Magnelli, CALDAS-BUSSIÈRE, M.C, MENDONÇA, M, DIAS, A.J.B et RIOS, A.F.L. Multi-locus imprinting disturbances of Beckwith-Wiedemann and Large offspring syndrome/Abnormal offspring syndrome: A brief review. *Theriogenology*. [en ligne]. 1 octobre 2021. Vol. 173, pp. 193-201. [Consulté le 14 juin 2023]. DOI 10.1016/j.theriogenology.2021.08.005.
142. SATTERFIELD, M.C, COVERDALE, J.A et WU, G. Review of Fetal Programming:

- Implications to Horse Health. *AAEP Proceeding*. 2010. Vol. 56, pp. 207-214.
143. CHEN, H, ZHANG, L, MENG, L, LIANG, L et ZHANG, C. Advantages of vitrification preservation in assisted reproduction and potential influences on imprinted genes. *Clinical Epigenetics*. [en ligne]. 3 novembre 2022. Vol. 14, n° 1, pp. 141. [Consulté le 15 mai 2023]. DOI 10.1186/s13148-022-01355-y.
144. BARBERET, J, BARRY, F, CHOUX, C, GUILLEMAN, M, KAROUI, S, SIMONOT, R, BRUNO, C et FAUQUE, P. What impact does oocyte vitrification have on epigenetics and gene expression? *Clinical Epigenetics*. [en ligne]. 10 août 2020. Vol. 12, n° 1, pp. 121. [Consulté le 15 mai 2023]. DOI 10.1186/s13148-020-00911-8.
145. RAMBAGS, B.p.b., KRIJTENBURG, P.j., DRIE, H.F. van, LAZZARI, G., GALLI, C., PEARSON, P.I., COLENBRANDER, B. et STOUT, T.a.e. Numerical chromosomal abnormalities in equine embryos produced in vivo and in vitro. *Molecular Reproduction and Development*. [en ligne]. 2005. Vol. 72, n° 1, pp. 77-87. [Consulté le 30 septembre 2022]. DOI 10.1002/mrd.20302.
146. LAVARA, R., BASELGA, M., MARCO-JIMÉNEZ, F. et VICENTE, J. S. Long-term and transgenerational effects of cryopreservation on rabbit embryos. *Theriogenology*. [en ligne]. 15 avril 2014. Vol. 81, n° 7, pp. 988-992. [Consulté le 14 juin 2023]. DOI 10.1016/j.theriogenology.2014.01.030.
147. YAO, Z, GENG, L, HUANG, R, PENG, W, CHEN, X, JIANG, X, YU, M, LI, M, HUANG, Y et YANG, X. Effect of vitrification on in vitro development and imprinted gene *Grb10* in mouse embryos. *Reproduction*. [en ligne]. 2017. Vol. 154, n° 3, pp. 197-205. [Consulté le 14 juin 2023]. Disponible à l'adresse: <https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/154/3/REP-16-0480.xml>
148. GALLI, C. Ovum pick up, intracytoplasmic sperm injection and somatic cell nuclear transfer in cattle, buffalo and horses: from the research laboratory to clinical practice. *Theriogenology*. 2014. Vol. 81, pp. 138-151.
149. HINRICHS, K., CHOI, Y. H., LOVE, C. C. et SPACEK, S. Use of in vitro maturation of oocytes, intracytoplasmic sperm injection and in vitro culture to the blastocyst stage in a commercial equine assisted reproduction program. *Journal of Equine Veterinary Science*. [en ligne]. 1 janvier 2014. Vol. 34, n° 1, pp. 176. [Consulté le 29 septembre 2022]. DOI 10.1016/j.jevs.2013.10.129.
150. FRANCIOSI, F, GOUDET, G, TESSARO, I, PAPILLIER, P, DALBIES-TRAN, R, REIGNER, F, DELEUZE, S, DOUET, C, MICLEA, I, LODDE, V et LUCIANO, A.M. In vitro maturation affects chromosome segregation, spindle morphology and acetylation of lysine 16 on histone H4 in horse oocytes. *Reproduction, Fertility and Development*. [en ligne]. 2017. Vol. 29, n° 4, pp. 721. [Consulté le 15 mai 2023]. DOI 10.1071/RD15350.
151. SINCLAIR, K.D, WATKINS, A.J, SINCLAIR, K.D et WATKINS, A.J. Parental diet, pregnancy outcomes and offspring health: metabolic determinants in developing oocytes and embryos. *Reproduction, Fertility and Development*. [en ligne]. 28 janvier 2014. Vol. 26, n° 1, pp. 99-114. [Consulté le 14 juin 2023]. DOI 10.1071/RD13290.
152. LUCAS, E.S. et WATKINS, A.J. The Long-Term Effects of the Periconceptional Period on Embryo Epigenetic Profile and Phenotype; The Paternal Role and His Contribution, and How Males Can Affect Offspring's Phenotype/Epigenetic Profile. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2017. Vol. 1014, pp. 137-154. DOI 10.1007/978-3-319-62414-3_8.
153. ALLEN, W. R., WILSHER, S., TURNBULL, C., STEWART, F., OUSEY, J., ROSSDALE, P. D. et FOWDEN, A. L. Influence of maternal size on placental, fetal and postnatal growth in the horse. I. Development in utero. *Reproduction (Cambridge, England)*. mars 2002. Vol. 123, n° 3, pp. 445-453.
154. ALLEN, W. R., WILSHER, S, TIPLADY, C et BUTTERFIELD, R. M. The influence of maternal size on pre- and postnatal growth in the horse: III Postnatal growth. *Reproduction (Cambridge, England)*. janvier 2004. Vol. 127, n° 1, pp. 67-77. DOI 10.1530/rep.1.00024.

155. PEUGNET, P, MENDOZA, L, WIMEL, L, DUCHAMP, G, DUBOIS, C, REIGNER, F, CAUDRON, I, DELIEGE, B, TOQUET, M-P, RICHARD, E, CHAFFAUX, S, TARRADE, A, LEJEUNE, J-P, SERTEYN, D et CHAVATTE-PALMER, P. Longitudinal Study of Growth and Osteoarticular Status in Foals Born to Between-Breed Embryo Transfers. *Journal of Equine Veterinary Science*. [en ligne]. février 2016. Vol. 37, pp. 24-38. [Consulté le 5 octobre 2022]. DOI 10.1016/j.jevs.2015.11.008.
156. REXHAJ, A, RIMOLDI, S.F, BRENNER, R, PIREVA, A, CERNY, D, SCHERRER, U et ALLEMANN, Y. Role of foetal programming and epigenetic mechanisms in the pathogenesis of arterial hypertension. *Cardiovascular Medicine*. 2014. Vol. 17, n° 2, pp. 42-45.
157. BARKER, D. J. The fetal and infant origins of adult disease. *BMJ (Clinical research ed.)*. 17 novembre 1990. Vol. 301, n° 6761, pp. 1111. DOI 10.1136/bmj.301.6761.1111.
158. BARKER, D. J., GLUCKMAN, P. D., GODFREY, K. M., HARDING, J. E., OWENS, J. A. et ROBINSON, J. S. Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. *Lancet (London, England)*. 10 avril 1993. Vol. 341, n° 8850, pp. 938-941. DOI 10.1016/0140-6736(93)91224-a.
159. BARKER, D. J., HALES, C. N., FALL, C. H., OSMOND, C., PHIPPS, K. et CLARK, P. M. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. *Diabetologia*. janvier 1993. Vol. 36, n° 1, pp. 62-67. DOI 10.1007/BF00399095.
160. Glossaire : Système cardiovasculaire. [en ligne]. [Consulté le 9 août 2023]. Disponible à l'adresse: https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/opinions_layman/fr/pollution-air-interieur/glossaire/pqrs/systeme-circulatoire-systeme-cardiovasculaire.htm#:~:text=D%C3%A9finition%203A,sang%20C3%A0%20travers%20le%20corps.
161. LANFRANCHI, Paola A. et SOMERS, Virend K. Arterial baroreflex function and cardiovascular variability: interactions and implications. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. [en ligne]. 1 octobre 2002. Vol. 283, n° 4, pp. R815-R826. [Consulté le 9 août 2023]. DOI 10.1152/ajpregu.00051.2002.
162. ASMAR, Roland. Pression artérielle. Régulation et épidémiologie. Mesures et valeurs normales. *Néphrologie & Thérapeutique*. [en ligne]. 1 juillet 2007. Vol. 3, n° 4, pp. 163-184. [Consulté le 11 août 2023]. DOI 10.1016/j.nephro.2007.03.008.
163. GIUSSANI, D.A., FORHEAD, A.J., GARDNER, D.S, FLETCHER, A.J.W, ALLEN, W.R et FOWDEN, A.L. Postnatal cardiovascular function after manipulation of fetal growth by embryo transfer in the horse. *The Journal of Physiology*. [en ligne]. 15 février 2003. Vol. 547, n° Pt 1, pp. 67-76. [Consulté le 6 octobre 2022]. DOI 10.1113/jphysiol.2002.027409.
164. SOLIS, Cristobal Navas de, SLACK, JoAnn, BOSTON, Raymond C. et REEF, Virginia B. Hypertensive cardiomyopathy in horses: 5 cases (1995–2011). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. [en ligne]. 1 juillet 2013. Vol. 243, n° 1, pp. 126-130. [Consulté le 11 août 2023]. DOI 10.2460/javma.243.1.126.
165. KIRKWOOD, Naomi C., HUGHES, Kristopher J. et STEWART, Allison J. Pituitary Pars Intermedia Dysfunction (PPID) in Horses. *Veterinary Sciences*. [en ligne]. 10 octobre 2022. Vol. 9, n° 10, pp. 556. [Consulté le 11 août 2023]. DOI 10.3390/vetsci9100556.
166. GATFORD, K.L, MOHAMMAD, S.N.B, HARLAND, M.L, DE BLASIO, M.L, FOWDEN, A.L, ROBINSON, J.S et OWENS, J.A. Impaired β -Cell Function and Inadequate Compensatory Increases in β -Cell Mass after Intrauterine Growth Restriction in Sheep. *Endocrinology*. [en ligne]. 1 octobre 2008. Vol. 149, n° 10, pp. 5118-5127. [Consulté le 12 mai 2023]. DOI 10.1210/en.2008-0233.
167. FORHEAD, A. J., OUSEY, J. C., ALLEN, W. R. et FOWDEN, A. L. Postnatal insulin secretion and sensitivity after manipulation of fetal growth by embryo transfer in the horse. *The Journal of Endocrinology*. juin 2004. Vol. 181, n° 3, pp. 459-467.

DOI 10.1677/joe.0.1810459.

168. KRONFELD, D S, TREIBER, K H, HESS, T M et BOSTON, R C. Insulin resistance in the horse: Definition, detection, and dietetics. *Journal of Animal Science*. 2005. Vol. 83, pp. 22-31.
169. CHAVATTE-PALMER, P, PEUGNET, P et ROBLES, M. Developmental programming in equine species: relevance for the horse industry. *Animal Frontiers*. [en ligne]. 1 juillet 2017. Vol. 7, n° 3, pp. 48-54. [Consulté le 14 juin 2023]. DOI 10.2527/af.2017-0128.
170. BETSCH, J-M et DESBROSSE, F. L'ostéochondrose chez le poulain: particularités et attitude thérapeutique. *Pratique vétérinaire équine*. 2005. Vol. 37.
171. LEPAGE, O. Maladies orthopédiques congénitales et de croissance du poulain de moins de 6 mois. . 2020.
172. BILLINGHURST, R.C, BRAMA, P.A.J, VAN WEEREN, P.R, KNOWLTON, M.S et MCILWRAITH, C.W. Evaluation of serum concentrations of biomarkers of skeletal metabolism and results of radiography as indicators of severity of osteochondrosis in foals. *American Journal of Veterinary Research*. février 2004. Vol. 65, n° 2, pp. 143-150. DOI 10.2460/ajvr.2004.65.143.
173. BRAMA, P. A., TEKOPPELE, J. M., BANK, R. A., VAN WEEREN, P. R. et BARNEVELD, A. Influence of site and age on biochemical characteristics of the collagen network of equine articular cartilage. *American Journal of Veterinary Research*. mars 1999. Vol. 60, n° 3, pp. 341-345.
174. MIRAMS, M, AYODELE, B.A, TATARCZUCH, L, HENSON, F.M, PAGEL, C.N et MACKIE, E.J. Identification of novel osteochondrosis— Associated genes. *Journal of Orthopaedic Research*. [en ligne]. 2016. Vol. 34, n° 3, pp. 404-411. [Consulté le 16 mai 2023]. DOI 10.1002/jor.23033.
175. JOHANNESSON, S. *Current genetics of osteochondrosis (OCD) in equines*. [en ligne]. Thesis. Budapest : SZENT ISTVAN UNIVERSITY FACULTY OF VETERINARY SCIENCE, 2012. [Consulté le 16 mai 2023]. Disponible à l'adresse: <http://huveta.hu/handle/10832/813>Accepted: 2013-03-20T09:42:15ZjournalAbbreviation: A review of literature
176. ANSARI, T., BEECH, D., SIBBONS, P. D., ROSSDALE, P. D., OUSEY, J. C. et CHAVATTE, P. Pilot investigations into microanatomical defects associated with IUGR [intrauterine growth retardation] in the horse and other domestic animals. *Equine Veterinary Journal (United Kingdom)*. [en ligne]. 1998. [Consulté le 12 mai 2023]. Disponible à l'adresse: https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Pilot+investigations+into+microanatomical+defects+associated+with+IUGR+%5Bintrauterine+growth+retardation%5D+in+the+horse+and+other+domestic+animals&author=Ansari%2C+T.&publication_year=1998
177. ALLEN, W. R., WILSHER, S., STEWART, F., OUSEY, J. et FOWDEN, A. The influence of maternal size on placental, fetal and postnatal growth in the horse. II. Endocrinology of pregnancy. *Journal of Endocrinology*. [en ligne]. 1 février 2002. Vol. 172, n° 2, pp. 237-246. [Consulté le 12 mai 2023]. DOI 10.1677/joe.0.1720237.
178. PAKSOY, Y et ÜNAL, N. Multivariate analysis of morphometry effect on race performance in Thoroughbred horses. *Revista Brasileira de Zootecnia*. [en ligne]. 10 juin 2019. Vol. 48, pp. e20180030. [Consulté le 14 juin 2023]. DOI 10.1590/rbz4820180030.
179. SMITH, A.M., STANIAR, W.B et SPLAN, R.K. Associations between yearling body measurements and career racing performance in Thoroughbred racehorses. *Journal of Equine Veterinary Science*. [en ligne]. mai 2006. Vol. 26, n° 5, pp. 212-214. [Consulté le 14 juin 2023]. DOI 10.1016/j.jevs.2006.03.002.
180. VERWILGHEN, D. R., JANSSENS, S., BUSONI, V., PILLE, F., JOHNSTON, C. et SERTEYN, D. Do developmental orthopaedic disorders influence future jumping performances in Warmblood stallions? *Equine Veterinary Journal*. [en ligne]. 2013. Vol. 45, n° 5, pp. 578-581. [Consulté le 14 juin 2023]. DOI 10.1111/evj.12027.

181. JOSE-CUNILLERAS, E, HINCHCLIFF, K.W, SAMS, R.A, DEVOR, S.T et LINDERMAN, J.K. Glycemic index of a meal fed before exercise alters substrate use and glucose flux in exercising horses. *Journal of Applied Physiology*. [en ligne]. janvier 2002. Vol. 92, n° 1, pp. 117-128. [Consulté le 14 juin 2023]. DOI 10.1152/jappl.2002.92.1.117.
182. KEARNS, C. F, MCKEEVER, K. H et ABE, T. Overview of Horse Body Composition and Muscle Architecture: Implications for Performance. *The Veterinary Journal*. [en ligne]. 1 novembre 2002. Vol. 164, n° 3, pp. 224-234. [Consulté le 14 juin 2023]. DOI 10.1053/tvjl.2001.0702.
183. SESSIONS, D. R., REEDY, S. E., VICK, M. M., MURPHY, B. A. et FITZGERALD, B. P. Development of a model for inducing transient insulin resistance in the mare: Preliminary implications regarding the estrous cycle. *Journal of Animal Science*. [en ligne]. 2004. Vol. 82, n° 8, pp. 2321-2328. [Consulté le 14 juin 2023]. Disponible à l'adresse: <https://academic.oup.com/jas/article/82/8/2321/4790590?login=true>
184. VICK, M. M., SESSIONS, D. R., MURPHY, B. A., KENNEDY, E. L., REEDY, S. E., FITZGERALD, B. P., VICK, M. M., SESSIONS, D. R., MURPHY, B. A., KENNEDY, E. L., REEDY, S. E. et FITZGERALD, B. P. Obesity is associated with altered metabolic and reproductive activity in the mare: effects of metformin on insulin sensitivity and reproductive cyclicity*. *Reproduction, Fertility and Development*. [en ligne]. 31 juillet 2006. Vol. 18, n° 6, pp. 609-617. [Consulté le 14 juin 2023]. DOI 10.1071/RD06016.
185. GASTAL, E.L., GASTAL, M de O, WISCHRAL, A et DAVIS, J. The Equine Model to Study the Influence of Obesity and Insulin Resistance in Human Ovarian Function. *Acta Scientiae Veterinariae*. 2011. Vol. 39, n° 1, pp. 57-70.
186. HERRERA, C. Assisted reproduction techniques in horses – clinical application by different programs around the world: *Pferdeheilkunde Equine Medicine*. [en ligne]. 2018. Vol. 34, n° 1, pp. 47-50. [Consulté le 16 juin 2023]. DOI 10.21836/PEM20180108.
187. The IUCN Red List of Threatened Species. *IUCN Red List of Threatened Species*. [en ligne]. [Consulté le 12 juin 2023]. Disponible à l'adresse: <https://www.iucnredlist.org/en> Established in 1964, the IUCN Red List of Threatened Species has evolved to become the world's most comprehensive information source on the global conservation status of animal, fungi and plant species.
188. VOLF, J et CHAGDARSOUEN, O. Nouvelles données sur le cheval de przewalski (*Equus Przewalskii* polj. 1881) en captivité et dans la nature. *Mammalia*. [en ligne]. 1 janvier 1975. Vol. 39, n° 1, pp. 31-38. [Consulté le 19 juin 2023]. DOI 10.1515/mamm.1975.39.1.31.
189. CHUPIN, D. Le rôle des biotechnologies de la reproduction pour la conservation des ressources génétiques animales. *Animal Genetic Resources Information*. [en ligne]. avril 1994. Vol. 14, pp. 13-25. [Consulté le 12 juin 2023]. DOI 10.1017/S101423390000451X.
190. ROLDAN, Ers, GOMENDIO, M, GARDE, Jj, ESPESO, G, LEDDA, S, BERLINGUER, F, DEL OLMO, A, SOLER, Aj, ARREGUI, L, CRESPO, C et GONZÁLEZ, R. Inbreeding and Reproduction in Endangered Ungulates: Preservation of Genetic Variation through the Organization of Genetic Resource Banks. *Reproduction in Domestic Animals*. [en ligne]. 2006. Vol. 41, n° s2, pp. 82-92. [Consulté le 12 juin 2023]. DOI 10.1111/j.1439-0531.2006.00772.x.
191. COLLINS, C.W, BOYD, L.E et HOUP, K.A. Chapter 301 - Asian Wild Horse Reproduction: *Equus Ferus Przewalskii*. In : MCKINNON, A. O., SQUIRES, E. L., VAALA, W.E. et VARNER, D. D. (éd.), *Equine Reproduction*. 2nd edition. Wiley-Blackwell, 2011. pp. 2846-2850.
192. AZCONA, F, VALERA, M, MOLINA, A, TRIGO, P, PERAL-GARCÍA, P, SOLÉ, M et DEMYDA-PEYRÁS, S. Impact of reproductive biotechnologies on genetic variability of Argentine Polo horses. *Livestock Science*. [en ligne]. 1 janvier 2020. Vol. 231, pp. 103848. [Consulté le 6 octobre 2022]. DOI 10.1016/j.livsci.2019.103848.
193. SITZENSTOCK, F., RATHKE, I., YTOURNEL, F. et SIMIANER, H. The potential of embryo transfer in a German horse-breeding programme. *Journal of Animal Breeding and*

- Genetics*. [en ligne]. 2013. Vol. 130, n° 3, pp. 199-208. [Consulté le 8 juin 2023]. DOI 10.1111/jbg.12003.
194. MEDEIROS, B.R, BERTOLI, C.D, GARBADE, P et MCMANUS, C.M. Brazilian Sport Horse: Pedigree Analysis of the Brasileiro de Hipismo Breed. *Italian Journal of Animal Science*. [en ligne]. 1 janvier 2014. Vol. 13, n° 3, pp. 3146. [Consulté le 8 juin 2023]. DOI 10.4081/ijas.2014.3146.
195. VOSTRÁ-VYDROVÁ, H., VOSTRÝ, L., HOFMANOVÁ, B., KRUPA, E., VESELÁ, Z. et SCHMIDOVÁ, J. Genetic diversity within and gene flow between three draught horse breeds using genealogical information. *Czech Journal of Animal Science*. [en ligne]. 31 octobre 2016. Vol. 61, n° 10, pp. 462-472. [Consulté le 21 juin 2023]. DOI 10.17221/91/2015-CJAS.
196. VELIE, B.D, SOLÉ, M, FEGRAEUS, K.J, ROSENGREN, M.K, RØED, K.H, IHLER, C-F, STRAND, E et LINDGREN, G. Genomic measures of inbreeding in the Norwegian–Swedish Coldblooded Trotter and their associations with known QTL for reproduction and health traits. *Genetics Selection Evolution*. [en ligne]. 27 mai 2019. Vol. 51, n° 1, pp. 22. [Consulté le 8 juin 2023]. DOI 10.1186/s12711-019-0465-7.
197. POTOČNIK, K. The use of new technologies in horse selection. *Acta fytotechnica et zootechnica*. [en ligne]. décembre 2018. Vol. 21, n° 4, pp. 186-189. [Consulté le 8 juin 2023]. DOI 10.15414/afz.2018.21.04.186-189.
198. DRAPEAU, C, IFCE et OESC. Tendances de la filière équine. *IFCE*. [en ligne]. 2022. [Consulté le 6 juin 2023]. Disponible à l'adresse: <https://equipedia.ifce.fr/economie-et-filiere/economie/chiffres-cles-de-la-filiere/tendances-de-la-filiere-equine>
199. SEVINGA, M., VRIJENHOEK, T., HESSELINK, J. W., BARKEMA, H. W. et GROEN, A. F. Effect of inbreeding on the incidence of retained placenta in Friesian horses¹. *Journal of Animal Science*. [en ligne]. 1 avril 2004. Vol. 82, n° 4, pp. 982-986. [Consulté le 8 juin 2023]. DOI 10.1093/ansci/82.4.982.
200. TODD, E.T., HO, S.Y.W, THOMSON, P.C, ANG, R.A, VELIE, B.D et HAMILTON, N.A. Founder-specific inbreeding depression affects racing performance in Thoroughbred horses. *Scientific Reports*. [en ligne]. 18 avril 2018. Vol. 8, n° 1, pp. 6167. [Consulté le 8 juin 2023]. DOI 10.1038/s41598-018-24663-x.
201. CASSINELLO, J, GOMENDIO, M et ROLDAN, E.R.S. Relationship between Coefficient of Inbreeding and Parasite Burden in Endangered Gazelles. *Conservation Biology*. [en ligne]. 3 août 2001. Vol. 15, n° 4, pp. 1171-1174. [Consulté le 12 juin 2023]. DOI 10.1046/j.1523-1739.2001.0150041171.x.
202. PALMER, E et CHAVATTE-PALMER, P. Contribution of Reproduction Management and Technologies to Genetic Progress in Horse Breeding. *Journal of Equine Veterinary Science*. [en ligne]. 1 juin 2020. Vol. 89, pp. 103016. [Consulté le 19 juin 2023]. DOI 10.1016/j.jevs.2020.103016.
203. HAMANN, H. et DISTL, O. Genetic variability in Hanoverian warmblood horses using pedigree analysis¹. *Journal of Animal Science*. [en ligne]. 1 juillet 2008. Vol. 86, n° 7, pp. 1503-1513. [Consulté le 8 juin 2023]. DOI 10.2527/jas.2007-0382.
204. THIBIER, M. Identified and unidentified challenges for reproductive biotechnologies regarding infectious diseases in animal and public health. *Theriogenology*. [en ligne]. 1 décembre 2001. Vol. 56, n° 9, pp. 1465-1481. [Consulté le 12 octobre 2022]. DOI 10.1016/S0093-691X(01)00647-1.
205. *A compilation of Standard Operating Procedures for Embryo Transfer and Related Technologies for CANDES*. IETS, 2011. The IETS Parent Committee on Companion Animals, Non-Domestic & Endangered Species (CANDES).
206. THIBIER, M., HIRSCH, M, HUMBLLOT, P, LE GUIENNE, B, GUERIN, B, RENARD, J. P., HOUDEBINE, L-M, FERRY-WILCZECK, H, DEVILLERS, S, BUCHANAN, B, SILVA, P.S., ELOIT, M, HORAUD, F, LARZUL, D, HEIDMANN, T, PRUNET, P, LE BAIL, P-Y, BESANÇON, P et WAL, J-M. Colloque Scientifique:

- Biotechnologies de la reproduction animale et sécurité sanitaire des aliments. In : *Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments*. [en ligne]. Bialec, 1999. [Consulté le 7 juin 2023]. Disponible à l'adresse: <https://www.anses.fr/fr/system/files/BIOT-Co-Reproductanimale.pdf#page=12>
207. ASSEGED, B. D., HABTEMARIAM, T., TAMERU, B. et NGANWA, D. The risk of introduction of equine infectious anemia virus into USA via cloned horse embryos imported from Canada. *Theriogenology*. [en ligne]. 15 janvier 2012. Vol. 77, n° 2, pp. 445-458. [Consulté le 7 juin 2023]. DOI 10.1016/j.theriogenology.2011.08.019.
208. GREGG, K. et POLEJAEVA, I. Risk of equine infectious anemia virus disease transmission through in vitro embryo production using somatic cell nuclear transfer. *Theriogenology*. [en ligne]. 1 août 2009. Vol. 72, n° 3, pp. 289-299. [Consulté le 7 juin 2023]. DOI 10.1016/j.theriogenology.2009.03.009.
209. SCHNUELLE, J.G. Emerging diseases in international trade in embryos. *Reproduction, Fertility and Development*. [en ligne]. 8 janvier 2021. Vol. 33, n° 2, pp. 55-65. [Consulté le 7 juin 2023]. DOI 10.1071/RD20207.
210. WRATHALL, A E, SIMMONS, H A et VAN SOOM, A. Evaluation of risks of viral transmission to recipients of bovine embryos arising from fertilisation with virus-infected semen. *Theriogenology*. [en ligne]. 2006. Vol. 65, n° 2, pp. 247-274. [Consulté le 7 juin 2023]. Disponible à l'adresse: <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.vetagro-sup.fr/science/article/pii/S0093691X05002335?via%3Dihub>
211. DGAL, SDSPA et BSA. *NOTE DE SERVICE DGAL/SDSPA/N2008-8038*. 2008. N2008-8038.
212. DASCANIO, John J. Tail Wrap and Preparation/Washing of the Perineum. In : *Equine Reproductive Procedures*. [en ligne]. John Wiley & Sons, Ltd, 2021. pp. 11-15. [Consulté le 16 août 2023]. ISBN 978-1-119-55601-5.
213. MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE LA SOUVERAINETÉ ALIMENTAIRE. Infographie - La filière équine. *Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté alimentaire*. [en ligne]. 2023. [Consulté le 12 juin 2023]. Disponible à l'adresse: <https://agriculture.gouv.fr/infographie-la-filiere-equine>
214. HARRIS, J. « Goodbye Dolly? » The ethics of human cloning. *Journal of Medical Ethics*. [en ligne]. décembre 1997. Vol. 23, n° 6, pp. 353-360. [Consulté le 6 juin 2023]. Disponible à l'adresse: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1377577/>
215. PETERSEN, A. Replicating Our Bodies, Losing Our Selves: News Media Portrayals of Human Cloning in the Wake of Dolly. *body & society*. [en ligne]. 2002. Vol. 8, n° 4, pp. 71-90. [Consulté le 6 juin 2023]. DOI 10.1177/1357034X02008004004.
216. AUTHORITY (EFSA), European Food Safety. Food Safety, Animal Health and Welfare and Environmental Impact of Animals derived from Cloning by Somatic Cell Nucleus Transfer (SCNT) and their Offspring and Products Obtained from those Animals. *EFSA Journal*. [en ligne]. 2008. Vol. 6, n° 7, pp. 767. [Consulté le 6 juin 2023]. DOI 10.2903/j.efsa.2008.767.
217. GJERRIS, M, LASSEN, J, MEYER, G et TVEIT, G. Ethical aspects of farm animal cloning a synthesis report. *Danish Centre for Bioethics and Risk Assessment*. 2006. N° 14.
218. OLSSON, A.S, GAMBORG, C et SANDØE, P. Taking Ethics into Account in Farm Animal Breeding: What can the Breeding Companies Achieve? *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*. [en ligne]. 2006. Vol. 19, pp. 37-46. [Consulté le 6 juin 2023]. Disponible à l'adresse: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10806-005-4494-6>
219. FARSTAD, W. Ethics in animal breeding. *Reproduction in Domestic Animals*. [en ligne]. 2018. Vol. 53, n° S3, pp. 4-13. [Consulté le 6 juin 2023]. DOI 10.1111/rda.13335.
220. ENGLAND, G et MILLAR, K. The Ethics and Role of AI with Fresh and Frozen Semen in Dogs. *Reproduction in Domestic Animals*. [en ligne]. 2008. Vol. 43, n° s2, pp. 165-171. [Consulté le 6 juin 2023]. DOI 10.1111/j.1439-0531.2008.01157.x.

CONSEQUENCES DES BIOTECHNOLOGIES DE LA REPRODUCTION DANS L'ESPECE EQUINE

Auteur

VACHEROT Camille

Résumé

Les biotechnologies de la reproduction regroupent un ensemble de biotechnologies permettant d'aboutir à la production d'un poulain à partir d'étalons et de juments subfertiles, stériles ou conservant une carrière sportive.

Ces biotechnologies se développent de plus en plus à travers le monde, conférant des avantages non négligeables aux éleveurs d'équidés.

Elles impliquent cependant des micromanipulations de gamètes ou d'embryons, ainsi que de nombreuses interventions vétérinaires sur les juments et les étalons. Elles peuvent donc présenter des conséquences sur l'état de santé, la fertilité ou encore le bien-être des juments, des étalons et des poulains. Sur du long terme elles pourraient également jouer un rôle non négligeable sur les performances sportives des poulains.

Leur utilisation croissante au sein de la filière équine conduit à des modifications de la variabilité génétique des races d'équidés, mais permet également une conservation génétique de certaines races en voie d'extinction. Cette utilisation s'accompagne d'échanges de gamètes et d'embryon au niveau national mais également international ce qui peut conduire à des risques sanitaires. Ces échanges, ainsi que la pratique des biotechnologies de la reproduction sont donc soumis à des réglementations nationales, intercommunautaire mais également international.

Néanmoins, l'intérêt grandissant pour ces biotechnologies de la reproduction suscite des questionnements éthiques, tant au sein de la filière équine que de la société.

Mots-clés

Jument, Poulain, Biotechnologie, Reproduction, Génétique

Jury

Président du jury : **Pr DORET-DION Muriel**

Directeur de thèse : **Dr LEFRANC-POHL Anne-Cécile**

2ème assesseur : **Pr CADORE Jean-Luc**