

Comparaison sur base des attentes et limites de l'éleveur entre programmes commerciaux de transfert embryonnaire et OPU-ICSI chez la jument

Auteur : Baertsoen, Manon

Promoteur(s) : Ponthier, Jérôme

Faculté : Faculté de Médecine Vétérinaire

Diplôme : Master en médecine vétérinaire

Année académique : 2020-2021

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/11976>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

**COMPARAISON ENTRE TRANSFERT
EMBRYONNAIRE ET OPU-ICSI CHEZ LA JUMENT**

**COMPARISON BETWEEN EMBRYO TRANSFER AND OPU-
ICSI IN THE MARE**

BAERTSOEN Manon

Travail de fin d'études
présenté en vue de l'obtention du grade
de Médecin Vétérinaire

ANNÉE ACADÉMIQUE 2020/2021

Le contenu de ce travail n'engage que son auteur

COMPARAISON ENTRE TRANSFERT EMBRYONNAIRE ET OPU-ICSI CHEZ LA JUMENT

COMPARISON BETWEEN EMBRYO TRANSFER AND OPU-ICSI IN THE MARE

BAERTSOEN Manon

Tuteur : Dr Jérôme Ponthier, Dipl ECAR, PhD

Travail de fin d'études
présenté en vue de l'obtention du grade
de Médecin Vétérinaire

ANNÉE ACADÉMIQUE 2020/2021

Le contenu de ce travail n'engage que son auteur

COMPARAISON ENTRE TRANSFERT EMBRYONNAIRE ET OPU-ICSI CHEZ LA JUMENT

OBJECTIF DU TRAVAIL

Pouvoir orienter le choix d'un éleveur vers un programme de transfert embryonnaire ou d'OPU-ICSI en fonction de ses attentes et de ses juments.

RESUME

Le contexte socio-économique actuel au sein du monde des sports équestres et de l'élevage impose un développement rapide et une rigueur importante dans la génétique des chevaux. L'effet de mode de certaines lignées maternelles ou de certains étalons crée une demande importante avec une offre parfois insuffisante. Dans ce sens, la demande des éleveurs pour recourir aux techniques de reproduction assistées est devenue importante. Des programmes commerciaux de transfert embryonnaire sont disponibles depuis de nombreuses années mais la demande croissante et les avancées scientifiques ont permis de développer des programmes d'OPU-ICSI qui peuvent dorénavant s'inscrire dans des programmes commerciaux viables. L'intérêt pour l'éleveur est donc de savoir lequel de ces deux programmes est le plus adapté à ses attentes ainsi qu'aux juments dont il dispose. Pour ce faire, une revue de la littérature prenant en compte les différents aspects et facteurs favorisant le choix de l'une ou l'autre des techniques s'avère intéressante. Au cours de ce travail, divers paramètres liés à la jument donneuse, au choix de l'étalon ainsi qu'au management annexe imposé par les techniques sont étudiés.

COMPARISON BETWEEN EMBRYO TRANSFER AND OPU-ICSI IN THE MARE

AIM OF THE WORK

SUMMARY

REMERCIEMENTS

Au professeur Jérôme Ponthier, diplômé de la faculté de médecine vétérinaire de Liège et du European College of Animal Reproduction (ECAR), pour ses conseils avisés et le temps consacré à l'amélioration de ce manuscrit. Mes plus sincères et respectueux remerciements.

TABLE DES MATIERES

1. Introduction
 - 1.1 Généralités
 - 1.2 Transfert embryonnaire
 - 1.3 OPU-ICSI
2. Critères relatifs à la jument donneuse
 - 2.1 Carrière sportive
 - 2.2 Âge
 - 2.3 Fertilité
 - 2.4 Répétition des techniques
 - 2.5 Risques associés à la technique
3. Critères relatifs à l'étalon
 - 3.1 Semence (IAF, IAR, IAC)
 - 3.2 Fertilité
4. Critères relatifs aux embryons produits
 - 4.1 Synchronisation des juments receveuses
 - 4.2 Congélation
5. Résultats attendus
 - 5.1 Gestations
 - 5.2 Poulains
6. Conclusion

1. Introduction

1.1 Généralités

Au cours de la dernière décennie, les techniques de reproduction assistée ont énormément évolué. Le désir des éleveurs d'élever avec leurs juments de concours sans que celles-ci ne soient écartées des terrains de compétition pendant de longues périodes, le souhait d'obtenir plusieurs poulains issus d'une même jument ou l'utilisation de semence d'étalons subfertiles a entraîné le développement de techniques telles que le transfert d'embryons ou l'OPU-ICSI (*Ovum Pick Up – Intracytoplasmic Sperm Injection*). Ces techniques s'inscrivent dorénavant dans des programmes commerciaux, avec des contraintes, prix et résultats variables. Comment sélectionner plutôt l'une ou l'autre de ces deux techniques dans l'optique de faire reproduire sa jument ?

Que ce soit le transfert embryonnaire ou l'OPU-ICSI, il faut savoir que ce sont des actes qui imposent un certain coût financier. En effet, pour obtenir une gestation, il faut compter un minimum d'environ 3000 euros pour le transfert embryonnaire et 4900 euros pour l'OPU-ICSI, incluant les frais fixes (suivi gynécologique, récolte embryon / OPU, location porteuse, ...) (*Figure 1*) mais sans compter les frais liés à l'insémination de la jument et à la semence choisie. En raison de ces prix, ces techniques restent encore souvent réservées aux juments de sport à forte valeur génétique en Europe.

Le choix de se tourner vers ces méthodes de reproduction assistée fait souvent suite à la décision de l'éleveur qui ne souhaite pas que sa jument mène sa gestation à terme ou parce que la jument n'y parvient pas. En effet, ces techniques permettent de court-circuiter certaines étapes de la reproduction naturelle chez la jument. En fonction des problèmes de conception rencontrés avec sa jument le propriétaire pourra se tourner préférentiellement vers une des deux techniques précitées. La plupart du temps, un éleveur qui rencontre des problèmes lors de la mise à la reproduction avec sa jument, se tournera d'abord vers le transfert embryonnaire qui est une technique beaucoup plus courante dans la pratique.

1.2 Transfert embryonnaire

Le transfert embryonnaire est une technique consistant à inséminer la jument donneuse et à effectuer un lavage utérin au minimum 6 jours après ovulation de la jument (temps minimum nécessaire pour que l'embryon descende dans la corne utérine) dans le but de récupérer un potentiel embryon et de le ré-implanter dans une jument receveuse. La gestation est ainsi menée à terme par la jument porteuse et la donneuse peut ainsi produire d'autres embryons et se consacrer à sa carrière sportive.

Le propriétaire souhaitant obtenir un poulain de sa jument, sans que celle-ci ne mène une gestation à terme, devra faire appel à un vétérinaire qui effectuera un suivi échographique régulier pour suivre le cycle de la jument. Lorsque la jument arrive au moment de l'ovulation, celle-ci sera inséminée. Ensuite, elle subira un lavage utérin sept à huit jours après ovulation. A ce stade, on ne peut pas savoir si la fécondation a bien eu lieu. L'utérus de la jument est lavé avec un milieu tampon à trois ou quatre reprises via une sonde à ballonnet posée proximale au col utérin. L'utérus est massé par voie rectale, et ce afin que le liquide se répande également dans les cornes utérines. Le liquide récupéré est ensuite filtré, soit directement derrière la jument, soit dans le laboratoire adjacent. Une loupe binoculaire est nécessaire pour chercher l'éventuel embryon présent dans le liquide récolté (*Figure 2*). Si la récolte s'avère positive et qu'un ou plusieurs embryons sont présents, ceux-ci sont prélevés, lavés à l'aide de milieux spécifiques, gradés en fonction de leur qualité (*Figure 3*) et placés dans une paillette de transfert

avec un milieu pour conserver l'embryon (*Embryo holding*®). Ensuite, l'embryon doit être ré-implanté dans une jument receveuse synchronisée avec la donneuse au niveau de son cycle œstral. Cette manipulation, nécessite une expérience de l'opérateur pour transférer l'embryon à l'aide d'un pistolet spécial dans l'utérus de la jument receveuse sans que le col utérin de celle-ci ne soit trop manipulé. En effet, une manipulation excessive du col, qui est fermé à ce moment, entraînerait une décharge de prostaglandines qui mènerait à la lutéolyse et compromettrait la future gestation. Il convient par la suite d'effectuer un contrôle échographique de la receveuse, pour s'assurer d'une éventuelle gestation, aux alentours de quatorze jours après que la donneuse ait ovulé, soit six à sept jours après le transfert embryonnaire. La technique n'assurant pas une efficacité totale, un contrôle échographique de la jument donneuse est également fortement recommandé pour s'assurer que celle-ci ne soit pas restée gestante, si l'embryon n'avait pas été récupéré malgré le lavage utérin, ou que son utérus soit propre et que la jument ne développe pas une endométrite. La gestation de la jument receveuse est ensuite régulièrement contrôlée par échographie trans-rectale et celle-ci est ensuite louée au propriétaire de la jument donneuse à partir de 45 jours de gestation et ce jusqu'au sevrage du poulain l'année suivante.

1.3 Ovum Pick Up – Intracytoplasmic Sperm Injection

En ce qui concerne l'ovum pick up (OPU) et l'intracytoplasmic sperm injection (ICSI), la technique diffère en grande majorité du transfert embryonnaire par le fait que la fécondation de l'ovocyte n'a pas lieu dans la jument donneuse mais *in-vitro* dans un laboratoire. Cette technique était initialement considérée pour des juments subfertiles, souvent âgées, incapables de produire un embryon via les autres techniques de reproduction assistées des suites de pathologies ou d'anomalies du tractus reproducteur mais aussi pour l'utilisation de semence d'étalons subfertiles ou dont il reste très peu de paillettes. Cependant, ces dernières années la technique s'est fortement développée et s'est élargie à un plus grand panel de juments.

Pratiquement, pour l'OPU, la jument sera suivie échographiquement pour s'assurer de la croissance folliculaire sur ses ovaires. Lorsqu'un nombre suffisant de follicules (>20) de petite taille (<16mm) sont observés, la jument peut être soumise à l'ovum pick up. Elle reçoit au préalable un sédatif, des analgésiques, des antibiotiques, et une péridurale peut être réalisée. Cela consiste en une ponction trans-vaginale échoguidée à l'aide d'un pistolet muni d'une grande aiguille à double voie pour flusher et gratter l'intérieur des follicules. Cette combinaison de flusher et gratter est importante car le complexe cumulus-ovocyte est très solidaire de la paroi du follicule chez la jument. Une moyenne de 5-12 ovocytes sont récoltés par OPU. Ceux-ci sont dans une majorité des cas acheminés vers un laboratoire spécialisé extérieur à la clinique où a eu lieu l'OPU. Il n'y a pas d'effet délétère décrit quand au fait de stocker les ovocytes pendant 15-18h à 20-25°C, permettant leur transfert dans un laboratoire pratiquant l'ICSI. Les ovocytes immatures récoltés doivent alors être maturés *in vitro* pendant 22 à 36h en fonction de la morphologie du cumulus (étendu ou compact respectivement) jusqu'à atteindre le stade de métaphase II. Vient ensuite l'étape de fécondation *in vitro* où l'une des difficultés majeures rencontrées est le faible pouvoir de capacitation du sperme équin *in vitro*. L'ICSI a pour avantage de bypasser cette nécessité de capacitation en injectant directement un spermatozoïde dans l'ovocyte à l'aide d'une micropipette. Si la fécondation aboutie, le zygote sera encore maturé quelques jours *in vitro* pour atteindre le stade de blastocyste. Enfin, le ou les embryon(s) obtenus sont transférés dans l'utérus d'une jument receveuse de manière identique à celle décrite précédemment pour le transfert d'embryon. Le taux de gestation de la receveuse peut atteindre les 60-80%. Une mortalité embryonnaire précoce d'environ 20% reste cependant observée pour les embryons issus d'OPU-ICSI endéans les 60 premiers jours de gestation. Cette technique est donc intéressante du fait qu'il est possible de la pratiquer hors période de

reproduction classique et qu'elle permet de ce fait de conserver le programme de compétitions de la jument sans devoir l'interrompre. Cependant, des challenges persistent du fait que la technique reste onéreuse et qu'une main-d'œuvre qualifiée et spécifiquement formée au travail en laboratoire est nécessaire pour obtenir les résultats escomptés dans un programme commercial d'OPU-ICSI.

La technique de transfert embryonnaire est simple et aisément réalisée en routine sur le terrain contrairement à l'OPU-ICSI qui nécessite la mise en place de moyens techniques et humains importants. Même si l'OPU se généralise au sein des cliniques vétérinaires, les manipulations *in vitro* incluant l'ICSI restent maîtrisées par peu de laboratoires de manière efficace. La possibilité de transporter les ovocytes pendant une période déterminée permet d'y remédier et rend ainsi la technique plus accessible.

2. Critères relatifs à la jument donneuse

2.1 Carrière sportive

L'une des principales raisons d'opter pour les techniques de transfert embryonnaire ou de ponction ovocytaire est le souhait de conserver la carrière sportive de la jument en parallèle de sa carrière de reproduction. La jument ne devant de ce fait pas mener sa gestation à terme, les deux techniques conviennent pour cette raison. Toutefois, il est intéressant de savoir si le fait de continuer à soumettre la jument à un entraînement sportif pendant la période où on souhaite faire du transfert embryonnaire ou de l'OPU peut influencer sa production d'embryons.

En ce qui concerne le transfert d'embryons, des contraintes telles que le suivi gynécologique régulier, l'insémination puis la collecte de l'embryon ne peuvent être évitées. Celles-ci nécessitent un investissement du propriétaire qui doit soit faire appel à un vétérinaire venant sur place ou emmener la jument dans un centre de reproduction. Si les juments peuvent continuer de travailler quotidiennement il faut savoir que plusieurs facteurs peuvent entrer en compte et potentiellement perturber leur cycle ainsi que la production d'embryons.

L'effet de l'exercice fait parti de ces facteurs. En effet, le taux de récoltes d'embryons positives est moindre dans les groupes de juments exercées (30min d'exercice quotidien) que chez les juments au repos (43% vs 67%) d'après une étude de Smith et al. (2012). Il semblerait donc que l'exercice ait un impact négatif sur les chances de récolter un embryon.

Le flux sanguin dans les artères ovariennes est plus important chez les juments soumises à l'exercice quotidien dans les jours précédant l'ovulation alors que la perfusion vasculaire de la paroi du follicule pré-ovulatoire, le jour précédant l'ovulation, est moins important que chez les juments au repos. Cette perfusion vasculaire est, chez les juments exercées, positivement corrélée au recouvrement d'un embryon. Le nombre d'embryons de grade 1 est également moins important chez ces juments que chez les juments laissées au repos. On constate donc que l'exercice semble défavorable pour l'obtention d'un embryon.

D'autre part, il semblerait que l'exercice affecte plus la période de conception que celle du développement embryonnaire précoce puisque les résultats ne sont pas meilleurs si la jument est mise au repos après son ovulation, et ce, jusqu'au transfert. Une des hypothèses avancées serait que l'exercice puisse causer une perturbation générale du développement et de la maturation folliculaire. Une combinaison de mécanismes, tels que l'augmentation de cortisol circulant et la diminution des concentrations plasmatiques de LH, semblerait être à l'origine de cette perturbation reflétée par la moindre perfusion vasculaire de la paroi du follicule pré-ovulatoire.

Cependant, certaines juments continuent d'être entraînées pendant le programme de transfert embryonnaire sans poser de problèmes, toutes les juments ne souffrent donc pas d'une baisse de fertilité suite à l'exercice. De plus, chez d'autres juments l'exercice semble avoir un effet perturbateur sur le développement folliculaire ce qui complique le management, n'affectant de ce fait pas uniquement le résultat de la collecte de l'embryon. Ce qui semble être le plus dommageable pour l'obtention d'un embryon chez la jument n'est pas tant l'exercice en lui-même mais plutôt une inadéquation entre l'état de forme de la jument et l'exercice qui lui est imposé. En effet, des juments qui sont en bonne condition physique et qui continuent de travailler à un niveau habituel sont moins soumises aux variations de température corporelle associée à l'exercice ainsi qu'au stress physique provoqué par celui-ci. D'autre part, si la jument ne reste pas sur place entre l'insémination et la récolte de l'embryon, celle-ci devra être transportée. La réponse au stress induit par le transport chez la jument est le plus marqué pendant le dioestrus ou l'anoestrus saisonnier. La période entre l'insémination et la collecte de l'embryon correspondant au dioestrus est donc critique et pourrait expliquer les moins bons résultats obtenus chez les juments qui voyagent mal et seraient déplacées à ce moment. Par ailleurs, la saison de reproduction est souvent la même que la saison de compétition pour les juments donneuses ce qui peut compliquer leur management. Il est en effet plus complexe d'obtenir de bons résultats en transfert embryonnaire hors période de reproduction et la synchronisation de la donneuse avec une jument receveuse est bien plus aisée pendant cette période. On constate donc que le transfert embryonnaire est efficace chez juments de sport et leur permet de ne pas devoir arrêter leur carrière sportive en parallèle de leur carrière reproductive. Cependant, un allègement du travail pendant la période de transfert ne peut être que bénéfique. Les éleveurs doivent en être conscients. De plus, si une jument échoue à produire des embryons à plusieurs reprises successives sans qu'une anomalie du tractus reproducteur ne soit clairement visible, il faut penser au fait que l'exercice, le stress psychologique ou physique pendant la période péri-ovulatoire, la plus cruciale, et entre l'insémination et la collecte de l'embryon peuvent en être la cause. Il faudra donc lui apporter un management en conséquence. Le transfert est une technique qui peut fonctionner de manière très efficace tout comme échouer pour certaines juments. L'éleveur doit également être flexible quant à la période de réalisation du transfert embryonnaire, savoir suivre le cycle naturel de la jument et ne pas être arrêté sur un programme de concours fixe avec des périodes imposées pour la reproduction.

Pour l'ovum pick up, très peu d'études ont été réalisées. La technique reste encore récente dans les programmes commerciaux et la standardisation des résultats obtenus en fonction de la carrière sportive n'est pas aisée. Il est néanmoins admis que les jeunes juments avec « stress injury » donnent des taux de gestation moindres que les juments sous management de poulinière. Pour l'instant la population soumise à l'OPU-ICSI reste majoritairement composée de juments âgées et/ou subfertiles. Cependant, mis à part le fait que le recul clinique est encore insuffisant par rapport à l'activité physique de la donneuse, les avantages seraient identiques à ceux présents pour le transfert embryonnaire, avec en plus, une possibilité d'effectuer les OPU hors période de reproduction classique, et donc également hors période de compétitions, avec des résultats similaires.

2.2 Âge

Chez la jument, on observe une diminution de la fertilité dès l'âge de 10ans et une chute de l'activité ovarienne au-delà des 20ans. Plus la jument vieillit et plus le nombre de follicules disponibles diminue du fait de l'atrésie et des ovulations successives. La déplétion de la réserve ovarienne, identique à ce qui est observé chez la femme, est donc le facteur limitant principal chez la jument vieillissante.

TE

Théoriquement, la qualité d'embryons produits par OPU-ICSI de juments âgées devrait être inférieure à celle de jeunes juments du fait que l'âge influence principalement la qualité de l'ovocyte (Carnevale et al. (1995)).

De nombreuses études ont été réalisées pour déterminer l'influence de l'âge maternel sur la probabilité d'obtenir une gestation via la technique d'OPU-ICSI. D'après l'étude rétrospective de Cuervo-Arango et al. (2019), réalisée en 3ans sur un panel de 473 juments, incluses une seule fois dans l'étude, et soumises à l'OPU (Université d'Utrecht, Pays-Bas) et ICSI (Avantea, Italie), l'âge influence négativement le nombre d'ovocytes récoltés. Les juments étaient ponctionnées lorsqu'un minimum de 15-20 follicules d'au moins 1cm de diamètre étaient présents sur les ovaires. Les ovocytes récoltés sont envoyés chez Avantea, en Italie, où ils sont soumis à l'ICSI. Les blastocystes, identifiés 6 à 8 jours suivant l'ICSI, ont été soumis à la cryogénéisation et renvoyés à l'Université d'Utrecht aux Pays-Bas. De cette étude a résulté le fait que l'augmentation de l'âge des juments est associé avec une diminution du nombre de follicules aspirés et un nombre d'ovocytes récoltés inférieur. Cela peut s'expliquer du fait de la déplétion de la réserve ovarienne associée à l'âge. Le pourcentage de maturation des ovocytes in vitro, est quant à lui, plus élevé chez les juments plus âgées (explication). En ce qui concerne le pourcentage de clivage des zygotes après ICSI et le nombre de blastocystes obtenus par ovocyte injecté, ils ne sont pas influencés par l'âge de la jument. D'un autre côté, l'étude menée par Altermatt et al. (2009) n'a quant à elle pas démontré d'influence significative liée à l'âge. Cette étude compare les compétences de développement ovocytaire entre jeunes (4-9ans) et vieilles (>20ans) juments après OPU-ICSI. Aucune différence significative au niveau de la probabilité de clivage et de la formation de blastocystes n'a été démontrée. Cependant, il faut prendre en compte le fait que les ovocytes étaient issus de follicules pré-ovulatoires, et de ce fait partiellement maturés in vivo, et que le nombre de juments incluses dans l'étude reste assez faible (nombre).

On constate que l'âge de la donneuse influence essentiellement le nombre de follicules aspirés et donc le nombre moyen d'ovocytes récoltés. Sachant que la qualité de l'ovocyte est le reflet de sa capacité à être fertilisé et à générer un embryon viable, il n'y a pas de caractéristique morphologique de l'ovocyte associée à l'âge qui expliquerait de potentiels moins bons résultats (exemples de morpho pb). L'âge de la donneuse ne semble pas impacter la fertilisation in vitro, la capacité des ovocytes récoltés pour produire des embryons, le pourcentage de blastocystes obtenus par ovocyte injecté ou le taux de division des blastocystes.

Concernant la technique d'OPU-ICSI, on constate que l'âge plus avancé de la donneuse est associé avec un nombre de follicules aspirés moins important, et de ce fait, un nombre d'ovocytes obtenu par jument moindre. Cependant, l'âge de la jument n'influence pas les manipulations in vivo telles que le taux de fertilisation des ovocytes et le taux de division des blastocystes. L'augmentation de l'âge de la donneuse tend donc à être associé avec une réduction du nombre de blastocystes obtenus par jument et un plus grand nombre de tentatives pour obtenir une gestation du fait du moindre nombre d'ovocytes obtenus. L'avantage de la technique se trouve donc majoritairement dans le fait que les ovocytes récoltés, même s'ils sont moins nombreux, ne sont pas soumis à des facteurs négatifs associés à l'âge de la jument lors des processus in vitro.

2.3 Fertilité

Les principales causes d'infertilité chez la jument sont l'endométrite et l'endométriose ainsi qu'une semence de mauvaise qualité et une mauvaise synchronisation saillie/ovulation.

Ces deux dernières causes étant moins spécifiques de la jument en elle-même, seront abordées plus tard au cours de ce travail.

L'endométrite est une inflammation utérine qui reste localisée à l'endomètre et qui n'induit pas ou peu de signes cliniques (sécrétions utérines plus ou moins abondantes) mis à part l'infertilité qu'elle induit. Les causes d'endométrite sont multiples (« physiologique » mais persistante ou infectieuse). Après une saillie ou une insémination, une réponse inflammatoire physiologique de l'endomètre a lieu (afflux de PMNn, sécrétion de cytokines et libération de prostaglandines). Lors de l'œstrus, cette inflammation doit se résoudre de manière spontanée de par la vidange de l'utérus du fait des contractions du myomètre (naturellement via le col et le vagin) et minoritairement par le drainage lymphatique. Cependant, chez certaines juments, cette inflammation persiste, s'auto-entretient et peut se compliquer en endométrite infectieuse. Cette dernière est causée par des agents pathogènes qui se rencontrent dans l'environnement classique du cheval (*Klebsiella p.*, *Streptococcus sp.*, *E. Coli*,..) et fait souvent suite à une prédisposition de la jument de par une mauvaise conformation vulvaire, de l'anneau vestibulaire, du vagin ou du col.

Cette inflammation persistante mène à la mort de l'embryon lors de son arrivée dans l'utérus (6-7 jours post-ovulation). On comprend donc que cette pathologie affecte de manière considérable les juments présentées lors d'un programme de transfert embryonnaire.

D'après l'étude de Günay et al. (2020) l'endométrite a, par ailleurs, une influence sur la vascularisation et l'épaisseur de la paroi du follicule pré-ovulatoire. En comparant un groupe de juments saines et un groupe de juments atteintes d'endométrite deux jours avant l'ovulation, on se rend compte que chez les juments atteintes d'endométrite le follicule pré-ovulatoire est moins vascularisé et sa paroi est plus fine. Or, comme vu précédemment, la perfusion vasculaire de la paroi du follicule pré-ovulatoire est positivement corrélée au fait d'obtenir un embryon. On constate donc que l'endométrite affecte la probabilité d'obtenir un embryon de la jument atteinte.

L'endométrieose qui correspond à une endométrite chronique dégénérative est une autre cause d'infertilité chez la jument. Elle fait souvent suite aux inflammations utérines précédentes et correspond au remplacement des glandes endométriales par du tissu cicatriciel, diminuant la surface fonctionnelle de l'utérus, tant en surface qu'en profondeur. Ces lésions dégénératives ne pouvant être traitées mais compromettant fortement la fertilité de la jument, il est donc primordial de traiter les endométrites à temps.

Lors d'un programme de transfert embryonnaire, on se retrouve directement confronté à ces problèmes puisque la jument donneuse est elle-même saillie et la conception de l'embryon a lieu *in vivo* dans son utérus. Si la donneuse souffre d'endométrite, le milieu utérin pour accueillir l'embryon n'est pas favorable et la probabilité d'obtenir un embryon viable de bonne qualité devient moindre.

Une des façons de *bypasser* ces phénomènes serait le recours à l'OPU-ICSI. En effet, pour être soumise à l'OPU, la jument doit disposer de plusieurs follicules immatures sur ses ovaires et pas forcément de follicules pré-ovulatoires. De ce fait, l'influence de l'endométrite sur la mauvaise perfusion vasculaire du follicule pré-ovulatoire n'intervient pas et l'ovocyte, qui provient de follicules immatures et qui mûrira *in vitro*, ne subit donc pas de dommages. De plus, l'embryon étant produit *in vitro*, aucun contact avec l'utérus de la jument atteinte d'endométrite n'a lieu. Avec cette technique, les problèmes majeurs d'infertilité rencontrés fréquemment lors de la mise à la reproduction de la jument peuvent être évités. Cependant, cette technique présente aussi ses désavantages et ne permet pas de résoudre toutes les situations problématiques rencontrées (jument avec faible croissance folliculaire par exemple).

2.4 Répétition des techniques

La possibilité d'obtenir plus d'une gestation par jument et par an est l'un des aspects majeurs du transfert embryonnaire et de l'OPU-ICSI. Plusieurs tentatives sont parfois nécessaires pour produire une gestation ou pour augmenter le nombre de produits issus de la même jument. L'avantage de ces techniques est qu'elles sont répétables sur un laps de temps assez court (environ toutes les 3 semaines pour le transfert embryonnaire et toutes les 2 semaines pour l'OPU-ICSI).

En ce qui concerne le transfert embryonnaire, le nombre de collectes possibles est limité par la période de reproduction et comprend de ce fait plus ou moins 6-7 cycles exploitables. De plus, la technique est limitée par le fait que la superovulation n'est pas efficace chez la jument.

2.5 Risques associés à la technique

Chaque intervention sur la jument donneuse, ne serait-ce que le suivi gynécologique comporte des risques, même s'ils restent minoritaires.

L'OPU n'est pas une procédure sans risques, des complications majeures, même si elles restent relativement faibles existent, telles que la lacération rectale, la péritonite et l'hémorragie ou la formation d'abcès ovariens.

3. Critères relatifs à l'étalon

3.1 Semence (IAF, IAR, IAC)

L'effet de mode des étalons, ne serait-ce que pour l'aspect économique de leur progéniture, conditionne souvent le choix des éleveurs. Cependant, tous les étalons n'ont pas la même disponibilité au niveau de leur semence. La semence fraîche et réfrigérée est souvent disponible en début de saison de reproduction ou lorsque l'étalon n'effectue plus de compétitions. La semence congelée, pour autant qu'un stock suffisant ait été prévu, est disponible tout au long de l'année et ce même après la mort du cheval.

En programme de transfert embryonnaire, les trois types de semence peuvent être utilisées. Le choix du type de semence utilisée conditionne le pourcentage de réussite mais aussi le travail de suivi gynécologique de la jument. En effet, une jument qui sera inséminée avec du sperme frais ou réfrigéré (48h de survie dans le tractus génital femelle) nécessitera un suivi moins rapproché que celui d'une jument à inséminer avec du sperme congelé (6h de survie). Le management de la jument se trouve donc grandement influencé par le choix de la semence.

3.2 Fertilité

4. Critères relatifs aux embryons produits

4.1 Synchronisation des jumens receveuses

4.2 Congélation

5. Résultats attendus

5.1 Gestations

5.2 Poulains

6. Conclusion

ANNEXES

	Transfert embryonnaire	OPU-ICSI
Suivi gynécologique	80€ HT / cycle	
Récolte embryon	250€ HT	
Prélèvements sanitaires		45€ HT
OPU		800€ HT
Expédition ovocytes		150€ HT
ICSI pour tous les ovocytes maturés aptes à la fécondation		380€ HT
Coût par embryon congelé réalisé		420€ HT
Transport embryons		150€ HT
Pose embryon	150€ HT	
Location porteuse	2 800€ HT	
TOTAL	3 280€ HT	4 975€ HT

**prix pour l'obtention d'une jument porteuse pleine à 45j (BLH, France, saison de monte 2020-2021)*

	Transfert embryonnaire	OPU-ICSI
Suivi gynécologique	80€ HT / cycle	
Récolte embryon	125€ HT	
Prélèvements sanitaires		50€ HT
OPU		1 000€ HT
Expédition ovocytes		
ICSI pour tous les ovocytes maturés aptes à la fécondation		530€ HT
Coût par embryon congelé réalisé		420€ HT
Décongélation		200€ HT
Location porteuse	2800€ HT	
TOTAL	3 005 € HT	5 080€ HT

**prix pour l'obtention d'une jument porteuse pleine à 45j (Keros, Belgique, saison de monte 2020-2021)*

Figure 1 : prix fixes moyens pour le transfert embryonnaire et l'OPU-ICSI en France et en Belgique

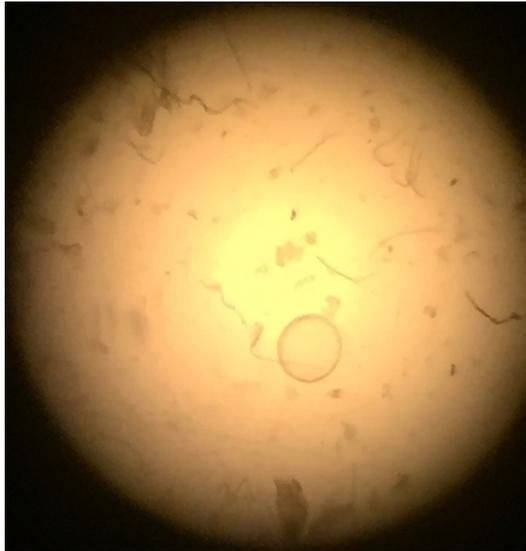


Figure 2 : Embryon récolté après lavage utérin à J8

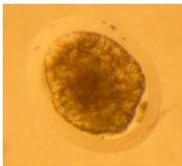
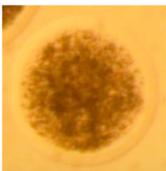
Embryons	Grade	Qualité	Commentaires
	1	Excellent	Embryon idéal, sphérique, cellules de taille, couleur et texture uniformes
	2	Bon	Imperfections légères : quelques blastomères expulsés, forme de l'embryon irrégulière, séparation du trophoblaste
	3	Correct	Problèmes bien définis mais peu sévères : blastomères expulsés, cellules dégénérées, ou blastocoele collabé (embryon contracté)
	4	Médiocre	Problèmes sévères : blastocoele collabé, nombreux blastomères expulsés, cellules dégénérées mais masse embryonnaire apparemment viable
	5	Mauvais	Oocyte non fécondé ou embryon dégénéré

Figure 3 : Classification qualitative d'embryons équins

BIBLIOGRAPHIE

- ¹Altermatt JL, Suh TK, Stokes JE, Carnevale EM. Effects of age and equine follicle-stimulating hormone (eFSH) on collection and viability of equine oocytes assessed by morphology and developmental competency after intra- cytoplasmic sperm injection (ICSI). *Reprod Fertil Dev* 2009;21:615e23.
- ²Aurich, C., König, N., & Budik, S. (2011). Effects of repeated embryo collection on embryo recovery rate in fertile mares. *Reproduction in domestic animals*, 46(3), 419-422.
- ³Ball BA, Little TV, Hillman RB, Woods GL. Pregnancy rates at days 2 and 14 and estimated embryonic loss rates prior to day 14 in normal and subfertile mare. *Theriogenology* 1986;26:611e9.
- ⁴Ball BA, Little TV, Weber JA, Woods GL. Survival of Day-4 embryos from young, normal mares and aged, subfertile mares after transfer to normal recipient mares. *J Reprod Fertil* 1989;85:187e94.
- ⁵Barron JK. The effect of maternal age and parity on the racing performance of Thoroughbred horses. *Equine Vet J* 1995;27:73e5.
- ⁶Campbell, M. L. H. (2014). Embryo transfer in competition horses: Managing mares and expectations. *Equine veterinary education*, 26(6), 322-327.
- ⁷Carnevale, E. M., Beisner, A. E., McCue, P. M., Bass, L. D., & Squires, E. L. (2005). Uterine changes associated with repeated inseminations and embryo collections in mares. In *Proceedings of the 51st Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*, Seattle, Washington, USA, 3-7 December, 2005 (pp. 202-203). American Association of Equine Practitioners (AAEP). Consulté le 25.03.2021
- ⁸Carnevale, E. M., Catandi, G. D., & Fresa, K. (2020). Equine Aging and the Oocyte: A Potential Model for Reproductive Aging in Women. *Journal of equine veterinary science*, 89, 103022.
- ⁹Carnevale EM, Coutinho da Silva MA, Panzani D, Stokes JE, Squires EL. Factors affecting the success of oocyte transfer in a clinical program for subfertile mares. *Theriogenology* 2005;64:519e27.
- ¹⁰Carnevale E, Frank-Guest B, Stokes J. Effect of equine oocyte donor age on success of oocyte transfer and intracytoplasmic sperm injection. *Anim Reprod Sci* 2010;121:S258e9.
- ¹¹Carnevale EM, Ginther OJ. Defective oocytes as a cause of subfertility in old Mares. *Biol Reprod* 1995;52:209e14.
- ¹²Claes, A., Cuervo-Arango, J., Van Den Broek, J., Galli, C., Colleoni, S., Lazzari, G., ... & Stout, T. A. (2019). Factors affecting the likelihood of pregnancy and embryonic loss after transfer of cryopreserved in vitro produced equine embryos. *Equine veterinary journal*, 51(4), 446-450.

- ¹³Claes A, Cuervo-Arango J, Colleoni S, Lazzari G, Galli C, Stout TA. Speed of in vitro embryo development affects the likelihood of foaling and the foal sex ratio. *Reprod Fertil Dev* 2020;32:468e73.
- ¹⁴ChoiYH, LoveCC, VarnerDD, HinrichsK. Equine blastocyst development after intracytoplasmic injection of sperm subjected to two freeze-thaw cycles. *Theriogenology* 2006;65:808e19.
- ¹⁵Cuervo-Arango, J., Claes, A. N., & Stout, T. A. (2019). A retrospective comparison of the efficiency of different assisted reproductive techniques in the horse, emphasizing the impact of maternal age. *Theriogenology*, 132, 36-44.
- ¹⁶Cuervo-Arango, J., Claes, A. N., & Stout, T. A. (2019). Mare and stallion effects on blastocyst production in a commercial equine ovum pick-up–intracytoplasmic sperm injection program. *Reproduction, Fertility and Development*, 31(12), 1894-1903.
- ¹⁷Dijkstra A, Cuervo-Arango J, Stout TA, Claes A. Monozygotic multiple pregnancies after transfer of single in vitro produced equine embryos. *Equine Vet J* 2020;52:258e61.
- ¹⁸Frank, B. L., Doddman, C. D., Stokes, J. E., & Carnevale, E. M. (2019). Association of equine oocyte and cleavage stage embryo morphology with maternal age and pregnancy after intracytoplasmic sperm injection. *Reproduction, Fertility and Development*, 31(12), 1812-1822.
- ¹⁹Galli C, Colleoni S, Duchi R, Lagutina I, Lazzari G. Developmental competence of equine oocytes and embryos obtained by in vitro procedures ranging from in vitro maturation and ICSI to embryo culture, cryopreservation and somatic cell nuclear transfer. *Anim Reprod Sci* 2007;98:39e55.
- ²⁰Galli C, Colleoni S, Duchi R, Lazzari G. Male factors affecting the success of equine in vitro embryo production by ovum pickup-intracytoplasmic sperm injection in a clinical setting. *J Equine Vet Sci* 2016;43:S6e10.
- ²¹Hartman DL. Embryo transfer. In: McKinnon AO, Squires EI, Vaala WE, Varner DD, editors. *Equine Reproduction*. 2nd edn. Vol. 2. Oxford: Blackwell Publishing Ltd; 2011. pp. 2871–2879. Ch 303.
- ²²Hoffmann, C., Ellenberger, C., Mattos, R. C., Aupperle, H., Dhein, S., Stief, B., & Schoon, H. A. (2009). The equine endometrosis: new insights into the pathogenesis. *Animal reproduction science*, 111(2-4), 261-278.
- ²³Iacono, E., Merlo, B., Rizzato, G., Mislei, B., Govoni, N., Tamanini, C., & Mari, G. (2014). Effects of repeated transvaginal ultrasound–guided aspirations performed in anestrus and cyclic mares on P4 and E2 plasma levels and luteal function. *Theriogenology*, 82(2), 225-231.
- ²⁴Jacob, J.C.F., Haag, K.T., Santos, G.O., Oliveira, J.P., Gastal, M.O. and Gastal, E.L. (2012) Effect of embryo age and recipient asynchrony on pregnancy rates in a commercial equine embryo transfer program. *Theriogenology* 77, 1159-1166.)

- ²⁵Jacob JCF, Santos GO, Oliveira JP, Gastal MO, Gastal EL. Evaluation of reproductive parameters in a commercial equine embryo transfer program. *Anim Reprod Sci* 2010;121S:S305e6.
- ²⁶Kilgenstein, H. J., Schöniger, S., Schoon, D., & Schoon, H. A. (2015). Microscopic examination of endometrial biopsies of retired sports mares : An explanation for the clinically observed subfertility ?. *Research in veterinary science*, 99, 171-179.
- ²⁷Lagneaux, D., & Duchamp, G. (1999). Le transfert d'embryons chez les équidés. Consulté le 28/03/2021. [Site de l'IFCE](#)
- ²⁸Mari, G., Barbara, M., Eleonora, I., & Stefano, B. (2005). Fertility in the mare after repeated transvaginal ultrasound-guided aspirations. *Animal reproduction science*, 88(3-4), 299-308.
- ²⁹Marinone AJ, Losinno L, Fumuso E, Rodriguez EM, Redolatti C, Cantatore, Cuervo-Arango J. The effect of mare's age on multiple ovulation rate, embryo recovery, post-transfer pregnancy rate, and interovulatory interval in a commercial embryo transfer program in Argentina. *Anim Reprod Sci* 2015;158:53e9.
- ³⁰Morris, L. H. A. (2018). The development of in vitro embryo production in the horse. *Equine veterinary journal*, 50(6), 712-720.
- ³¹Mortensen, C. J., Choi, Y. H., Hinrichs, K., Ing, N. H., Kraemer, D. C., Vogelsang, S. G., & Vogelsang, M. M. (2009). Embryo recovery from exercised mares. *Animal reproduction science*, 110(3-4), 237-244.
- ³²Newcombe, J. R., Jöchle, W., & Cuervo-Arango, J. (2008). Effect of dose of cloprostenol on the interval to ovulation in the diestrous mare: a retrospective study. *Journal of Equine Veterinary Science*, 28(9), 532-539.
- ³³Pessoa, M. A., Cannizza, A. P., Reghini, M. F. S., & Alvarenga, M. A. (2011). Embryo transfer efficiency of quarter horse athletic mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 31(12), 703-705.
- ³⁴Scoggin CF. Not just a number: effect of age on fertility, pregnancy and offspring vigour in thoroughbred brood-mares. *Reprod Fertil Dev* 2015 ;27 : 872.
- ³⁵Smith, R. L., Vernon, K. L., Kelley, D. E., Gibbons, J. R., & Mortensen, C. J. (2012). Impact of moderate exercise on ovarian blood flow and early embryonic outcomes in mares. *Journal of animal science*, 90(11), 3770-3777.
- ³⁶Stout TAE. Equine embryo transfer: a review of developing potential. *Equine Vet J* 2006;38:467e78.
- ³⁷Stout, T. A. E. (2020). Clinical application of in vitro embryo production in the horse. *Journal of equine veterinary science*, 89, 103011.
- ³⁸Squires, E.L., Garcia, R.H. and Ginther, O.J. (1985) Factors affecting success of equine embryo transfer. *Equine Vet. J.* 17, 92-95

³⁹Tischner, M., & Bielański, A. (1980). Non-surgical embryo collection in the mare and subsequent fertility of donor animals. *Reproduction*, 58(2), 357-361.

⁴⁰Tischner, M., Niezgoda, J., & Tischner, M. (2006, August). Intensity of stress reaction in the mare during transportation at different stages of ovarian activity and pregnancy. In *Animal Reproduction Science* (Vol. 94, No. 1-4, pp. 234-237). PO BOX 211, 1000 AE AMSTERDAM, NETHERLANDS: ELSEVIER SCIENCE BV.

⁴¹Velez IC, Arnold C, Jacobson CC, Norris JD, Choi YH, Edwards JF, Hayden SS, Hinrichs K. Effects of repeated transvaginal aspiration of immature follicles on mare health and ovarian status. *Equine Vet J Suppl* 2012:78e83.