



**HAL**  
open science

# **De la santé reproductive des ruminants à la santé publique, caractérisation de phénotypes pour l'étude des relations entre génotypes et environnement**

Claire Ponsart

## ► **To cite this version:**

Claire Ponsart. De la santé reproductive des ruminants à la santé publique, caractérisation de phénotypes pour l'étude des relations entre génotypes et environnement. Sciences du Vivant [q-bio]. Université de Tours (UT), Tours, FRA, 2016. <tel-04926190>

**HAL Id: tel-04926190**

**<https://hal.science/tel-04926190v1>**

Submitted on 3 Feb 2025

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Copyright - All rights reserved

Année Universitaire : 2015-2016

## **HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES**

### **De la santé reproductive des ruminants à la santé publique, caractérisation de phénotypes pour l'étude des relations entre génotypes et environnement**

Discipline : Sciences de la Vie et de la Santé

présentée et soutenue publiquement

par : Claire PONSART

le 13 juin 2016

-----

#### **JURY :**

**(Par ordre alphabétique)**

**M. Pascal BOIREAU**  
**Mme Corinne COTINOT**  
**Mme Anne DUITTOZ**  
**Mme Bénédicte GRIMARD**  
**M. Pascal MERMILLOD**  
**Mme Claire ROGEL-GAILLARD**

Directeur de Recherche  
Directeur de Recherche  
Professeur des Universités  
Professeur  
Directeur de Recherche  
Directeur de Recherche

ANSES, Maisons-Alfort  
INRA, Jouy-en-Josas  
UNIVERSITE de Tours  
ENVA, Maisons-Alfort  
INRA, Nouzilly  
INRA, Jouy-en-Josas



## Table des matières

Liste des figures.....	5
Liste des tableaux.....	7
1. Curriculum vitae .....	11
1.1- État civil.....	11
1.2- Cursus professionnel, fonctions exercées, mobilité .....	11
1.3- Diplômes et formations.....	13
1.4 Activités d'enseignement et de formation.....	14
1.4.1- Participation à l'enseignement en formation initiale .....	14
1.4.2- Participation à l'enseignement en formation continue .....	15
1.5- Encadrement d'étudiants.....	16
1.6- Publications et valorisation des résultats de la recherche.....	16
1.7- Activités d'expertise scientifique .....	17
1.8- Activités d'encadrement d'équipes de recherche .....	18
2. Synthèse de l'activité scientifique : de nouveaux phénotypes de santé reproductive à relier aux génotypes et à l'environnement chez les Ruminants .....	21
2.1- Orientation générale.....	21
2.2- Synthèse de l'activité scientifique : Approches phénotypiques pour améliorer la santé reproductive de la vache.....	25
2.2.1 Contexte et finalités du travail de recherche.....	25
2.2.2 Approches in silico : typologies de troupeaux.....	27
2.2.3 Phénotypage de la gestation chez la vache.....	27
2.2.4 Phénotypage du cycle oestral .....	37
2.2.5 Apports de la génomique fonctionnelle pour le phénotypage de la santé reproductive ....	49
2.3- Synthèse de l'activité scientifique : Des phénotypes aux génotypes, apports de la sélection génomique pour améliorer la santé reproductive .....	57
2.3.1 Contexte et finalités du travail de recherche.....	57
2.3.2 Identification de marqueurs génétiques de santé reproductive .....	58
2.3.3 Sélection génomique et biotechnologies de la reproduction .....	63
2.3.4 Améliorer l'efficacité des biotechnologies de l'embryon .....	71
2.4- Synthèse de l'activité scientifique : Nouveaux phénotypes de santé reproductive associés à l'émergence de dangers sanitaires chez les Ruminants.....	77
2.4.1 Contexte et finalités du travail de recherche.....	77
2.4.2 Nouveau sérotype du virus de la fièvre catarrhale ovine : sérotype 8 .....	78
2.4.3 Virus Schmallenberg (SBV), nouveau virus tératogène chez les ruminants.....	81

3-Perspectives de recherche : à la croisée des phénotypes de santé et des génotypes bactériens ....	89
3.1 Contexte et finalités du travail de recherche.....	89
3.2 Etude de la circulation et de l'émergence des agents bactériens zoonotiques.....	91
3.3 Approches phylogéographiques et diversité génétique des agents bactériens zoonotiques ....	93
3.4 Etudes des interactions hôtes-pathogènes.....	95
3.5 Perspectives mécanistiques : développement de modèles cellulaires originaux pour l'étude des maladies abortives, au travers de l'exemple de <i>Brucella</i> .....	97
Conclusion .....	101
Références bibliographiques.....	105
Annexe 1 : Activités d'enseignement assurées entre 1995 et 2014 .....	123
Annexe 1.1 : Activités d'enseignement en formation initiale entre 1995 et 2014 .....	123
Annexe 1.2 : Activités d'enseignement en formation continue rémunérée (FCR) assurée entre 1995 et 2014.....	124
Annexe 1.3 : Principales actions de conseil et de formation proposées par le groupe Fertilité femelle de l'UNCEIA entre 2006 et 2011 .....	125
Annexe 2 : Encadrement d'élèves, tutorat, stagiaires entre 1998 et 2012 (hors thèses, mémoires de fin d'études) .....	126
Annexe 3 : Publications d'enseignement et de vulgarisation (formation initiale, formation continue et à caractère professionnel ou technique) .....	129
3.1 Publications à visée de vulgarisation (V) .....	129
3.2 Ouvrages (ou chapitres d'ouvrages) professionnels (OP) .....	133
3.3 Conférences et communications à congrès professionnels (CP) .....	134
3.4 Publications de transfert (T, publications d'enseignement rédigées, photocopiés) .....	139
3.5 Vidéos, audiovisuels ; CD-ROM ; montages Power Point (M).....	140
Annexe 4 : Encadrement de la recherche : master recherche (DAA, DEA), mémoires de fin d'études ; thèses .....	141
4.1 Encadrement de mémoires de fin d'études et thèses vétérinaires .....	141
4.2 Co-encadrement de doctorant(e)s et participation aux comités de thèse d'université.....	147
Annexe 5 : Missions d'enseignement, de recherche et de développement à l'étranger. ....	149
Annexe 6 : Publications scientifiques et valorisation.....	151
6.1 Articles originaux dans des revues à comité de lecture (A) .....	151
6.2 Articles de synthèse dans des revues à comité de lecture (S) .....	155
6.3 Ouvrages (ou chapitres d'ouvrages, C).....	156
6.4 Communications avec actes à des manifestations régionales, nationales, internationales (CO) .....	157
6.5 Conférences invitées : manifestations régionales, nationales, internationales (CI).....	169

6.6 Thèses ou mémoires diplômants (TH, soutenus par le candidat).....	173
6.7 Brevets et logiciels (L).....	173
6.9 Documents à diffusion restreinte (D).....	173
6.9 Organisation de conférences nationales et internationales (O).....	175
6.10 Autres (AU).....	177
Annexe 7 : Participation en tant qu'examineur à des jurys de soutenance de thèse d'université .	179
Annexe 8 : Préparation de l'atelier « Tractus génital » proposé dans le cadre des réunions participatives « Réussir l'IA ensemble » [Annexe 3.4, T-8] .....	181
Annexe 9 : Poster illustrant les repères anatomiques et physiologiques du tractus « REPRO Poster : Autour du tractus génital de la vache » [Annexe 6.10, AU-9].....	183
Annexe 10: Dispositifs d'enquêtes en ferme mis en place par l'UNCEIA et données recueillies (Annexe 6.2, S4).....	185
Annexe 11 : Synthèse des réalisations dédiées à l'enseignement et à la formation et publications scientifiques, entre 1998 et 2016.....	187
Annexe 12 : Liste des programmes de recherche français (FR) et européens (EU) auxquels j'ai participé.....	189
Annexe 13 : Participation à différentes instances nationales entre 2010 et 2014 (Fonctions : Directrice scientifique de l'UNCEIA, Directrice du LNCR).....	191



## Liste des figures

Figure 1 : Principaux axes de recherche développés entre 1998 et 2016 .....	22
Figure 2: Approches développées entre 1998 et 2014 visant à améliorer la santé reproductive des bovins .....	22
Figure 3 : Principaux résultats issus des actions de recherche entre 1998 et 2016 .....	23
Figure 4 : Principales activités d'encadrement de la recherche depuis 1998 (cadre UNCEIA : approches phénotypiques en bleu foncé, interactions phénotypes – génotypes en bleu clair ; cadre LNCR : dangers sanitaires émergents, en vert ; cadre ANSES : zoonoses bactériennes, en orange)....	24
Figure 5 : Notions de fertilité et de fécondité chez la vache (source REPROGUIDE, T7) .....	26
Figure 6 : Approches phénotypiques développées entre 2002 et 2014 visant à améliorer la santé reproductive chez les bovins .....	26
Figure 7 : Mécanismes liant le métabolisme énergétique, les hormones métaboliques, les anomalies de cyclicités et les mortalités embryonnaires (Lucy et al., 2014) .....	33
Figure 8 : Analyses par Western blot de la PAG1 et de la PAG11 dans les zones placentaires intercotylédonnaires (IC, barres noires) and cotylédonnaires (C, barres blanches) entre 60 et 220 jours de gestation. Les histogrammes représentent les quantifications obtenues chez 4 vaches différentes. Après détection des PAG, les membranes ont été testées avec un anti-corps GAPDH pour tester l'homogénéité des prélèvements distribués dans le gel. Les différences de concentration entre les zones C vs IC ont été testées par ANOVA (*P<0,05; **P<0.01; ***P<0.001 ; A18).....	35
Figure 9 : Régulation hormonale du cycle oestral chez la vache (source REPROGUIDE, T7) .....	38
Figure 10 : Evolution de la proportion de vaches ayant repris leur cyclicité après vêlage selon la race et la parité (CO76) .....	39
Figure 11 : Relation entre profil de cyclicité et modalités de détection de la première chaleur après vêlage chez 236 vaches Holstein issues de 10 troupeaux et suivies en 2004-05 (CO64, S8).....	43
Figure 12 : Profils comportementaux moyens obtenus en phase œstrale chez les vaches Blonde d'Aquitaine (n=20, CO98) .....	44
Figure 13 : Principaux tissus / étapes de la gestation ciblés par les projets de génomique fonctionnelle (logos indiquant le financement des projets : ANR, APIS-GENE et Union Européenne).....	51
Figure 14 : Phénotypes de qualité ovocytaire chez 13 femelles de race Montbéliarde. (a) % d'ovocytes de qualité 1 et 2 (blanc), % segmentation à partir des ovocytes inséminés (gris) et % embryons développés à partir des embryons segmentés (noir) pour chaque animal. (b) Classification hiérarchique des femelles selon la compétence de développement (Elevée, Intermédiaire et Faible). La hauteur est proportionnelle à l'inertie intra-cluster. ....	53
Figure 15 : Détection de marqueurs associés à la mortalité embryonnaire tardive (MET) sur le chromosome 3 (n=1572, CO132). ....	59
Figure 16 : Représentation schématique des QTL rapportés pour les caractères de fertilité femelle (d'après Fortes et al., 2013) .....	60
Figure 17: Nombre de génotypages réalisés depuis l'ouverture du service aux éleveurs en 2011 (source VALOGENE ; S16) .....	62
Figure 18: Etapes de la biopsie embryonnaire (A : par coupe ; B : par aspiration ; source C5) .....	64
Figure 19: Effets combinés de la sélection génomique et des biotechnologies de la reproduction (C5) .....	69
Figure 20: Schéma de sélection présenté au Practitioner's forum de l'IETS en 2013, combinant diverses techniques <i>in vitro</i> (CP-61).....	70

Figure 21: Protocole expérimental réalisé chez 16 génisses Holstein sousmises à une sous-alimentation modérée et supplémentées par Propylène glycol (PG, 400 ml / j, voie orale) ou de l'eau (400 ml / j, Témoin), collectées 5 et 9 jours après synchronisation des chaleurs ; A27) .....	73
Figure 22: Taux de blastocystes développés après OPU-FIV chez 16 génisses Holstein sousmises à une sous-alimentation modérée et supplémentées par Propylène glycol (PG, 400 ml / j, voie orale) ou de l'eau (400 ml / j, Contrôle) au cours du traitement de superovulation, selon leur profil d'AMH (Bas (B) avec AMH entre 1-80 pg/ml, n = 7 vs ou Haut (H) avec AMH > 150 pg/ml; n = 9 ; A27) .....	74
Figure 23: Evolution de l'intervalle entre vêlage et 1 <sup>ère</sup> IA entre 2000 et 2009 pour les 3 principales races laitières (CO108) .....	80
Figure 24: Présence de génome viral du virus Schmallenberg chez trois taureaux infectés naturellement et suivis pendant 2 ou 3 mois, autour de la période de séroconversion (A24) .....	83
Figure 25: Axes stratégiques du projet 2015-2018 de l'Unité des Zoonoses Bactériennes (D28) .....	90

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Détail des fonctions professionnelles exercées depuis octobre 1998 .....	12
Tableau 2 : Présentation chronologique des titres acquis et établissements correspondants .....	13
Tableau 3 : Connaissance de langues étrangères .....	13
Tableau 4 : Stages de formation non diplômante .....	14
Tableau 5 : Appartenance et responsabilités dans des sociétés savantes.....	17
Tableau 6 : Phénotypes d'échecs de gestation déterminés à partir de dosages de progestérone dans le lait le jour de l'insémination (J0) et 3 semaines après insémination (J18-J25), l'observation de retours en chaleurs et constats de gestation 45 et 90 jours après insémination (d'après A31) .....	28
Tableau 7 : Fréquence des échecs de gestation à partir de 5 enquêtes en ferme (modifié d'après S4) .....	29
Tableau 8 : Principaux facteurs de variation associés aux phénotypes de non fécondation-mortalité embryonnaire précoce (NF-MEP) et/ou phase lutéale prolongée-mortalité embryonnaire tardive (PLP-MET) à partir de 5 enquêtes réalisées en troupeaux laitiers.....	31
Tableau 9 : Répartition des profils de cyclicité après vêlage en nombre de vaches pour les principales races laitières observés en ferme ou en station (d'après CO58, CO76).....	40
Tableau 10 : Facteurs de variation associés aux anomalies de cyclicité chez la vache Prim Holstein haute productrice (2 modèles multivariés incluant des paramètres de production laitière ou d'état corporel au cours des 2 premiers mois de lactation, CO57, CP33) .....	41
Tableau 11 : Facteurs influençant l'intervalle vêlage – 1ère détection de chaleurs (CO64).....	43
Tableau 12 : Modèles animaux expérimentaux de fertilité contrastée utilisés pour des approches de génomique fonctionnelle (modifié d'après S11).....	50
Tableau 13: Haplotypes et gènes affectant le développement in utero chez les bovins (d'après S19)	61
Tableau 14: Taux moyens de détection des marqueurs (Call Rates, CR) après pré-amplification de biopsies par la technique WGA et génotypage (puce Illumina) selon le nombre de cellules (S15).....	65
Tableau 15 : Taux de gestation après transfert d'embryons bovins biopsés et congelés, en ferme ou en station (EG = éthylène glycol ; SVF = Sérum de veau fœtal ; TD = transfert direct ; AI = aiguille ; AS = aspiration ; MC = microcouteau ; P = pipette de maintien ; Q=qualité ; d'après S15).....	66
Tableau 16 : Biotechnologies de la reproduction et impacts positif (+) ou négatif (-) sur les composantes du progrès génétique (S16) .....	69
Tableau 17 : Définition du statut FCO déterminé chez 149 brebis Texel (7 troupeaux, Ardennes) en automne 2007, en combinant les résultats sérologiques et la détection d'ARN viral (CO89, CO96)...	78
Tableau 18 : Intervalles entre évènements en 2008 et variation par rapport à 2006 (CO108).....	79
Tableau 19 : Résultats de gestation chez 3 groupes de chèvres gestantes, infectées expérimentalement avec le virus Schmallenberg 28 (G28) et 42 (G42) jours après insémination ou ayant reçu une injection saline aux mêmes périodes (Témoin, A28) .....	86
Tableau 20 : Troubles de la reproduction et effets tératogènes associés à l'infection avec le virus Schmallenberg chez les Ruminants (S18).....	87
Tableau 21 : Modèles d'études <i>in vitro</i> des interactions hôtes – <i>Brucella</i> utilisant des lignées épithéliales .....	99



# Curriculum Vitae



# 1. Curriculum vitae

## 1.1- État civil

PONSART épouse POSIERE, Claire Marie Monique

Née le 22 avril 1970

Mariée, trois enfants nés en 2000, 2002 et 2004

Coordonnées professionnelles : ANSES – Laboratoire de Santé Animale

Unité des zoonoses bactériennes

14 rue Pierre et Marie Curie

94701 Maisons-Alfort cedex

Tél 01 49 77 13 23

Adresse de messagerie : claire.ponsart@anses.fr

## 1.2- Coursus professionnel, fonctions exercées, mobilité

- **Depuis juin 2014** : Chef de l'unité des zoonoses bactériennes du Laboratoire de Santé Animale de l'ANSES, encadrement d'une unité de 30 personnes impliquées dans des activités de référence et de recherche pour plusieurs bactéries zoonotiques (*Bacillus anthracis*, *Brucella*, *Burkholderia mallei*, *Chlamydia*, *Francisella tularensis* et Mycobactéries). Responsable des activités de référence pour la Brucellose (Laboratoire de référence européen, Laboratoire National de Référence et Centre National de Référence ; voir détail des fonctions exercées dans le Tableau 1).
- **2008 – avril 2014** : Double mi-temps partagé entre le LNCR (Laboratoire National de Contrôle des Reproducteurs) et l'UNCEIA (Union Nationale des Coopératives d'Élevage et d'insémination Animale)
- **1998-2008** : Salariée au département Recherche et Développement de l'UNCEIA, avec les fonctions suivantes (voir détail des fonctions exercées dans le Tableau 1)
  - ✓ **2002-2008** : Coordinatrice des actions de développement "Fertilité Femelle" dans l'espèce bovine
  - ✓ **1998-2002** : Responsable du service Transfert embryonnaire – Sexage dans l'espèce bovine.
  - ✓ **1995-1998** : Activités de recherche et d'enseignement au Laboratoire d'Epidémiologie et de Gestion de la Santé Animale (L.E.G.S.A.) de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (E.N.V.A.), dans le cadre d'une thèse de 3<sup>ème</sup> cycle, « *Effets d'une restriction alimentaire après vêlage chez la vache allaitante sur la fertilité à l'œstrus induit, la sécrétion de LH et l'activité ovarienne. Liens avec le métabolisme énergétique et intérêt d'une supplémentation énergétique avant la mise à la reproduction.* ».
  - ✓ Soutenance : 11 février 2000, Ecole doctorale Biologie et Santé, Nancy I
  - ✓ Collaboration entre l'E.N.V.A., l'Union Nationale des Coopératives d'élevages et d'Insémination Animale (UNCEIA) et l'Institut National agronomique (INA-PG)
- **Septembre 1994 à septembre 1995** : Projet de recherche de DEA au Laboratoire d'Epidémiologie et de Gestion de la Santé Animale de l'ENVA. Participation à une enquête épidémiologique sur les « *facteurs de variation du traitement de maîtrise des cycles sur la fertilité à l'œstrus induit chez la vache charolaise* » sous la direction du Pr J.P. Mialot en collaboration avec l'U.N.C.E.I.A. Collaboration au recueil de données en Saône et Loire, en contact avec les éleveurs, la coopérative d'insémination et la Chambre d'agriculture.
- **1993-1995 : Exercice de la médecine vétérinaire en clientèle** : remplacements (2 périodes d'1 mois à plein temps) et gardes de nuit régulières en clientèle

Tableau 1 : Détail des fonctions professionnelles exercées depuis octobre 1998

DEBUT – FIN	SITE	ENTREPRISE	FONCTION	DESCRIPTION DU POSTE
Depuis juin 2014	Maisons-Alfort, France	ANSES	Chef d'unité	<ul style="list-style-type: none"> <li>Gestion d'une unité de recherche d'environ 30 personnes (10 scientifiques, 11 techniciens, 4 adjoints techniques, 3 doctorants) dédiée à l'étude des zoonoses bactériennes</li> <li>Responsable des installations confinées de niveau 3 de l'unité,</li> <li>Responsable des mandats de référence pour les brucelloses (Laboratoire de référence FAO, OIE, UE ; Laboratoire National de référence ; Centre National de Référence)</li> </ul>
1 août 2012 au 30 avril 2014	Maisons-Alfort, France	Laboratoire National de Contrôle des Reproducteurs (LNCR)	Directrice	<ul style="list-style-type: none"> <li>Gestion administrative, financière, technique, scientifique d'un laboratoire d'analyses vétérinaires de 25 personnes (1 cadre, 13 techniciens, 11 administratifs) spécialisé dans le diagnostic des agents pathogènes du tractus génital des espèces bovine, caprine, ovine et porcine. Animation des instances de gouvernance : conseil d'administration, comité d'orientation scientifique et technique</li> <li>Contrôles sanitaires et gestion du risque sanitaire chez les animaux de haute valeur génétique (reproducteurs utilisés pour l'insémination animale, donneuses d'embryons) ; définition des conditions sanitaires à l'export, en lien avec le Ministère de l'Agriculture et les entreprises de sélection.</li> <li>Compétences dans les domaines de l'andrologie, bactériologie, biologie moléculaire, hormonologie, séro-immunologie, virologie,</li> </ul>
2008 à 2012	Maisons-Alfort, France		Attachée de direction	<ul style="list-style-type: none"> <li>Expertise pour différents organismes publiques (Ministère de l'Agriculture, ACERSA, ENV....) et défense des intérêts de la filière à l'international (négociation des certificats d'exportation, préparation de délégations officielles, congrès scientifiques)</li> <li>Conception et suivi de projets de recherches dans le domaine de l'insémination et de l'émergence de maladies (pathogénèse, développement d'outils de diagnostic ; Blue Tongue, Campylobacter, Tuberculose, virus de Schmallenberg)</li> </ul>
03/2010 au 4/2014	Maisons, Alfort, France	Union Nationale des Coopératives d'Élevage et d'insémination Animale (UNCEIA)	Directrice scientifique	<ul style="list-style-type: none"> <li>Partenariats et conception de projets de recherche dans le domaine des biotechnologies de la reproduction et la fertilité: production de semence, transfert embryonnaire, liens avec la sélection génomique. Encadrement d'une équipe de 15 personnes (chercheurs, techniciens et étudiants en thèse)</li> </ul>
2002-2010	Maisons, Alfort, France		Responsable des projets „Fertilité femelle“	<ul style="list-style-type: none"> <li>Conception et développement d'outils de formation et de conseil dédiés aux inséminateurs et aux éleveurs : référentiel sur l'insémination et la fertilité (REPROGUIDE), méthode d'audit des problèmes d'infertilité pour les troupeaux laitiers et allaitants (REPROACTION, REPRO PILOTE), formation participative pour les éleveurs sur la conduite de la reproduction</li> <li>Conception, suivi, valorisation d'enquêtes en élevage et d'expérimentations en station pour améliorer la fertilité et l'efficacité des biotechnologies de l'embryon</li> <li>Coordination de groupes de travail dans le cadre du projet "La Fertilité d'abord", regroupant des techniciens et des ingénieurs (14-15 réunions par an, de 2002 à 2008)</li> </ul>
1998-2002	Maisons, Alfort, France		Responsable du service TE	<ul style="list-style-type: none"> <li>Conception et réalisation de protocoles de recherche appliquée, visant à améliorer l'efficacité du transfert embryonnaire (TE). Coordination d'un réseau de 30 techniciens et vétérinaires responsables d'équipes TE (2 réunions annuelles, de 1998 à 2010).</li> </ul>

### 1.3- Diplômes et formations

Vétérinaire de formation initiale, j'ai complété mon cursus par différentes formations universitaires présentées dans le Tableau 2. Lors de ma 3ème année d'études à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort, j'ai bénéficié d'une année d'échange avec la Freie Universität de Berlin (Erasmus), ce qui m'a permis d'apprendre une 2nde langue étrangère (Tableau 3). Par ailleurs, j'ai régulièrement participé à des sessions de formation continue (Tableau 4).

J'ai reçu les distinctions suivantes pour ma thèse de Doctorat Vétérinaire :

-Prix de thèse PFIZER 1997

-Lauréate de la faculté de Médecine de Créteil et de l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort (année 1995-1996)

**Tableau 2 : Présentation chronologique des titres acquis et établissements correspondants**

INSTITUTION [ DATE DEBUT – FIN ]	TITRE OU DIPLOME OBTENU (JURY)
Institut Pasteur de Paris – Université de Paris VII [16/2/2009 – 9/4/2009]	Diplôme Universitaire en Bactériologie (mention très bien)
Institut Pasteur de Paris – Université de Paris VII [7/4/2008 – 25/6/2008]	Diplôme Universitaire en Virologie systématique (mention bien)
Université de Nancy I [1995-2000]	Docteur en Epidémiologie et Gestion de la Santé publique (mention très honorable avec félicitations, soutenance le 11 février 2000, Jury : Président : Professeur Briançon (président), Rapporteurs : Dr Monniaux, Professeur Seegers Examineurs : Professeur Beckers, Professeur Bocquier, Professeur Mialot)
Université de Franche-Comté [1994-1995]	Diplôme d'Etudes Approfondies en Epidémiologie et Gestion de la Santé publique
UFR du Kremlin Bicêtre, Paris XI [1993-1994]	Certificat de statistique, informatique et modélisation ; Certificat en recherche clinique et épidémiologie, Maîtrise en Sciences biologiques et médicales
Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort [1990-1994]	Docteur vétérinaire (Soutenance le 11 avril 1996, Jury : Président : Monsieur Meignan, Membres : Professeur Mialot, Professeur Benet Invités : Mme Grimard-Ballif, M Sanaa)

**Tableau 3 : Connaissance de langues étrangères**

(échelle de 1 à 5 ; 1= excellent à 5=connaissances de base).

LANGUE	LECTURE	CONVERSATION	REDACTION
Anglais	1	1	2
Allemand	1	2	2

**Tableau 4 : Stages de formation non diplômante**

INSTITUT DE FORMATION [ ANNEE, DUREE ]	INTITULE DE LA FORMATION
Institut Pasteur, Lille [8-10 décembre 2014]	Les laboratoires de sécurité biologique NSB3-NSB4 – Théorie et Pratique
AFNOR [juin 2014, 2 j]	C1219 ISO/CEI 17020, lecture pas à pas de la norme, version 2012 : maîtrisez les exigences d'accréditation
COFISEC [2010, 1 j]	Equipier de première intervention
IFG-CNOF [2009, 2 j]	Simulation de gestion : du diagnostic financier à la prise de décision
IFG-CNOF [2009, 3 j]	L'essentiel du contrôle de gestion pour manager
IFG-CNOF [2009, 1 j]	Lire et interpréter les documents financiers
ACTA [2007, 3 j]	Réalisation de MACROS sur EXCEL ; langage VBA
ANFEIA – Impulsion, Eric Cousin [2005, 2j]	Gestion du temps et organisation personnelle
IFCA – IE [2004, 5 j]	Pratique de l'analyse de données multidimensionnelles (C. Lopez)
IDELE [2002, 2 j]	Construire et gérer un projet
ACTA [2001, 2 j]	Traitement statistique des données mixtes avec SAS®
ACTA [2000, 2 j]	Analyse des données catégorielles à l'aide du logiciel SAS®
ACTA [1999, 3 j]	Initiation à ACCESS
ACTA [1999, ½ j]	Traitement des données catégorielles (C. Lopez)
ACTA [1999, ½ j]	Les techniques de rééchantillonnage : le bootstrap et le jackknife (C. Lopez)
ACTA [1999, ½ j]	Le modèle mixte non linéaire (T. Brun)
EMBRAPA – UFRGS, Brésil [1998, 3 semaines]	Formation pratique au transfert embryonnaire, sous l'autorité du Dr Mauricio PEIXER (EMBRAPA) et du Prof. JL RODRIGUES (Professeur à l'Université vétérinaire de Porto Alegre)

## 1.4 Activités d'enseignement et de formation

### 1.4.1- Participation à l'enseignement en formation initiale

Entre 1995 et 2014, j'ai participé régulièrement à l'enseignement en formation initiale, avec la réalisation de quelques heures par an (cf annexe 1.1) dans différentes écoles d'ingénieurs en agriculture (ENITA Bordeaux, ESITPA, ESA d'Angers, ISA Beauvais) et les écoles vétérinaires (module Biotechnologies pour des élèves T1 pros de l'Ecole vétérinaire d'Alfort, organisé par S. Chastant Maillard et de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, organisé par H Seegers) sur les thèmes suivants : synchronisation des chaleurs, gestation chez les bovins, management de la fertilité dans les races laitières (pratiques d'élevage et sélection génomique), transplantation embryonnaire et congélation des embryons.

En début de carrière, j'ai participé à plusieurs modules d'enseignement en épidémiologie et en statistiques, pour des élèves ingénieurs et vétérinaires en début de cursus.

- 97-98 : Responsable de l'enseignement en Epidémiologie à l'E.S.I.T.P.A. (Val de Reuil). Cours portant sur la transmission des maladies infectieuses et les méthodes d'enquêtes utilisées en épidémiologie vétérinaire.
- 95-98 : Vacances d'enseignement (travaux dirigés) à l'E.N.V.A. en informatique (présentation d'EXCEL, INTERNET) et en statistiques (distribution d'une variable aléatoire, analyse univariée, bivariée, ANOVA).

Ces activités représentant au total 274 heures d'équivalent TD m'ont permis de conserver un lien avec les étudiants de l'enseignement supérieur pendant ces 15 années de carrière. Ces cours ont été en général présentés à des élèves de niveau licence ou master, intéressés par les productions animales, qui découvrent les thématiques et les enjeux des filières professionnelles plus en détail. Souvent, ils m'ont posé des questions qui m'ont conduit à améliorer les explications données et les supports de cours, en particulier les diaporamas. Ces échanges avec les étudiants m'ont également donné l'opportunité de les intéresser aux thématiques de la reproduction bovine et de proposer des sujets de stage à l'issue des cours réalisés.

#### 1.4.2- Participation à l'enseignement en formation continue

Dans le cadre de mes fonctions professionnelles, j'ai été amenée à organiser et animer différentes sessions de formation continue rémunérée, à l'attention de publics variés, vétérinaires salariés, vétérinaires inspecteurs de la santé publique, ingénieurs de coopératives d'IA, techniciens ou éleveurs (Annexe 1.2). Ma contribution a été soit de concevoir le déroulé de formation, soit de réaliser la formation en tant qu'intervenant. Dans le cadre du programme « La fertilité d'abord » mené dès 2002 par l'UNCEIA, j'ai contribué à l'élaboration de nombreuses actions de sensibilisation, de conseil et de formation en collaboration avec l'Institut de l'Élevage et le groupe Fertilité Femelle de l'UNCEIA, dont j'assurais l'animation (Annexe 1.3).

Ces expériences de formation continue représentent environ 50 jours de formation entre 1999 et 2012 et m'ont permis de mettre en œuvre différentes démarches pédagogiques qui pourront être valorisées dans le cadre d'une carrière d'enseignante. Ceci est illustré en annexe 1.3, décrivant les principaux outils pédagogiques originaux, conçus à partir de 2002 et transférés entre 2006 et 2011. Pour ces activités, mon rôle a été de piloter l'animation des groupes de travail (3 groupes issus du groupe Fertilité femelle de l'UNCEIA : Enquête et études ; Actions de conseil ; Formation / Communication), de coordonner la conception collective des projets et de participer à la réalisation des outils (conception de documents, réalisation de formations « pilotes », évaluation des outils). De nombreux outils, comme REPRO Action, REPRO Pilote et DETOESTRUS ont été dédiés à l'investigation des problèmes de reproduction dans les troupeaux (Annexe 3.4). Ainsi, j'ai participé à l'ensemble des étapes suivantes :

- bilan des outils existants,
- définition des besoins et des attentes, via des enquêtes (techniciens, éleveurs)
- conception collective d'outils (dans le cadre de groupe « Fertilité femelle », constitué de sous-groupes de travail regroupant des techniciens, d'ingénieurs et de vétérinaires)
- réalisation de formations « pilotes » permettant de tester les nouveaux outils,
- élaboration et réalisation de formation de formateurs,
- évaluation des outils (enquêtes auprès des utilisateurs, définition d'indicateurs).

Un effort particulier a été mené pour identifier les freins et les leviers conduisant à l'adoption de pratiques en élevage (Annexe 6.2, **S4**). En effet, pour résoudre les problèmes liés à la conduite du troupeau, une priorité est d'amener l'éleveur à appliquer des pratiques visant à optimiser la conduite de la reproduction. Proposer alors une large palette d'outils est indispensable, afin de toucher les différents profils d'éleveurs et de les sensibiliser progressivement. Les actions dédiées à l'amélioration de la fertilité ont donc varié du conseil individuel aux actions de communication de masse, en passant par la sollicitation préférentielle des réseaux de pairs ou techniciens. Le succès de ces projets est attesté par la large diffusion des outils développés : documents vendus (15 000 posters, 7000 exemplaires du REPRO Guide), nombreuses présentations et formations réalisées entre 2004 et 2008 (annexe 1.2). Cette prise en compte des attentes des éleveurs de bovins en matière de conseil et d'information représente un

atout majeur pour les activités d'enseignement, où différents profils d'étudiants se retrouvent : proposer différents supports pédagogiques est un moyen d'accompagner la diversité dans l'apprentissage et de susciter l'intérêt des étudiants via des démarches innovantes.

Outre les activités de formation continue, j'ai eu la possibilité de partir comme intervenant principal, pour une semaine de formation à l'étranger en 2008. Cette formation organisée en France par l'ANFEIA et en Tunisie par l'Office de l'Elevage et des Pâturages (OEP), avait pour objectif de présenter à un groupe de 20 ingénieurs zootechniciens les différents outils de formation conçus par le groupe Fertilité femelle de l'UNCEIA, et en particulier de former ce groupe à l' « Utilisation du manuel REPROGUIDE », référentiel sur la reproduction (annexe 5). Cette expérience m'a permis de présenter ces outils dans un contexte d'élevage différent : statut sanitaire peu maîtrisé dans les troupeaux (absence de systèmes d'identification et de procédures d'introduction d'animaux), déficit de fourrages pour l'alimentation des vaches laitières et contexte de sécheresse et canicule à certaines périodes de l'année. Au cours de cette mission, j'ai été amenée à adapter certains diaporamas préparés pour les troupeaux laitiers et allaitants européens, à insister sur la gestion sanitaire du troupeau et le suivi de l'état corporel.

### 1.5- Encadrement d'étudiants

Au cours de mes différentes missions à l'UNCEIA, j'ai accueilli chaque année des stagiaires de différents horizons : des étudiants en BTS Productions Animales, des étudiants issus des écoles d'agriculture en mémoire de fin d'étude ou des étudiants vétérinaires (Annexe 2). Dès 1999, j'ai participé à l'encadrement du DESS de Nada Boubekeur avec laquelle nous avons publié un poster dans une conférence internationale en 1999 (Annexe 6.4, **CO16**). Les projets menés sur le transfert embryonnaire (TE) et la fertilité femelle, (en particulier, les enquêtes épidémiologiques comme NEC+REPRO, FERTILIA ; annexe 10) m'ont amené à accueillir des stagiaires en thèse vétérinaire et en mémoires de fin d'études, avec lesquels de nombreuses communications ont été publiées lors de conférences scientifiques (Annexe 6.4). Au total, j'ai encadré 15 étudiants en thèse vétérinaire et de 19 étudiants en mémoire de fin d'études depuis 1998 (Annexe 4.1) et j'ai participé au suivi de 8 thèses d'université (Annexe 4.2).

### 1.6- Publications et valorisation des résultats de la recherche

Le bilan de mes réalisations est présenté en Annexe 11. Au total, j'ai participé à la rédaction de 31 publications scientifiques internationales, dont 4 comme premier auteur, 5 comme 2<sup>ème</sup> auteur et 2 comme dernier auteur (Annexe 6.1). J'ai contribué à la rédaction de 19 articles de synthèse (dont 7 comme premier auteur et 6 comme dernier auteur ; Annexe 6.2) et 5 chapitres d'ouvrage (Annexe 6.3). De plus, j'ai été associée à plus de 160 communications et posters dans des conférences scientifiques (Annexe 6.4). J'ai été invitée à de nombreuses conférences internationales, ce qui m'a permis d'acquérir une large expérience internationale à l'oral, avec des présentations en allemand et en anglais (Annexe 6.5). J'ai participé à ces réunions internationales, soit comme conférencier, soit comme organisateur ou intervenant lors de tables rondes, soit comme organisateur de la conférence (Annexe 6.9).

Les documents pédagogiques et les publications de vulgarisation associées sont présentés en Annexe 3. Comme mentionné dans les paragraphes précédents, j'ai rédigé de nombreux documents pédagogiques, sous de nombreuses formes : articles pour la presse professionnelle, guide de bonnes pratiques, référentiel, diaporamas, posters. J'ai participé à l'élaboration de supports informatiques, accompagnant les méthodes d'audit de troupeaux (Annexes 3.5, 6.7 et 6.10). J'ai initié la rédaction de tests de 10 questions à choix multiples, publiés à la fin du Bulletin Technique de l'Insémination Artificielle (BTIA) en 2006 : cette rubrique a été maintenue et élargie à d'autres thématiques (génétique, biotechnologies, petits ruminants...).

## 1.7- Activités d'expertise scientifique

Depuis les années 2002, j'ai participé à de plusieurs instances scientifiques au niveau national : il peut s'agir de groupes d'échanges, comme par exemple le groupe COWPLANER, projet transversal du département PHASE de l'INRA sur la modélisation des interrelations nutrition/lactation/reproduction chez la vache.

J'ai fait partie de plusieurs Conseils Scientifiques : Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (titulaire), INRA Val de Loire (titulaire), projet infrastructure CRB Anim (suppléante). Depuis les années 2010, j'ai siégé dans plusieurs instances ayant des missions soit techniques, dans le cadre de la normalisation (commissions AFNOR) ou de la qualification des troupeaux (Comité de suivi et d'évaluation de l'ACERSA) soit politiques, comme le comité de pilotage du Réseau Français de Santé Animale ou le Comité National d'Orientation de la Politique en Santé Animale (CNOPSAV ; Annexe 13).

Au niveau international, j'ai également participé à plusieurs instances au cours des dix dernières années :

- Membre de plusieurs sociétés savantes, voire participation au conseil d'administration (Tableau 5)
- Membre du HASAC - IETS (Health and Scientific Advisory Committee ; Association internationale de transfert embryonnaire) depuis janvier 2009 ; Vice-Chair du HASAC depuis janvier 2013 ; Présidente du HASAC entre janvier 2014 et janvier 2016,
- Membre du REPVET (groupe du COPA COGECA) entre septembre 2011 et avril 2014,
- Trésorière (2002-2010) puis Présidente (2010-2012) de l'AETE.

**Tableau 5 : Appartenance et responsabilités dans des sociétés savantes**

ACRONYME (PERIODE)	INTITULE DE LA SOCIETE (WEBSITE)
AETE (1998-2014)	Association européenne de Transfert Embryonnaire ( <a href="http://www.aete.eu">www.aete.eu</a> ; membre du CA entre 2002 et 2012 ; organisation du congrès à Pau en 2008 et Saint Malo en 2012)
AERA (1998-2005)	Association pour l'étude de la Reproduction Animale (membre du CA entre 2000 et 2005)
AI vets - ESDAR (1998-2014)	European Society for Domestic Animal Reproduction ( <a href="http://www.esdar.org">www.esdar.org</a> ; participation régulière)
EAAP (2013)	European Federation for Animal Science (membre du comité scientifique pour le volet Animal Physiology, 6 <sup>ème</sup> congrès, Nantes, 2013)
EAVLD (depuis 2014)	European Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians (membre du conseil d'administration)
IETS (1998-2016)	International Embryo Transfer Society ( <a href="http://www.iets.org">www.iets.org</a> ; présidente du comité HASAC ; membre du LOC pour l'organisation du congrès en 2015)

Depuis ma prise de fonction au laboratoire de santé animale de l'ANSES, j'ai mené plusieurs activités d'expertise individuelle et collective :

- Expertise collective pour la Cours des Comptes Européenne sur les programmes de contrôle et d'éradications de la brucellose et la tuberculose bovine (17 avril 2015)
- Expert à la Commission U47 A « Méthodes d'Analyse en Santé Animale » de l'AFNOR (révision des normes Brucellose)
- Expert au CES Santé Animale et Bien Etre animal depuis septembre 2015,

- Collectif, 2014 : Appui scientifique et technique de l'Anses, Demande n° 2014-SA-0241, NOTE d'appui scientifique et technique de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif au « dépistage des bouquetins infectés de brucellose sur le terrain ».
- Collectif, 2015 (en cours) : Appui scientifique et technique de l'Anses, Demande n° 2015-SA-082, Saisine sur la surveillance de la brucellose chez les petits ruminants.
- Evalueur HCERES d'une unité de recherche (14 janvier 2016).

Enfin, j'ai participé à 15 jurys au cours de ma carrière : 12 jurys de soutenance de thèse d'université en tant qu'examinateur (Annexe 7), un jury de recrutement pour un concours INRA et une participation annuelle à la commission d'évaluation des ingénieurs de recherche INRA (commission MPR2) :

- Juin 2007 : Participation à un jury de concours INRA (7 jours, dont 31 h et 15 copies corrigées)
- Depuis mai 2013 : Participation annuelle à la commission d'évaluation des ingénieurs de recherche de l'INRA (MPR 2, Président Noël TORDO) ; Nommée vice-présidente de la commission en 2015.

## 1.8- Activités d'encadrement d'équipes de recherche

Depuis 2010, j'assure des fonctions d'encadrement (Directrice scientifique de l'UNCEIA, Directrice de l'ACSEDIATE, chef d'unité à l'ANSES ; Tableau 1). Ces fonctions m'ont amenée à encadrer des équipes de 25-30 personnes, à participer aux instances dirigeantes de ces entreprises, à plusieurs instances scientifiques (groupes d'experts, conseils scientifiques), techniques (normalisation, qualification des troupeaux) et politiques (défense des intérêts de la filière ; Annexe 13). J'ai effectué de nombreuses missions de représentation à l'international, par exemple comme membre du bureau de l'AETE (Association Européenne de Transfert Embryonnaire).

En conclusion, mes activités se sont inscrites dans les étapes successives de la chaîne de production et diffusion des connaissances : acquisition de références, mise au point d'applications utilisables en routine, diffusion des connaissances, transfert aux acteurs de terrain et missions d'expertise.

## Synthèse de l'activité scientifique



## 2. Synthèse de l'activité scientifique : de nouveaux phénotypes de santé reproductive à relier aux génotypes et à l'environnement chez les Ruminants

### 2.1- Orientation générale

Diplômée de l'Ecole Vétérinaire d'Alfort en 1994, j'ai rapidement orienté mon parcours professionnel vers la recherche et le développement (R et D) sur les performances de reproduction chez la vache. Le travail de DEA puis de thèse en épidémiologie a été consacré à la reprise de cyclicité après vêlage, ainsi qu'à la fertilité à l'oestrus induit chez les bovins allaitants. Pendant ma thèse, j'ai conçu et réalisé des protocoles expérimentaux en station associant des profils hormonaux, des échographies et des suivis métaboliques ; j'ai également analysé des enquêtes épidémiologiques avec différents modèles statistiques (Annexe 6.1 ; **A1, A2, A6, A7**). Il m'a été possible de prendre des contacts avec l'industrie pharmaceutique et la filière insémination, qui ont été à l'origine de mon recrutement en 1998 au département R et D de l'Union Nationale des Coopératives d'Élevage et d'Insémination Animale (UNCEIA). A partir de 2008, il m'a été proposé de rejoindre à mi-temps le laboratoire dédié au contrôle sanitaire des animaux reproducteurs (LNCR).

Le présent document résume mon activité de recherche depuis ma prise de fonction à l'UNCEIA en octobre 1998 jusqu'au début de l'année 2016 (Figure 1). Mon parcours couvre plusieurs composantes de la santé des ruminants domestiques, depuis la santé reproductive jusqu'à l'impact en santé publique de dangers sanitaires bactériens zoonotiques : la première partie regroupe les travaux menés avec l'UNCEIA, avec l'objectif principal d'améliorer la santé reproductive des bovins (Figure 2).

Avec les entreprises de sélection, plusieurs projets ont visé à caractériser des phénotypes en lien avec la fonction de reproduction. Cet axe m'a permis d'aborder des stratégies de phénotypage horizontal appliquées à des populations ou sous-populations de vaches, mais également des approches de phénotypage vertical permettant de décrire finement une ou plusieurs étapes conduisant à l'établissement et au maintien d'une gestation (cf paragraphe 2.2). Le second volet des travaux a permis l'étude des relations entre ces phénotypes et des génotypes caractérisés pour un ou plusieurs composantes de la reproduction, ainsi que les interactions avec des environnements particuliers (pratiques d'alimentation, conduite de la reproduction ; cf paragraphe 2.3). Cet axe a été conforté par le développement spectaculaire de la sélection génomique au cours de la dernière décennie, qui a été accompagné d'une modification profonde des schémas de sélection chez les bovins et qui favorise l'évaluation simultanée d'un grand nombre de caractères (Boichard et Brochard, 2012). En lien avec la révolution génomique, un axe constant de mes projets de recherche a été dédié à l'utilisation combinée des biotechnologies de l'embryon, avec l'objectif de potentialiser le progrès génétique permis par les schémas de sélection (Figure 2). Ces différents travaux m'ont conduit à mettre en œuvre des approches complémentaires, pour atteindre ces différents objectifs scientifiques : analyses *in silico* de bases de données, enquêtes épidémiologiques en élevage, approches expérimentales *in vivo* en station et développement de techniques de laboratoire (approches *in vitro*).

Au cours de ma deuxième expérience professionnelle au LNCR, j'ai pu aborder d'autres modèles animaux, en travaillant à la fois chez des mâles reproducteurs (bovins) et des femelles (ovins, caprins), notamment avec les travaux de caractérisation des deux nouveaux dangers sanitaires ayant émergé en France depuis 2006 chez les ruminants domestiques (virus de la Fièvre Catarrhale Ovine et Schmallenberg) et impactant la fonction de reproduction (Figure 1).

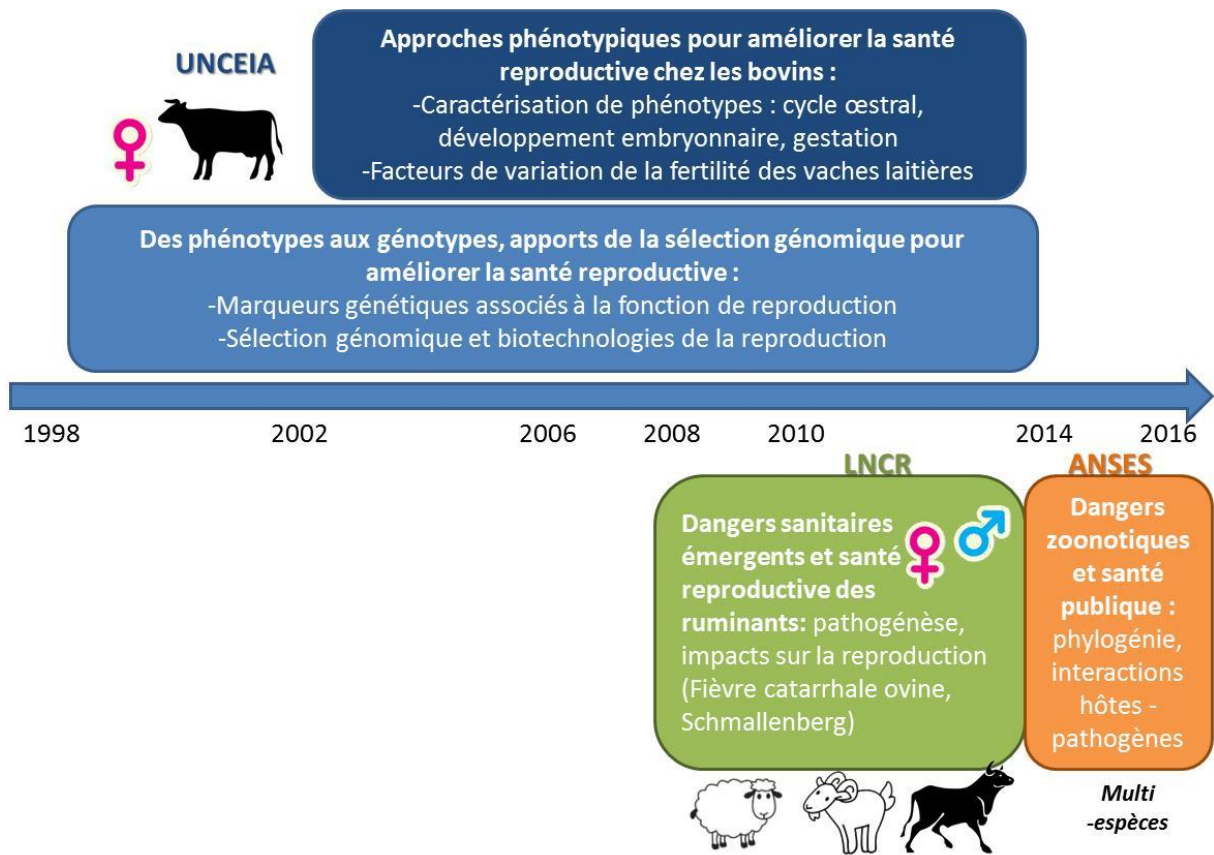


Figure 1 : Principaux axes de recherche développés entre 1998 et 2016

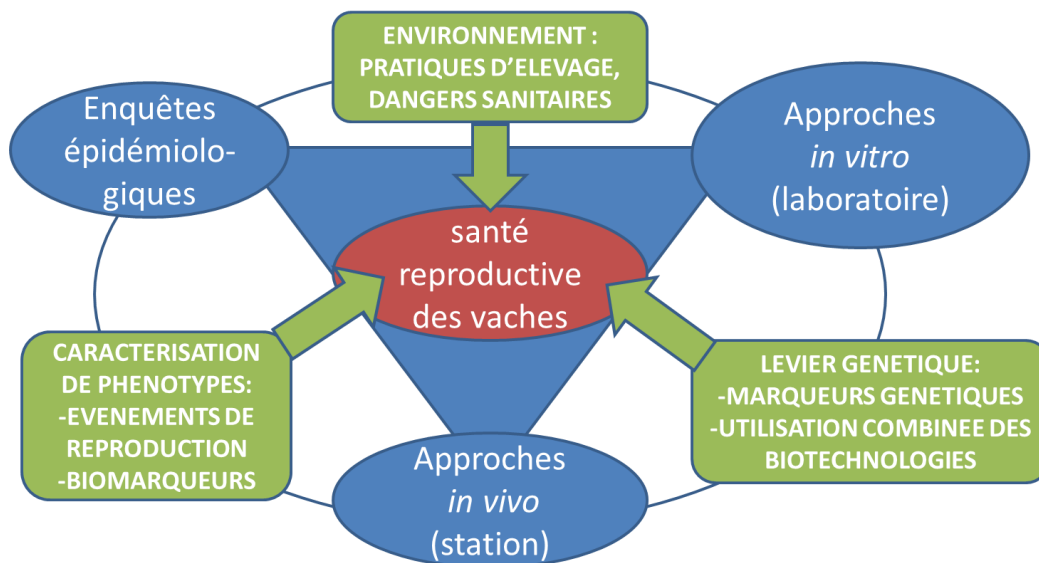


Figure 2: Approches développées entre 1998 et 2014 visant à améliorer la santé reproductive des bovins

La troisième partie présente mes perspectives en recherche, qui portent sur l'investigation de dangers sanitaires bactériens impactant la santé publique, et notamment des dangers classés en catégorie 1 (brucellose excepté *B. ovis* et *B. suis* bv 2, fièvre charbonneuse, tuberculose) et catégorie 2 (brucellose porcine, chlamydie aviaire, morve et tularémie ; Arrêté du 29 juillet 2013). Ce nouvel axe de recherche devrait me permettre de renforcer mes compétences pour le développement d'outils de diagnostic et de typage de genres bactériens et d'élargir de nouveau les modèles expérimentaux, puisque les bactéries zoonotiques étudiées au laboratoire de Santé Animale de l'ANSES touchent de nombreuses espèces sensibles, domestiques ou issues de la faune sauvage.

Comme principaux résultats, j'ai contribué à la caractérisation de nouveaux phénotypes de reproduction, à la détection de marqueurs génétiques en relation avec cette fonction et au développement de protocoles pour améliorer les performances des biotechnologies de l'embryon. Le génotypage de l'embryon est sans doute l'innovation la plus marquante de ce parcours (Figure 3). Les projets issus de l'émergence de nouveaux dangers sanitaires (Fièvre catarrhale ovine et Schmallenberg) m'ont permis de décrire de nouveaux phénotypes associés à la santé reproductive chez les bovins et les petits ruminants. En outre, je me suis attachée à valoriser les résultats auprès des filières professionnelles via i) des actions de formation et de conseil, des outils pédagogiques, ii) des applications utilisées pour optimiser le progrès génétique comme le génotypage de l'embryon ou iii) des protocoles sanitaires proposés pour les échanges internationaux de gamètes (Figure 3).

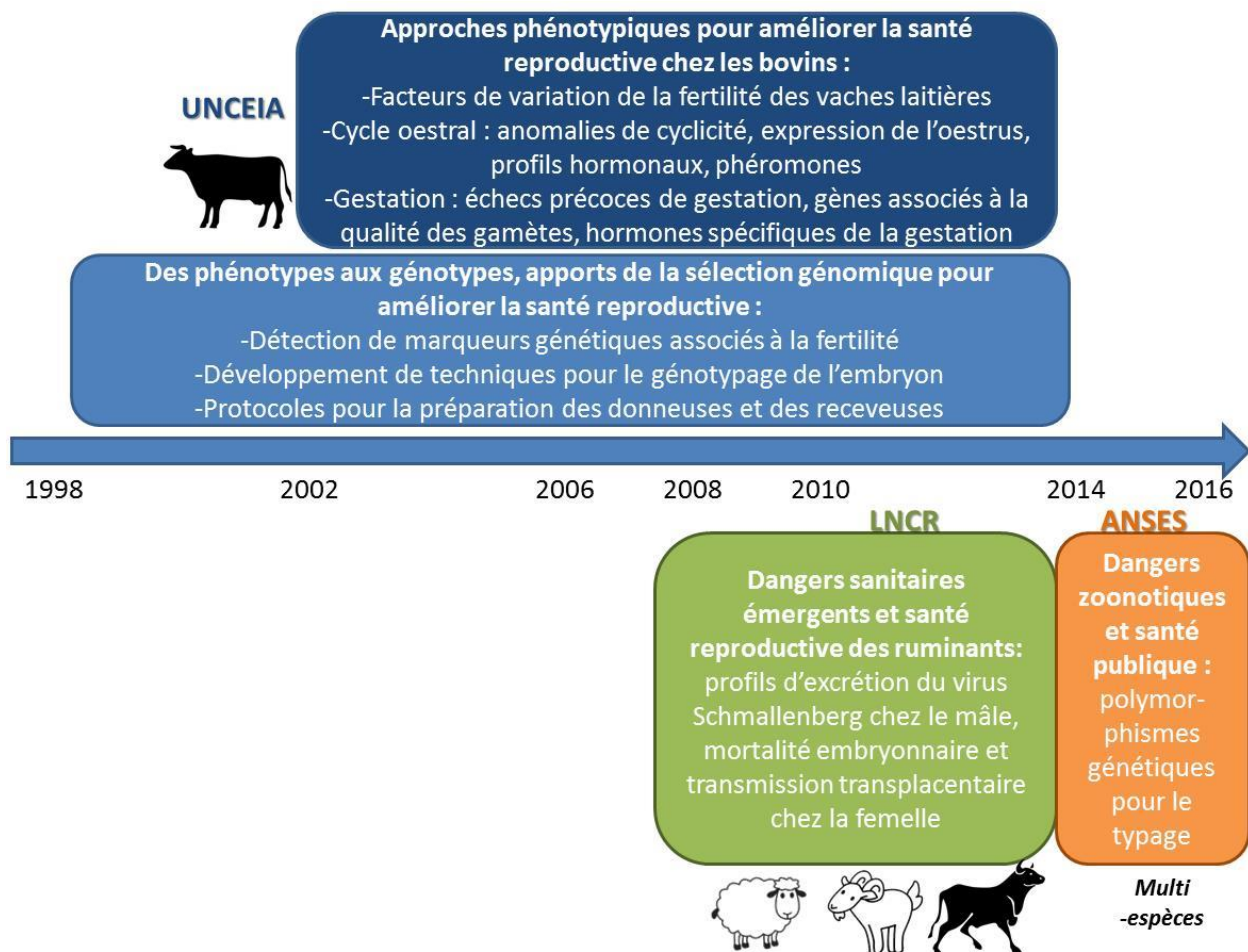


Figure 3 : Principaux résultats issus des actions de recherche entre 1998 et 2016

Enfin, ces expériences m'ont amené progressivement à renforcer mes activités d'encadrement de la recherche : de l'encadrement d'étudiants vétérinaires et d'étudiants ingénieurs, j'ai contribué progressivement à l'encadrement d'équipes de recherche et de thèses d'université, notamment via les thèses CIFRE co-financées par l'UNCEIA (Figure 4). Parallèlement, j'ai évolué de la réalisation de projets de recherche, à la conception et la rédaction de projets de recherche, nationaux puis internationaux (Figure 4 ; projets détaillés en Annexe 12).

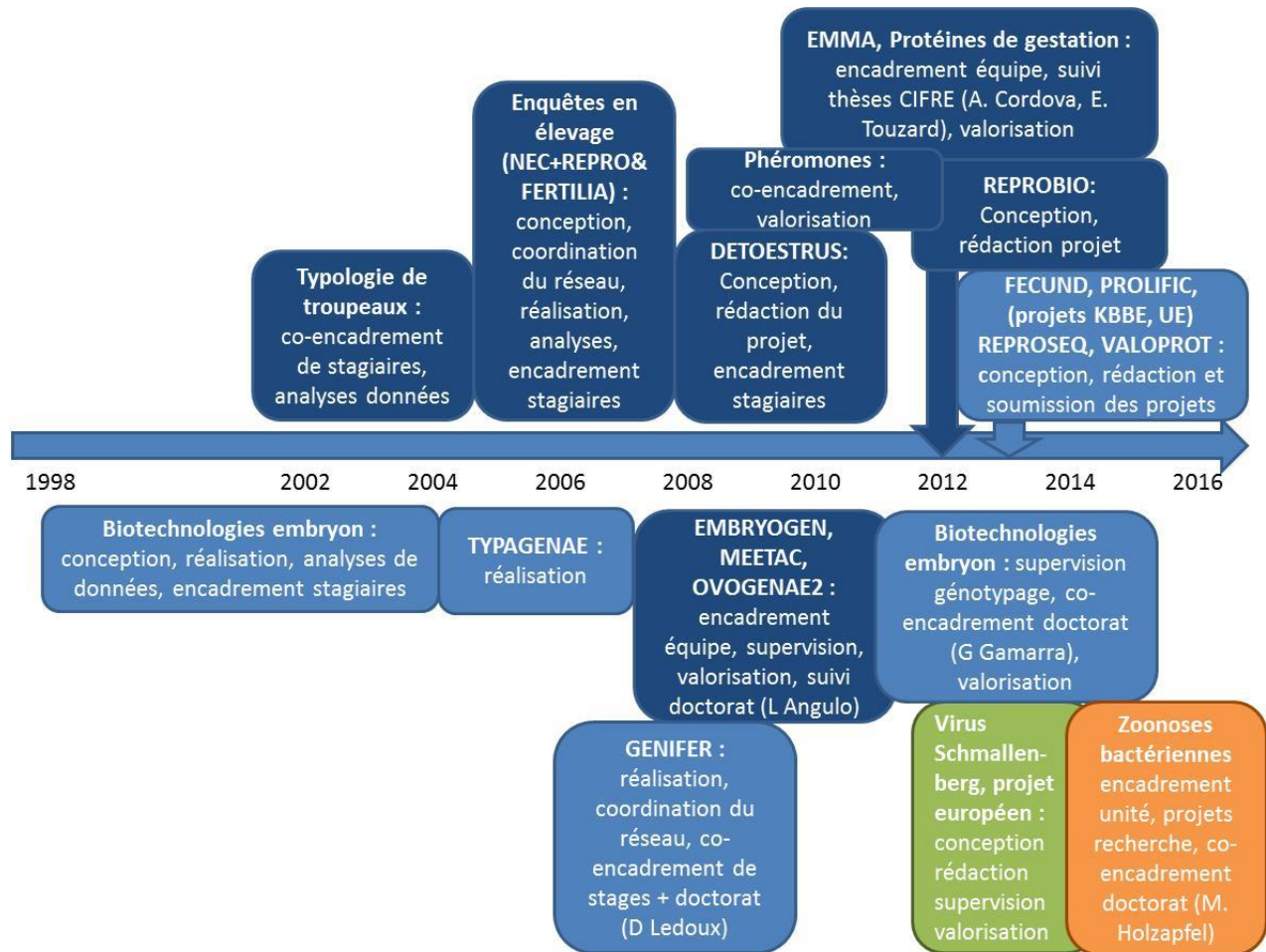


Figure 4 : Principales activités d'encadrement de la recherche depuis 1998 (cadre UNCEIA : approches phénotypiques en bleu foncé, interactions phénotypes – génotypes en bleu clair ; cadre LNCR : dangers sanitaires émergents, en vert ; cadre ANSES : zoonoses bactériennes, en orange)

## 2.2- Synthèse de l'activité scientifique : Approches phénotypiques pour améliorer la santé reproductive de la vache

*Cadre du travail de recherche : Projets menés en tant que responsable du service transfert embryonnaire (1998-2002) puis coordinatrice du programme « la fertilité d'abord » (2002-2010). Nommée Directrice scientifique de l'UNCEIA en 2010.*

*Laboratoire : Département R & D de l'UNCEIA (Direction scientifique : Patrice Humblot, 1998-2010), Maisons-Alfort, France.*

### 2.2.1 Contexte et finalités du travail de recherche

Entre 1980 et 2000, la fertilité des vaches laitières a diminué de façon constante, devenant l'une des principales causes de réforme des vaches dans les pays développés. En France, la baisse de la fertilité a été continue et rapide en race Prim'holstein, moins marquée en race Normande, et la situation a été relativement stable dans la race Montbéliarde (Annexe 6.2, **S4, S7** ; Le Mézec, 2010). La fertilité, tant qu'elle n'était pas évaluée et prise en compte dans les objectifs de sélection, connaissait une dégradation génétique liée à sa relation négative avec la production de lait (autour de -0,35), rapportée dans la plupart des races laitières (Boichard et al., 1998; Berry et al., 2014). De nombreuses équipes ont alors investigué les facteurs génétiques et environnementaux responsables de la baisse des performances de reproduction chez les bovins (pour revue, Walsh et al., 2011 ; Fortes et al., 2013). A partir de 2002, j'ai piloté le programme « La fertilité d'abord », qui visait à améliorer la fertilité des vaches laitières, en associant les professionnels et l'Institut de l'Élevage, dans un groupe de travail dénommé « groupe Fertilité Femelle de l'UNCEIA ». Ce programme était articulé autour de 3 volets : 1) investiguer les pratiques d'élevage en lien avec la fertilité à partir d'approches épidémiologiques ; 2) concevoir et développer des actions de conseil et de formation (outils pédagogiques) et 3) identifier des marqueurs génétiques et fonctionnels associés à la santé reproductive, à partir d'approches expérimentales.

Le programme « La fertilité d'abord » comportait donc des actions très appliquées en parallèle des projets de recherche. Ces actions ne sont pas développées dans ce document (Annexe 1.3). Ce volet m'a permis d'encadrer 3 étudiants en thèse vétérinaire (Martin Rémi, Lucie Lamy, Emmanuel Hauguet) et 3 étudiants ingénieurs en mémoire de fin d'études (Sylvie Friboulet, Julie Goffin, Marc Tancerel ; Annexe 4.1).

Le phénotypage de la fonction de reproduction est complexe, même si il est classiquement résumé par les notions de fertilité et de fécondité. Les performances de reproduction sont en général estimées sous forme d'intervalles (intervalle vêlage – 1<sup>ère</sup> insémination, intervalle vêlage –insémination fécondante, intervalle vêlage-vêlage), de résultats binaires (gestante / non gestante ; non retour 90 jours après insémination) ou de nombres d'évènements (nombre d'inséminations non fécondantes ; Figure 5 ; Annexe 3.4, **T7**). Avec l'émergence des technologies haut-débit et l'apparition des automates en ferme, de nouvelles approches de phénotypage ont été développées pour investiguer la santé reproductive (Rutten et al., 2013 ; Berry et al., 2014 ; Egger-Danner et al., 2015 ; Annexe 6.2, **S12**).

Les projets de phénotypage ont représenté un axe constant de mes recherches, évoluant progressivement de travaux de typologies de troupeaux *in silico*, vers des approches épidémiologiques puis des approches expérimentales en station, avec l'objectif de caractériser de plus en plus finement les évènements conduisant à l'établissement puis au maintien de la gestation chez la vache. J'ai choisi de développer trois aspects majeurs des recherches menées entre 2002 et 2014 visant à améliorer la santé

reproductive, en ciblant notamment les résultats obtenus chez les vaches laitières : 1) caractérisation de phénotypes de la fonction de reproduction ; 2) apport de la génomique fonctionnelle et 3) apports de la sélection génomique : détection de marqueurs génétiques, utilisation des biotechnologies de la reproduction pour accélérer le progrès génétique. Ces trois leviers m'ont permis de mettre en œuvre différentes approches : analyses *in silico* de bases de données, enquêtes épidémiologiques dans des troupeaux sélectionnés, expérimentations *in vivo* en station et analyses *in vitro* en laboratoire (Figure 6).

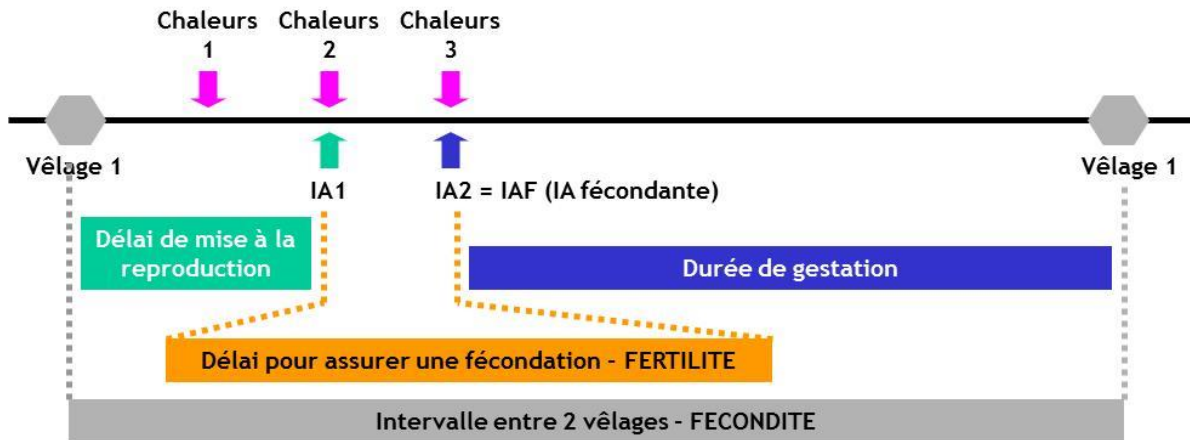


Figure 5 : Notions de fertilité et de fécondité chez la vache (source REPROGUIDE, T7)

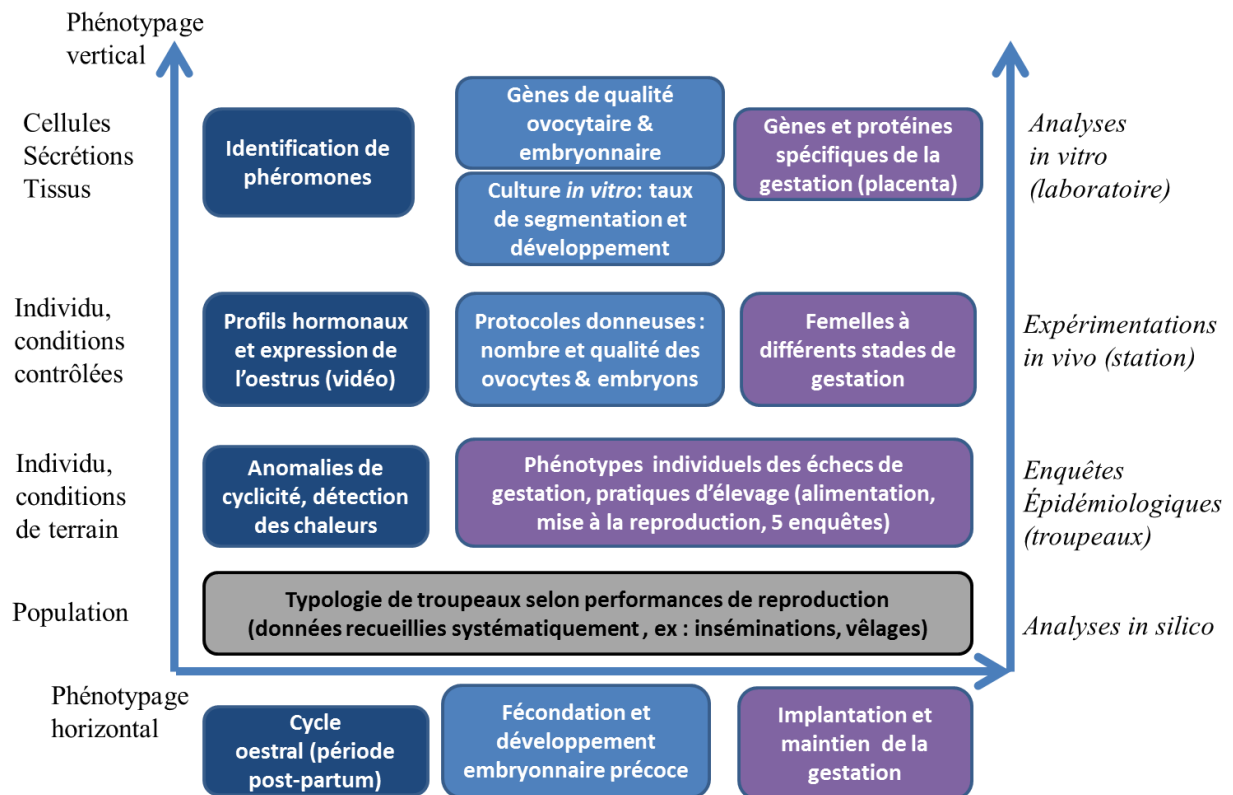


Figure 6 : Approches phénotypiques développées entre 2002 et 2014 visant à améliorer la santé reproductive chez les bovins

Les approches phénotypiques ont permis de décrire de nouveaux phénotypes à l'échelle du troupeau, de l'individu ou de tissus prélevés à partir de l'appareil génital, en ciblant les événements majeurs du cycle reproductif chez la vache : cyclicité après vêlage, développement précoce de l'embryon et implantation.

### 2.2.2 Approches in silico : typologies de troupeaux

*Ces travaux ont été menés entre 2003 et 2005, en collaboration avec l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes (ENVN), afin de combiner les paramètres résumant le mieux les performances de reproduction à l'échelle du troupeau (Seegers et al., 2003). Les analyses ont été réalisées avec l'appui de deux étudiants ingénieurs pour leur stage de fin d'étude (Annexe 4.1 ; Amandine Blossé, Anthony Chartier) et une étudiante en thèse de doctorat vétérinaire (Charlotte Degien), co-encadrés avec Henri Seegers (ENVN). Les résultats ont été valorisés sous forme de 3 communications en congrès scientifiques (Annexe 6.4 ; CO44, CO50, CO54).*

Les performances de reproduction font référence à de multiples critères, calculés à partir des dates de vêlage et d'insémination. L'intervalle entre deux vêlages correspond à une mesure globale de la fécondité, englobant la capacité de la femelle à revenir à l'état cyclé, à exprimer des chaleurs avec une intensité permettant leur détection, à concevoir et maintenir une gestation et la durée de la gestation (Gutiérrez et al., 2002; Wall et al., 2003 ; Berry et al., 2014). D'autres intervalles peuvent être calculés comme l'intervalle vêlage – 1ère insémination, intervalle vêlage –insémination fécondante, intervalle entre deux inséminations. Le taux de non retour est le critère binaire le plus commun utilisé pour l'évaluation génétique des performances reproduction mâle et femelle (Berry et al., 2014 ; Annexe 6.2, **S19**), mais le taux de réussite à la première insémination ou le taux de retours à 3 semaines peuvent aussi être pris en compte.

Entre 2003 et 2005, des typologies de troupeaux ont été réalisées en collaboration avec l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, afin de combiner les paramètres résumant le mieux les performances de reproduction à l'échelle du troupeau (Seegers et al., 2003). Il a été montré qu'il est possible de synthétiser les différentes composantes de la santé reproductive à partir des 4 critères de reproduction suivants : taux d'inséminations premières (IA1) plus de 90 jours après vêlage, incidence des retours à 3 semaines et décalés et la proportion de vaches inséminées et réformées après 3 IA et plus (Annexe 6.4, **CO50**). La typologie réalisée sur 1863 troupeaux de race Prim Holstein de la Coopérative d'Insémination Animale de l'Ille et Vilaine a permis d'identifier cinq classes de troupeaux : retours à 3 semaines (n=408, 21,9%), retours et réformes (n=302, 16,2%), IA1 tardive et retours tardifs (n=371, 19,9%), peu de retours et peu de réformes (n=437, 23,5%), IA1 tardive et peu de retours (n=345, 18,5%). Ces observations ont conduit à cibler d'une part la période post-partum avec la reprise de cyclicité et d'autre part les échecs de gestation après IA1 dans les enquêtes épidémiologiques décrites ci-après.

### 2.2.3 Phénotypage de la gestation chez la vache

*L'étude des phénotypes de gestation a débuté par un état des lieux des pratiques dans des troupeaux laitiers. Plusieurs enquêtes épidémiologiques ont été conçues dans le cadre du programme « la fertilité d'abord » entre 2004 et 2007 (annexe 10), en collaboration avec les coopératives d'insémination, l'Institut de l'Élevage (enquête FERTILIA) ; le PEP Rhône Alpes en partenariat avec ELIACOOP et le contrôle laitier (enquête NEC+REPRO), l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes en partenariat avec KEENAN et VETEL (ENVN-KEENAN-VETEL). Ces enquêtes conçues au sein du groupe Fertilité Femelle de l'UNCEIA ont contribué à l'étude des phénotypes de cyclicité, d'échecs de gestation et à la caractérisation des pratiques d'élevage (Annexe 10).*

Ces travaux ont mobilisé plusieurs étudiants pour le recueil de données, la réalisation des prélèvements et l'interprétation des phénotypes d'échecs de gestation. Pour ce travail mené en collaboration avec Patrice Humblot (UNCEIA) et Bénédicte Grimard (ENVA), j'ai participé à l'encadrement d'une doctorante (Dorothee LEDOUX ; annexe 4.2) et de plusieurs stages dédiés au recueil des phénotypes en élevage (Rachel Lefebvre ; Benoît Mouchard ; Pierre Vergiat ; annexe 4.1), Les résultats ont été discutés au sein du groupe Fertilité femelle de l'UNCEIA, que j'ai coordonné avec Sandrine Fréret.

Les résultats ont été valorisés sous forme d'articles scientifiques (annexe 6.1 ; **A11, A31**), d'un article de synthèse (annexe 6.2 ; **S4**), de communications en congrès scientifiques (annexe 6.4 ; **CO41, CO57, CO58, CO59, CO78, CO123, CO131, CO135**) et conférences invitées (annexe 6.5 ; **CI13, CI14, CI15, CI16**).

### 2.2.3.1 Approches épidémiologiques : phénotypes d'échecs de gestation chez la vache laitière

Les approches épidémiologiques réalisées dans des troupeaux laitiers ont associé le recueil de données individuelles (retour en chaleurs, insémination) et 3 ou 4 examens individuels afin de caractériser la santé reproductive grâce à un phénotypage plus fin que celui permis par la seule utilisation des données d'insémination (Humblot, 2001). Une combinaison d'analyses de progestérone (P4) le jour de l'IA et 21 jours après, de constats de gestation à 40 et 90 jours et de dates de mise bas a permis de caractériser les évènements liés à un échec de fertilité en 1ère IA (Tableau 6; **A11, A31**).

Les incidences de 4 phénotypes d'échecs de gestation entre l'IA1 (J0) et 90 jours ont été estimées pour plus de 10 000 vaches laitières, de race Prim Holstein pour la plupart des études (et Normandes pour l'étude de Michel et al., 2003 ; Tableau 7). Les vaches inséminées en phase lutéale ont représenté 4 à 7,3 % des profils. Les phénotypes de non fécondation-mortalité embryonnaire précoce (NF-MEP) ont été les plus fréquemment observés, variant de 33,3 à 37,2 %. Les retours décalés, correspondant à des phases lutéales prolongées ou à des mortalités embryonnaires tardives ont représenté 11,2 à 20,2 % des échecs de gestation, ce qui revient à des taux d'incidence compris entre 19 et 31,1 %. Pour l'enquête GENIFER, la mortalité fœtale a été estimée à 1,4 % des échecs, soit un taux d'incidence de 2,7 % (Annexe 6.1, **A31**).

**Tableau 6 : Phénotypes d'échecs de gestation déterminés à partir de dosages de progestérone dans le lait le jour de l'insémination (J0) et 3 semaines après insémination (J18-J25), l'observation de retours en chaleurs et constats de gestation 45 et 90 jours après insémination (d'après A31)**

Dosage de progestérone dans le lait		Retour en chaleurs	Diagnostic de gestation		Interprétation
J0	J18-25		J45	J90	
+					IA en phase lutéale
-	-	régulier			Non-fécondation ou mortalité embryonnaire précoce (NF-MEP)
-	+	décalé	négatif		Phase lutéale prolongée ou Mortalité embryonnaire tardive (PLP-MET)
-	+	absent	positif	négatif	Mortalité fœtale
-	+	absent	positif	positif	Vache gestante à 90 jours

**Tableau 7 : Fréquence des échecs de gestation à partir de 5 enquêtes en ferme  
(modifié d'après S4)**

Référence	Nombre d'élevages (vaches)	% IA en phase lutéale	% NF-MEP	% PLP-MET (incidence)	% gestation
Michel <i>et al.</i> , 2003 ( <b>CO41</b> )	48 (740)	4	34,5	16,7 (29,3)	40,2
Freret <i>et al.</i> , 2005 ( <b>CO48</b> )	10 (314)	7,3	37,2	15,7 (25,3)	47,8
Freret <i>et al.</i> , 2006 et 2011 ( <b>CO58, CO123</b> )	135 (4581)	4,5	37,2	20,2 (31,1)	45,9
Grimard <i>et al.</i> , 2006 ( <b>A11</b> )	44 (1285)	5	33,8	15,4 (25,2)	45,8
Ledoux <i>et al.</i> , 2011 et 2015 ( <b>CO131, A31</b> )	984 (3508)	5	33,3	11,2 (19,0)	48,5

Les fréquences des échecs de gestation de ces études sont proches des valeurs rapportées dans la littérature (taux de NF-MEP compris entre 20,5 et 43.6 %, taux de PLP-MET compris entre 8,4 et 17,5%; Humblot, 2001; Santos *et al.*, 2004). De même les taux d'incidence de PLP-MET entre 21 et 45 jours (compris entre 19 et 31 %) sont comparables à ceux rapportés en race Holstein (moyenne de 12.8%, variant de 3,2 à 42,7 entre J30 et 45; Santos *et al.*, 2004; Cummins *et al.*, 2012a).

Les taux de gestation ont varié de 40,2 à 47,8 % selon les études. Ceci peut s'expliquer par les différences des protocoles mis en œuvre pour les constats de gestation après insémination première : 1 constat à 35 jours (Annexe 6.4, **CO48**), 1 constat entre 45 et 75 jours (**CO58, CO123**), 2 constats successifs à 40-45 et 65-90 j pour 2 enquêtes (**CO41, A31**) ou confirmation par palper rectal 80 à 100 jours après IA1 (**A11**). Les différences peuvent également être liées aux modalités de réalisation des enquêtes : l'enquête publiée par Michel *et al.* (2003) a ciblé des inséminations en période de paturage (**CO41**) ; l'enquête GENIFER n'a inclus que des femelles en 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> lactation, ce qui peut expliquer les taux de gestation assez élevés et les faibles taux de mortalité fœtale (**CO131, A31**). En effet, Zobel *et al.* (2011) ont rapporté des fréquences de mortalité foetale moins élevées pour les femelles en 1ère et 2ème lactations par rapport aux rangs 3 et 4. Les résultats des différentes études sont néanmoins cohérents et confortent l'importance de deux phénotypes : non fécondation-mortalité embryonnaire précoce (NF-MEP) et phase lutéale prolongée ou mortalité embryonnaire tardive (PLP-MET).

Ces approches épidémiologiques ont été particulièrement intéressantes car elles ont permis d'investiguer l'effet propre de différents facteurs de variation sur chacun des phénotypes décrits, dans différentes régions, en incluant de larges cohortes de femelles (>10000), à l'aide de modèles logistiques multivariés. Parallèlement, ces enquêtes ont identifié et quantifié de façon simultanée des effets génétiques (taureau d'IA ; index fertilité des femelles ; cf 2.3), des effets individuels (rang de lactation, conditions de vêlage, production laitière et taux), des effets des conduites alimentaires (tarissement, rationnement en début de lactation) et de pratiques de mise à la reproduction (délai d'IA après vêlage, modalités de détection des chaleurs ; cf 2.2.4).

Les principaux effets sont synthétisés dans le Tableau 8, avec les enseignements suivants :

- Les phénotypes d'échecs précoces de gestation (NF-MEP) sont associés principalement aux pratiques d'élevages : modalités de mise à la reproduction, pratiques de détection de chaleurs et d'insémination, mais également aux conduites alimentaires (tarissement, évolutions de l'état corporel et des taux protéiques observées au cours du premier tiers de lactation). Dans l'enquête

GENIFER dédiée à l'étude de marqueurs génétiques de fertilité, un effet significatif a été observé sur les échecs précoces de gestation : cet effet est cohérent avec les observations de Humblot (2001), qui a rapporté une association négative entre le niveau génétique pour la production laitière et la fréquence de NF-MEP. Ceci pourrait être en partie lié aux effets génétiques récemment décrits sur la santé utérine et la sécrétion de progestérone, à partir de groupes limités de femelles sélectionnées avec des niveaux génétiques différents de fertilité (Cummins et al., 2012a; Moore et al., 2014).

- Les évolutions (écarts, ratios) des taux butyreux (TB) et taux protéiques (TP) ont été associés à des taux élevés de NF-MEP. Ces observations peuvent être rapprochées d'une part de situations d'acidose chez la vache (TB bas et TP élevé) et d'autre part des phases de mobilisation des réserves corporelles après vêlage ou encore de cétose subclinique (TB élevé et TP bas ; Heuer et al., 1999; Kessel et al., 2008). La diminution de la fertilité a d'ailleurs été bien décrite dans les cas de cétose clinique ou subclinique (Annexe 6.1, **A31** ; Heuer et al., 1999 ; Walsh et al., 2007; Kessel et al., 2008). Récemment, Lucy et al. (2014) ont proposé un schéma métabolique présentant le rôle central du glucose, entre les fonctions de lactation et de reproduction pendant le postpartum : le glucose synthétisé dans le foie par néoglucogénèse (mobilisation des réserves corporelles, catabolisme des tissus musculaires et adipeux) est nécessaire pour la production de lait. Or, il est impliqué directement dans la circulation d'insuline et dans la production d'IGF1 par le foie et peut alors impacter la fonction de reproduction. Ces aspects métaboliques ont fait l'objet d'expérimentations en station (modèles de donneuses d'embryons sous- ou sur-alimentées), notamment au cours de thèses de Sandrine Freret (**A10**) et Giselle Gamarra (**A21, A27** ; cf paragraphe 2.3.4).
- Les phénotypes d'échec tardifs de gestation (PLP-MET) sont associés de façon répétée à la production laitière des vaches mises à la reproduction. Cet effet a été décrit également en station par Cutullic et al. (2012a), mais n'est pas retrouvé systématiquement par tous les auteurs (Chebel et al., 2004). Dans d'autres études (Lopez-Gatius et al., 2002; Silke et al., 2002; Santos et al., 2009), c'est un état corporel insuffisant au vêlage ou la perte d'état en début de lactation qui a été associé à l'augmentation des fréquences de mortalité embryonnaire tardive. La lactation mobilise une part importante des réserves corporelles en début de lactation et chaque étape est sensible à la production laitière, à l'état corporel ou à leurs variations. Les interactions entre taux protéique et production laitière rapportées par Ledoux et al. (**A31**) sur les taux de PLP-MET reflètent probablement les effets combinés du déficit énergétique et du niveau de production sur la santé reproductive. La distinction des effets propres de la lactation et du déficit énergétique reste un enjeu pour la recherche. Les approches expérimentales (Cutullic et al., 2012a) et la modélisation (Brun-Lafleur et al., 2013) ouvrent de nouvelles perspectives afin de découpler la production laitière, le niveau de rationnement et la note d'état corporel (NEC), tout en considérant les évolutions récentes des caractéristiques reproductives des vaches.
- Des effets génétiques liés au mâle et à la femelle ont également été significativement liés à ce phénotype dans les deux enquêtes ayant pris en compte cet aspect. Ces résultats originaux ont conduit à investiguer d'autres caractères pour la sélection génétique (cf paragraphe 2.3).
- Enfin, des effets individuels liés aux conditions de vêlage, à la reprise de cyclicité et aux signes de chaleurs avant insémination ont été mis en évidence. Les facteurs associés aux pratiques de détection de chaleurs et aux modalités d'insémination (contention) ont été valorisés au cours des actions de formation et de conseil, apportant de nouveaux repères pratiques pour les éleveurs.

Ces observations ont conduit à envisager des approches expérimentales ciblant la période oestrale afin de distinguer notamment les facteurs associés à l'expression des signes de chaleurs de ceux en lien avec les pratiques des éleveurs lors de la mise à la reproduction (pratiques de détection, modalités d'IA...).

**Tableau 8 : Principaux facteurs de variation associés aux phénotypes de non fécondation-mortalité embryonnaire précoce (NF-MEP) et/ou phase lutéale prolongée-mortalité embryonnaire tardive (PLP-MET) à partir de 5 enquêtes réalisées en troupeaux laitiers**

Facteurs de variation	Michel <i>et al.</i> , 2003 (CO41)	Freret <i>et al.</i> , 2005 (CO48)	Grimard <i>et al.</i> , 2006 (A11)	Freret <i>et al.</i> , 2011 (CO123)	Ledoux <i>et al.</i> , 2015 (A32)
<b>Effets génétiques</b>					
Index taureau d'IA					P, TTT <sup>1</sup>
Infex fertilité de la femelle				TT	
<b>Effets individuels</b>					
Production laitière (moyenne sur 90 j pp <sup>1</sup> , à l'IA, pic de production)	TT		TT	TT	TTT
Evolution des taux (tx) 90 j pp : tx protéique mini, écart ou rapport de tx				PPP	P, T
Comptage cellulaire moyen sur 90 j pp				PP, TT	
Perte d'état corporel entre 0 et 60 j pp		P (0,06)			
Etat corporel à l'IA			T		
Conditions de vêlage				TT	
Profil de cyclicité		TT			
Rang de lactation				TTT	TT <sup>2</sup>
Race	P, TTT				
<b>Pratiques de mise à la reproduction</b>					
Saison de mise à la reproduction			TT		
Intervalle vêlage – IA première					PP
Intervalle entre la détection et l'appel de l'inséminateur ou l'IA	PPP			PPP	
Signes de chaleurs utilisés pour déclencher l'appel de l'inséminateur				PPP, TTT	
Contention à l'IA (selon inséminateur)				PP	
<b>Conduites alimentaires</b>					
Durée du tarissement	PPP				
Type de conduite alimentaire pp				P, T	
Année					P

(1) pp=postpartum ; P, PP, PPP = effets significatifs sur NF-MEP avec  $p < 0,05$ ,  $0,01$  et  $0,001$  respectivement ; T, TT, TTT = effets significatifs sur PLP-MET avec  $p < 0,05$ ,  $0,01$  et  $0,001$  respectivement, (2) Interaction significative avec production laitière moyenne sur 90 j pp (A32),

### *2.2.3.2 Limites des approches épidémiologiques pour le phénotypage de la gestation*

Une des limites de ces approches reste l'impossibilité de distinguer la non fécondation de la mortalité embryonnaire précoce (NF-MEP) d'une part, et la phase lutéale prolongée de la mortalité embryonnaire tardive (PLP-MET) d'autre part. Dans les années 1980, il était admis que les taux de fécondation étaient de 90 à 100 % chez la vache (Diskin et Morris, 2008). Chez la vache laitière haute productrice, trois articles (Wiebold 1988; Ryan et al. 1993; Sartori et al. 2002) indiquent que les taux de fécondation peuvent être altérés, notamment en cas de stress thermique. Wiebold (1988) a utilisé une approche non chirurgicale de collecte d'embryons 7 jours après l'oestrus et a récupéré 25 ovocytes fécondés et embryons à partir de 23 femelles. Ryan et al. (1993) ont décrit des taux de fécondation de 82,4 % et 79,5 % pour des températures environnantes élevées et basses respectivement. Enfin, dans des conditions de stress thermique, Sartori et al. (2002) ont observé des taux de fécondation de 55,6 % chez des vaches laitières versus 100 % chez des génisses. Les modèles expérimentaux en station basés sur l'étude de donneuses d'embryons ont permis d'obtenir des données complémentaires relatives aux taux de fécondation, notamment au cours des thèses de Sandrine Freret (Annexe 6.1, **A10**) et Giselle Gamarra (Annexe 6.1, **A21, A27**).

Pour investiguer les risques associés aux phénotypes de mortalité embryonnaire tardive, la confusion avec les phases lutéales prolongées pose également problème en race Holstein. Plusieurs études ont rapporté que 15 à 35 % des vaches Holstein présentent un corps jaune qui persiste – parfois plusieurs semaines – avec comme conséquence un taux élevé de progestérone empêchant l'ovulation (Annexe 6.4, **CO56, CO76** ; Windig et al., 2008 ; Disenhaus et al., 2009). Lucy et al. (2014) décrivent l'hypothèse selon laquelle les hormones qui conduisent à la reprise de la cyclicité après vêlage (insuline, IGF1 et LH) impacteraient également la régularité des cycles, le fonctionnement des follicules et du corps jaune et par conséquent la mortalité embryonnaire : les follicules et le corps jaune sont sensibles aux modifications des concentrations de gonadotrophines, facteurs de croissance et métabolites sanguins chez la vache au cours du postpartum. Les hormones stéroïdiennes produites au niveau ovarien sont métabolisées par le foie, qui relargue des concentrations plus faibles chez les vaches en début de lactation. Ceci peut conduire à la production d'ovocytes peu compétents au développement embryonnaire. Si le fonctionnement du corps jaune et la stéroïdogénèse sont altérés, les pertes embryonnaires peuvent être favorisées (Figure 7).

Ceci pourrait expliquer pourquoi les profils de cyclicité anormaux ont été associés à une augmentation des taux de PLP-MET dans l'enquête NEC+REPRO (Annexe 6.4, **CO58**). La séquence de prélèvements appliquée dans nos études épidémiologiques ne permet pas de faire la différence entre ces différents phénotypes, ni de développer des hypothèses mécanistiques. Afin de caractériser plus finement les profils de cyclicité, des approches expérimentales ont été privilégiées dans les projets ultérieurs, notamment dans le cadre du projet DETOESTRUS (Annexe 6.2, **S8** ; cf 2.2.4).

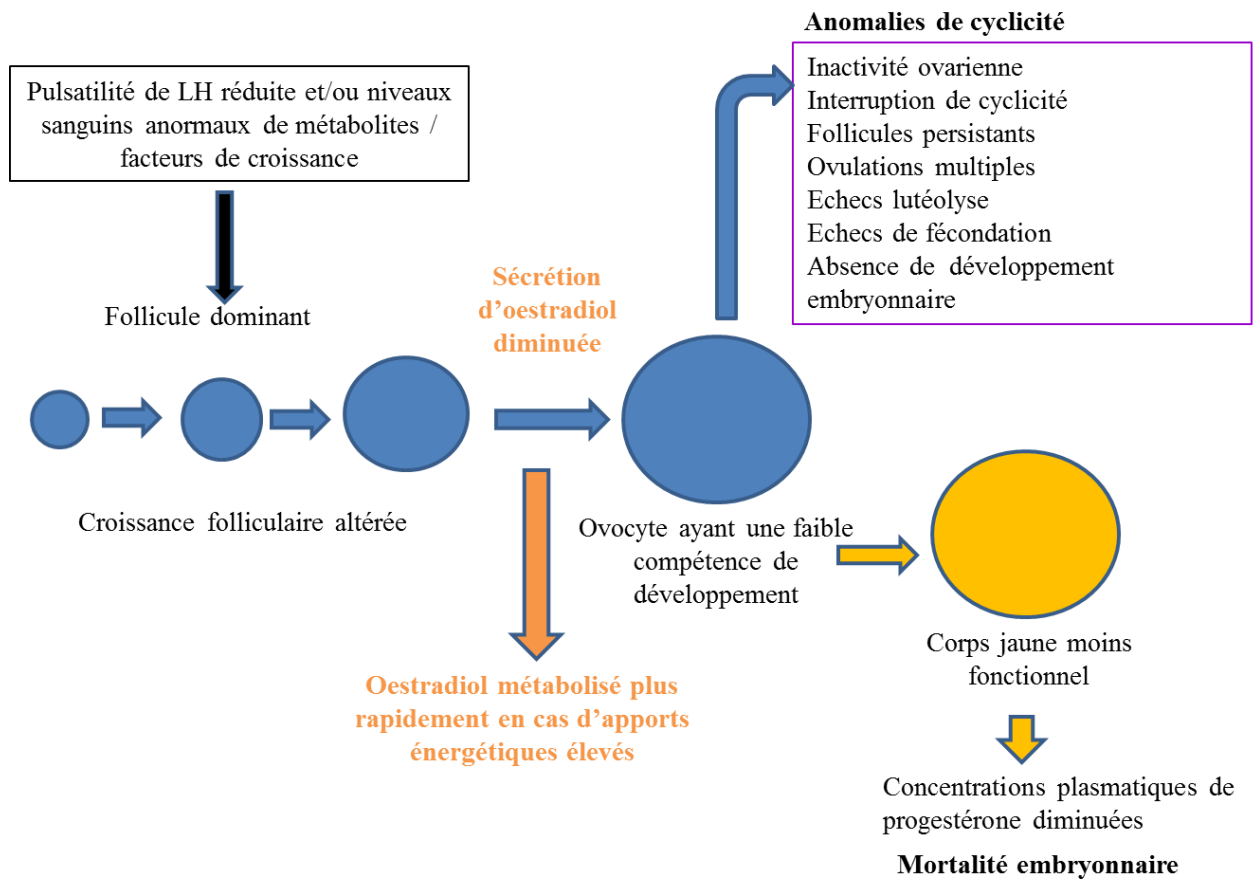


Figure 7 : Mécanismes liant le métabolisme énergétique, les hormones métaboliques, les anomalies de cyclicités et les mortalités embryonnaires (Lucy et al., 2014)

### **2.2.3.3 Approche expérimentale du phénotypage de la gestation : caractérisation des PAGs (Protéines associées à la gestation)**

*De nouveaux phénotypes ont ensuite été décrits au cours de la gestation grâce à une approche expérimentale développée par Eve Touzard, doctorante accueillie dans le laboratoire de Gilles Charpigny (INRA Jouy en Josas). Ces travaux ont été initiés par Patrice Humblot et j'ai repris le suivi de cette thèse CIFRE financée par l'UNCEIA en 2010 (Annexe 6.1 ; **A18**). J'ai contribué à ce travail à travers l'encadrement des équipes de la station expérimentale de Chateauvillain, ainsi qu'en participant à la valorisation des résultats et à la rédaction du projet VALOPROT, permettant de poursuivre la thématique de cette thèse.*

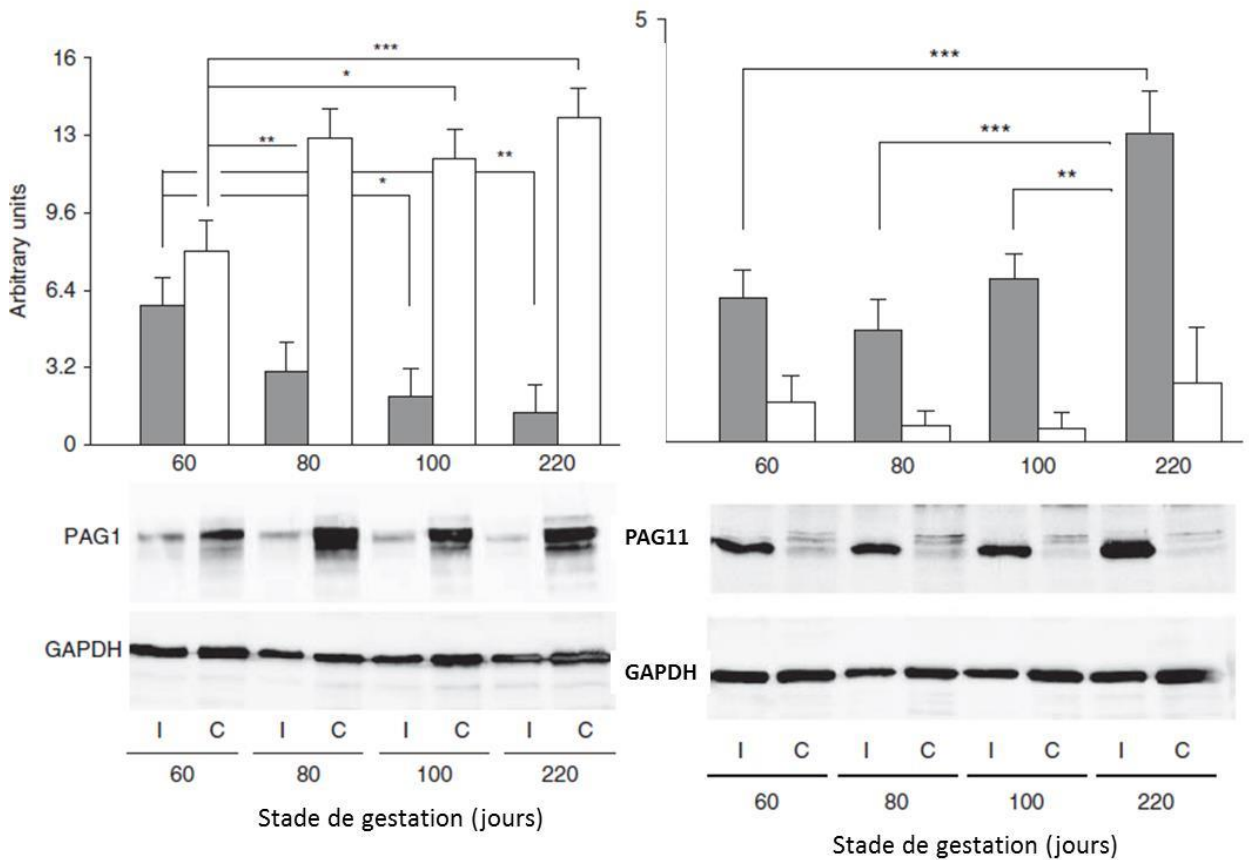
Les approches épidémiologiques de phénotypage présentées ci-dessus ont fait appel à des constats de gestation divers : échographie, palper rectal ou dosage d'une protéine associée à la gestation appelée PSPB (pregnancy specific protein B ; Humblot et al., 1988 ; Annexe 6.2, **S4**). L'existence d'une protéine de gestation détectable dans la circulation périphérique maternelle a été rapportée pour la première fois chez la vache par Butler et al (1982). Le dosage radio-immunologique de la PSPB dans le sérum ou le plasma maternel, initialement mis au point et décrit chez les bovins par Sasser et al (1986) a été utilisé ou adapté dans d'autres espèces de ruminants. Comme les concentrations de PSPB augmentent chez les bovins entre le 20<sup>ème</sup> et le 30<sup>ème</sup> jour de gestation (Humblot et al., 1988), cette hormone a été utilisée pour le diagnostic de la gestation depuis les années 1990.

Au cours des années 1990, il a ensuite été montré que la PSPB fait partie d'une famille multigénique de protéases aspartiques exprimées dans le trophoblaste des ruminants au cours de la gestation (Zoli et al. 1992 ; Xie et al. 1994 ; Green et al. 2000). Chez la vache, cette famille comprend 21 protéines divisées en deux groupes phylogénétiques (ancien et moderne ; Green et al. 2000 ; Hughes et al. 2000). Les PAGs modernes qui comportent la PSPB ou PAG1 ont été davantage étudiées : elles sont synthétisées par les cellules binuclées du cotylédon et atteignent la circulation maternelle où leur dosage sert de diagnostic de gestation (Xie et al. 1991, Zoli et al. 1992, Green et al. 1998, Wooding et al. 2005). En revanche, les informations relatives aux PAGs anciennes (PAG2, PAG8, PAG10, PAG11, PAG12 and PAG13) restent fragmentaires. Une approche expérimentale a donc été conduite par Eve Touzard (**A18**) afin de préciser les évolutions de ces protéines au cours de la gestation et découvrir de nouveaux phénotypes pouvant permettre l'amélioration des techniques actuelles de diagnostic de gestation.

Ce travail a mobilisé les infrastructures expérimentales de l'UNCEIA (station de Chateauvillain), afin de disposer de matériel biologique caractérisé : les cycles de femelles de race Holstein ont été synchronisés avant insémination (Constant et al., 2011). Les femelles ont été abattues à des stades précis de gestation (60, 80, 100 ou 220 jours après IA). Les tissus placentaires (cotylédonnaire et inter-cotylédonnaires) ont été prélevés, puis une moitié a été congelée immédiatement dans l'azote liquide avant conservation à -80°C, tandis que l'autre moitié a été fixée pour analyse immuno-histochimique (**A18**). Des amorces ont été dessinées afin de pouvoir détecter l'expression des gènes de PAGs par PCR temps réel entre 60 et 220 jours post insémination dans chaque zone placentaire. Les protéines ont été extraites à partir des tissus pour une analyse par Western Blot, utilisant des anticorps anti-PAG1, anti-PAG2 et anti-PAG11.

Il a été démontré que les PAGs modernes sont essentiellement produites par les cotylédons tandis que les PAGs anciennes sont restreintes au trophoblaste intercotylédonnaire, à l'exception de la PAG2. La Figure 8 montre l'exemple de la PAG1, choisie comme archétype des PAG exprimées de façon prédominante dans les zones cotylédonnaires, alors que la PAG11 a été exprimée plus intensément dans les zones inter-cotylédonnaires. Des interactions entre zone placentaire et stade de gestation ont également été mises en évidence : la quantité de PAG1 au niveau cotylédonnaire a atteint son niveau maximum à 80 jours de gestation, alors que la quantité présente dans les zones inter-cotylédonnaires a diminué au fur et à mesure de la gestation.

Ce phénotypage de la gestation très précis a nécessité le développement préalable d'outils moléculaires et les analyses ont ciblé quelques animaux expérimentaux bien caractérisés. Cette approche a permis d'identifier des profils d'expression pour les différentes PAGs synthétisées au cours de la gestation : les localisations tissulaires et cellulaires des différentes PAGs et les profils d'expression correspondants constituent de nouveaux phénotypes d'intérêt pour décrire les échecs de gestation et étudier les facteurs favorisant le maintien d'une gestation.



**Figure 8 : Analyses par Western blot de la PAG1 et de la PAG11 dans les zones placentaires intercotylédonnaires (IC, barres noires) et cotylédonnaires (C, barres blanches) entre 60 et 220 jours de gestation. Les histogrammes représentent les quantifications obtenues chez 4 vaches différentes. Après détection des PAG, les membranes ont été testées avec un anti-corpse GAPDH pour tester l'homogénéité des prélèvements distribués dans le gel. Les différences de concentration entre les zones C vs IC ont été testées par ANOVA (\*P<0,05; \*\*P<0.01; \*\*\*P<0.001 ; A18)**



## 2.2.4 Phénotypage du cycle oestral

*L'étude des phénotypes de cyclicité a été initié dans le cadre du programme « la fertilité d'abord » entre 2004 et 2007, en collaboration avec le PEP Rhône Alpes en partenariat avec ELIACOOP et le contrôle laitier (enquête NEC+REPRO ; annexe 10). Les données de cyclicité ont par ailleurs fait l'objet d'un doctorat vétérinaire (Virginie Congnard) et un stage de fin d'études (Julien Levert) que j'ai encadrés avec Sandrine Fréret.*

*Des travaux expérimentaux en station ont été conduits entre 2008 et 2010 dans le cadre du projet collaboratif DETOESTRUS, labellisé par le CASDAR en 2007 et réalisé en partenariat avec l'Institut de l'Élevage, INRA UR Herbivores, INRA UE Monts Dore – Theix, Ecole Nationale Vétérinaire et INRA - Alfort Ecole Nationale Vétérinaire et INRA – Nantes, Ecole Nationale d'Ingénieurs des Travaux Agricoles - Clermont-Ferrand, INRA et Agrocampus – Rennes et les entreprises de sélection (notamment Evolution, pour le dispositif Heatime®). Ce projet a permis d'associer des phénotypes d'expression de l'oestrus aux phénotypes de cyclicité. Il a mobilisé plusieurs étudiants pour le recueil de données, la réalisation des prélèvements et l'analyse des données issues des caméras. J'ai directement participé à la conception et à la rédaction du projet DETOESTRUS. Par ailleurs, j'ai encadré Anne-Sophie Tyran pour son stage de fin d'études et Xavier Nello, étudiant en thèse vétérinaire ayant participé au recueil des enregistrements vidéo réalisés en race Limousine (au lycée agricole des Vaseix).*

*L'utilisation des caméras pour la surveillance des chaleurs a fait l'objet d'un projet avec le centre d'élevage de Poisy (Thierry Hétreau). A cette occasion, nous avons encadré ensemble deux étudiants vétérinaires (Camille Grandis, Thierry Bruyère) et un ingénieur pour son stage de fin d'études (Olivier Giroud).*

*Les résultats ont été valorisés sous forme d'un article scientifique (Annexe 6.1 ; **A12**), d'articles de synthèse (Annexe 6.2 ; **S4, S8**), de communications en congrès scientifiques (Annexe 6.4 ; **CO57, CO58, CO63, CO64, CO65, CO76, CO98, CO109, CO110, CO111, CO115, CO116, CO119, CO127**) et de conférences invitées (Annexe 6.5 ; **CI18, CI19, CI20, CI21, CI22**). Des outils d'intervention en élevage ont également été produits en 2011 (Annexe 3.4 ; **T13, T14**) ainsi que deux logiciels (Annexe 6.7 ; **L2, L3**).*

Physiologiquement les chaleurs, ou œstrus, correspondent à la période du cycle sexuel pendant laquelle la femelle accepte l'accouplement. Les chaleurs se traduisent par un ensemble de comportements sexuels et sociaux accompagnant l'ovulation. Ces comportements sont initiés par une réponse cérébrale à l'élévation de l'œstradiol (E2) principal œstrogène chez la vache. L'œstradiol est synthétisé par les follicules. Sécrété dans le sang, sa concentration atteint un maximum lorsque le follicule dominant devient préovulatoire, en l'absence de progestérone (P4) sécrétée par le corps jaune. Toujours en l'absence de corps jaune, l'élévation de l'œstradiol induit un pic de sécrétion de LH conduisant à l'ovulation (Figure 9).

Dans certains cas, la concentration en œstradiol serait suffisante pour déclencher le pic de LH et donc l'ovulation, mais insuffisante pour déclencher les comportements. Poussé à son maximum, ce phénomène expliquerait les " ovulations silencieuses ", des ovulations sans aucun signe comportemental (Ranasinghe et al., 2010). A l'inverse, une forte concentration plasmatique en œstradiol (d'origine iatrogène, alimentaire ou pathologique) peut générer des comportements de chaleurs alors qu'il n'y a pas d'ovulation.

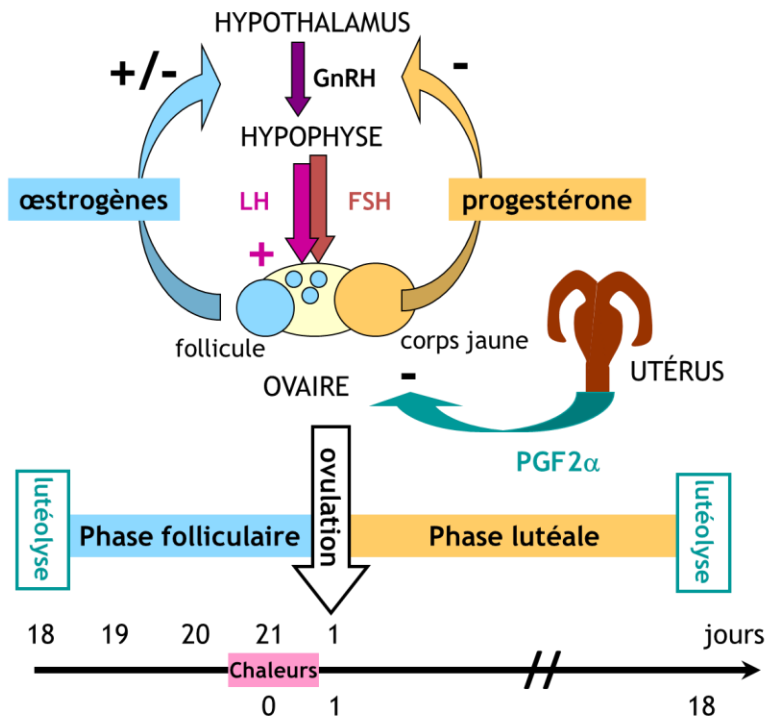


Figure 9 : Régulation hormonale du cycle oestral chez la vache (source REPROGUIDE, T7)

#### 2.2.4.1 Phénotypage de la cyclicité : apport des dosages hormonaux

Les concentrations de progestérone dans le lait, reflet de la progestérone plasmatique (Roelofs et al., 2006), sont généralement utilisées pour témoigner de l'ovulation dans les différentes études présentées ici (S8). Pour chaque dosage, il existe une valeur dite positive (présence de progestérone dans le lait ou le plasma signant la présence d'un corps jaune sécrétoire), une valeur dite négative (absence de progestérone) et une valeur dite intermédiaire (ne permet pas de conclure à la présence ou l'absence de corps jaune sécrétoire) (Thimonier, 2000). Grâce à l'utilisation des dosages hormonaux, nous avons investigué les phénotypes de cyclicité sur 314 vaches hautes productrices dans le cadre d'une enquête menée dans 10 élevages Prim'Holstein de la région Rhône-Alpes. Ce travail a inclus des prélèvements de progestérone dans le lait une fois par semaine entre 30 et 80 jours post-partum (CO58).

Afin de préciser les différences entre races, des profils de cyclicité post-partum ont été établis à partir de dosages bi- ou tri-hebdomadaires de la progestérone du plasma (vaches de race charolaise, CH) ou du lait (vaches de race Prim'Holstein (PH), normande (NO), montbéliarde (MB) et abondance) chez 433 vaches primipares et multipares, dans différents sites expérimentaux (CO76). Dans cette étude, les profils de cyclicité ont été qualifiés d'après la classification utilisée par Kerbrat et Disenhaus (2000) chez la vache laitière. Ainsi, le profil est dit normal (N) si le délai de reprise de cyclicité est inférieur à 50 jours et que se succèdent des cycles sans anomalies. Un premier cycle court a été considéré comme physiologique et n'est pas pris en compte comme anomalie. Lorsque la reprise de cyclicité survient à ou après 50 jours et avant 100 jours post-partum, le profil est qualifié de retardé (R). Si le retard se prolonge à ou après 100 jours, le profil est qualifié d'inactivité ovarienne prolongée (INO). Lorsque les profils comportent un ou plusieurs corps jaunes dont la durée excède 25 jours, ils sont qualifiés comme profils à

phase(s) lutéale(s) prolongée(s) (PLP). Enfin, les profils comportant une interruption de cyclicité sont qualifiés comme tels (INT). Les principaux résultats sont résumés ci-dessous :

- La reprise de cyclicité est très variable, de 9 jours à plus de 200 jours. Globalement, la reprise est précoce puisque 52 % des 428 vaches, toutes races confondues, ont repris leur cyclicité à 30 jours, 80 % à 50 jours et 91 % à 70 jours.
- Comme le montre la Figure 10, dans les 3 races (CH, NO et PH) dont l'effectif permettait l'analyse, la reprise de cyclicité est moins précoce chez les primipares que chez les multipares. En race PH, ce phénomène est particulièrement marqué. Alors que 86 % des multipares ont repris leur activité cyclique à 50 jours après vêlage, seulement 70 % des primipares sont cyclées. En PH, pour les 2 parités, après un démarrage plutôt précoce, la courbe s'infléchit signant la difficulté des vaches non cyclées à ce stade pour reprendre une reproduction ultérieure. Soit la reprise a lieu avant 50 jours, soit elle est très tardive. A notre connaissance ce phénomène n'a pas été décrit. Le même fléchissement est observé pour les primipares NO mais dans une moindre mesure. En race NO, 84 % des primipares sont cyclées à 50 jours (versus 100 % des multipares,  $P < 0,05$ ).

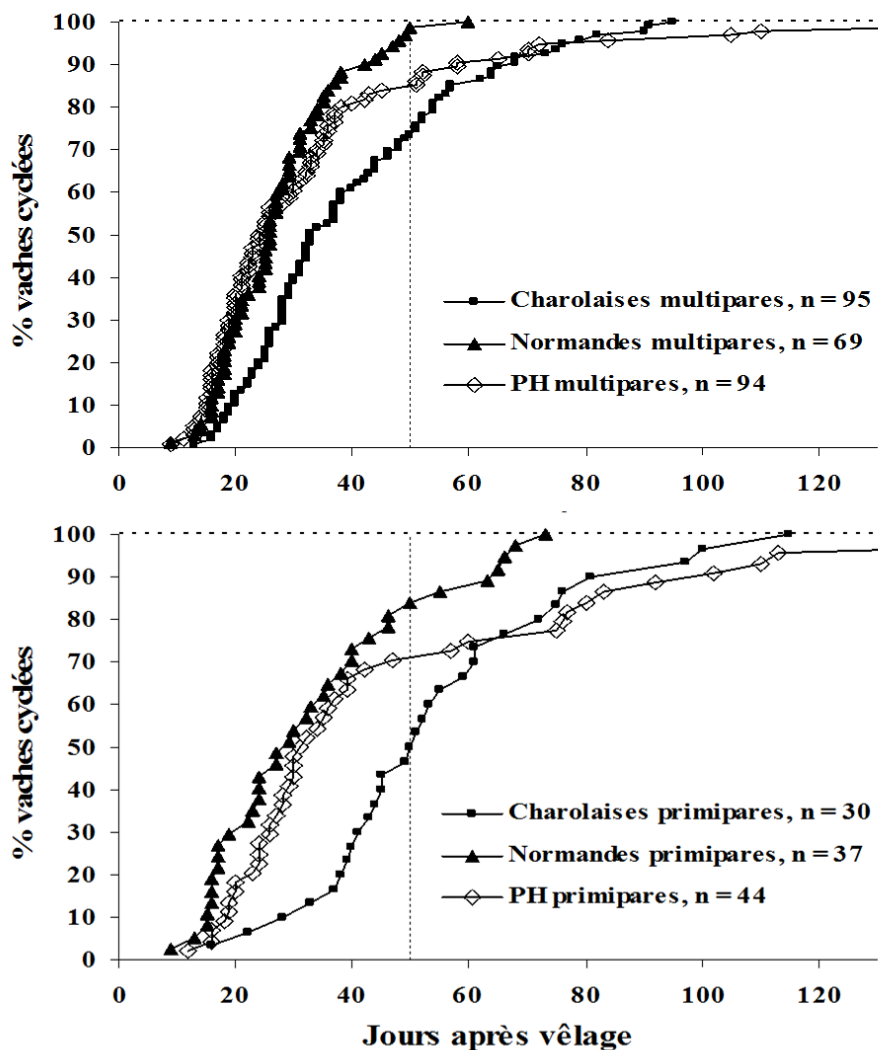


Figure 10 : Evolution de la proportion de vaches ayant repris leur cyclicité après vêlage selon la race et la parité (CO76)

- La durée des cycles a été étudiée à partir de 440 cycles normaux. Pour toutes les races, la durée la plus fréquente (mode) est 21 jours. Néanmoins, les PH ont une durée moyenne de cycle plus longue que celle de toutes les autres races ( $P < 0,001$ ). Cette tendance à l'allongement des cycles a été décrite par Royal et al. (2000a), qui a rapporté des deuxièmes cycles plus longs de 1,6 jour en 1995-1998 qu'en 1975-1982 (22,6 contre 21,0 jours), en incluant toutefois dans son analyse des cycles anormaux. Plus récemment, en excluant les anomalies, une durée moyenne de 23 jours a été rapportée en race Holstein (Sakaguchi et al., 2004 ; Sartori et al., 2004).
- La proportion de profils normaux sur la population est de 65 % (Tableau 9). Pour l'étude en station (CO76), les vaches de races PH ont présenté significativement moins de profils normaux ( $P < 0,01$ ) que les autres. Les profils retardés (R, INO) et les phases lutéales prolongées représentent les anomalies la plus fréquentes (10,6 % et 11,1 % des profils respectivement). L'enquête en station a fourni des résultats très originaux, permettant la comparaison entre races. Par exemple, les profils retardés (R+INO) ont concerné 19 % des 138 vaches en PH contre 8 % des 105 vaches NO. Les anomalies PLP ont également varié selon les races, avec plus de 20 % des vaches de race Holstein ayant présenté un profil PLP contre 8 % en race normande.

**Tableau 9 : Répartition des profils de cyclicité après vêlage en nombre de vaches pour les principales races laitières observés en ferme ou en station (d'après CO58, CO76)**

Référence	Prélèvements	Race	Nombre de vaches	N <sup>1</sup> (%)	R +INO (%)	PLP (%)	INT (%)
<b>CO58 (élevage)</b>	Lait, 1 fois par semaine entre 30 et 80 jours pp	Prim'Holstein	314	202 (73,5 %)	20 (7,3 %)	26 (9,5 %)	11 (4 %)
<b>CO76 (station)</b>	Lait, 2 ou 3 fois par semaine, du vêlage à la reproduction	Montbéliarde	36	24 (67 %)	9 (25 %)	0	7 (19 %)
		Normande	105	85 (81 %)	8 (8 %)	8 (8 %)	4 (4 %)
		Prim'Holstein	138	76 (55 %)	26 (19 %)	32 (23 %)	6 (4 %)

<sup>1</sup>N=profil normal ; R=profil retardé ; INO = inactivité ovarienne prolongée ; PLP = profil à phase(s) lutéale(s) prolongée(s) ; INT=interruption de cyclicité

- La fréquence des anomalies de cyclicité a été influencée par la production laitière et le rapport taux protéique sur taux butyreux (TP/TB) à 30 jours postpartum, ainsi que par la présence d'une pathologie postpartum et le délai d'apparition des premières chaleurs ( $p < 0,05$  ; Tableau 10 ; **CO57, CP33**). Un autre modèle incluant les évolutions de l'état corporel a montré l'intérêt de noter l'état corporel 30 jours après vêlage. Ces facteurs de risque sont cohérents avec les observations issues d'une large enquête épidémiologique (Opsomer et al., 2000). Cet auteur a quantifié les facteurs associés à l'allongement de l'intervalle vêlage – 1<sup>ère</sup> ovulation (les odds ratio sont indiqués entre parenthèses) : perte d'état corporel pendant les 30 premiers jours de lactation (18,7), symptômes de cétose (5,4), écoulement vaginal anormal (4,5) et vêlage (3,6). Le risque le plus élevé est associé à la perte d'état corporel, rapporté par d'autres auteurs (Overton and Waldron, 2004 ; Mulligan et al., 2006). Dès le vêlage et dans les 30 jours qui suivent, observer et noter les indicateurs d'état corporel et de production laitière permet une surveillance accrue des femelles susceptibles de présenter une anomalie de cyclicité après vêlage.

**Tableau 10 : Facteurs de variation associés aux anomalies de cyclicité chez la vache Prim Holstein haute productrice (2 modèles multivariés incluant des paramètres de production laitière ou d'état corporel au cours des 2 premiers mois de lactation, CO57, CP33)**

Référence	Facteur	Classe (effectif)	Odds ratio	% anomalies
Modèle 1 incluant les paramètres laitiers	Production laitière 30 jours après vêlage	Moyenne (158)	1	22,2
		Elevée* (85)	2,4	36,3
	Rapport TP/TB < 0,7 à 30 jours	Non (204)	1	25,0
		Oui (33)	3,0	39,4
CO57 (246 vaches)	Pathologie postpartum (pp)	Non (142)	1	16,9
		Oui (99)	4,0	40,4
	Intervalle vêlage – 1 <sup>ère</sup> chaleur		1,02	
Modèle 2 incluant les paramètres d'état corporel	Perte d'état corporel entre 0 et 60 jours après vêlage	< 1,5		51,2
		≥ 1,5		48,8
	Note d'état corporel 30 jours après vêlage	< 2		58,1
		2 – 2,5		23,2
		> 2,5		18,6
CP33 (241 vaches, anomalies = cycles retardés et phases lutéales prolongées)	Pathologie postpartum	Non		39,5
		Oui		60,5

\* ≥ 18 et 23 kg / traite respectivement pour les primipares et les multipares

Les profils observés sont cohérents avec les données de la littérature. D'après des données acquises au cours de ces 20 dernières années, seulement 50 à 70 % des vaches présentent des profils réguliers de cyclicité (Grimard et Disenhaus, 2005). Les profils d'anomalies les plus fréquents sont les PLP et les profils retardés (R+INO), représentant respectivement 12 à 35 % et 10 à 20 % des anomalies de cyclicité (Disenhaus et al., 2005 ; Grimard et Disenhaus, 2005). Les interruptions de cyclicité sont moins fréquentes même si trois études rapportent des populations ou sous-populations avec plus de 15 % d'interruptions (16 à 24 % ; Mann et al., 2005 ; Pedernera et al., 2008 ; Pollott et Coffey, 2008).

Il est classiquement admis que 80 à 90 % des vaches laitières reprennent leur cyclicité dans les 50 jours qui suivent le vêlage, avec une première ovulation survenant en général entre 25 et 45 jours après vêlage (Crowe et al., 2014). La fréquence des profils de cyclicité retardée a peu évolué selon Royal et al. (2000a), qui ont comparé des données de 1975-1982 en race Frisonne à des données de 1995-1998 en race Prim Holstein (11 contre 13 %). Cette estimation est très comparable aux proportions de profils retardés observés dans nos études (11 % ; CO58, CO76). Les pathologies du vêlage et du postpartum sont des facteurs de risque d'un retard de reprise de cyclicité après vêlage : vêlages difficiles, rétentions placentaires (Opsomer et al., 2000 ; McCoy et al., 2006), infections utérines Opsomer et al., 2000 ; Royal et al., 2002a), mammites ou boiteries sévères (Opsomer et al., 2000 ; Petersson et al., 2006b). S'il est vrai qu'une reprise trop tardive est jugée défavorable, une reprise trop précoce peut aussi s'avérer défavorable. Cette reprise précoce peut en effet être associée à une PLP (Opsomer et al., 2000).

En tout état de cause, l'augmentation de fréquence des profils PLP notifiée par la littérature (revue de Grimard et Disenhaus, 2005) concerne essentiellement la race PH. En Angleterre, Royal et al. (2000a) ont

rapporté une augmentation d'environ 11 % de la fréquence des PLP en 18 ans : respectivement 7 et 6 % de PLP à la première ovulation et aux ovulations suivantes sur 1975-1982, contre 18 et 17 % sur 1995-1998. Dans cette race, la proportion rapportée dans l'étude en station (23 %) est conforme aux descriptions antérieures (Pour les autres races, aucune référence n'est disponible). Cette augmentation des anomalies de cyclicité a été observée chez la vache laitière dans différents systèmes laitiers (**S8**, **CO58**, **CO76** ; Royal et al., 2002b ; Disenhaus et al., 2009 ; Cutullic et al., 2012b) et la proportion de profils PLP peut dépasser les 30 % (Pollott et Coffey, 2008 ; Shrestha et al., 2004), même chez les primipares (Windig et al., 2008). Les PLP sont fréquemment associées à des endométrites cliniques (Opsomer et al., 2000 ; Petersson et al., 2006a ; Royal et al., 2002a) et parfois, en amont, à des rétentions placentaires ou des vêlages difficiles (McCoy et al., 2006 ; Opsomer et al., 2000).

Les fréquences d'anomalies observées entre les deux études (élevage vs station) ont été assez différentes, avec un pourcentage d'anomalies plus élevé en station (45 % en station vs 27 % en élevage). Ces différences peuvent s'expliquer principalement par des périodes de prélèvements différentes après vêlage : entre 30 et 80 jours postpartum pour l'enquête en ferme (**CO58**) contre une période plus longue, s'étalant du vêlage à la mise à la reproduction pour l'enquête en station (**CO76**). Or, certaines anomalies sont observées précocement après le part : dans notre étude en station, l'anomalie PLP a été observée 1 fois au 1er cycle chez 24 vaches (63 %), au 2ème cycle chez 5 vaches (7 %), et au 3ème ou 4ème cycle chez 7 vaches (18 %). Une première ovulation précoce, dans les 21 premiers jours postpartum, augmente le risque de PLP selon de nombreux auteurs (Horan et al., 2005 ; Opsomer et al., 2000 ; Petersson et al., 2006a ; Smith & Wallace, 1998 ; Touzé et al., 2004 ; Windig et al., 2008). Même si les PLP sont le plus souvent précoces après vêlage, elles peuvent survenir sur des cycles plus tardifs et être confondues en cas d'insémination avec des mortalités embryonnaires tardives.

Par ailleurs, les différences observées entre les deux études peuvent s'expliquer également par les fréquences variables de prélèvements : 1 fois par semaine en ferme, contre 2 à 3 fois par semaine en station. Pour l'enquête en élevages, la fréquence hebdomadaire de prélèvements a pu conduire à ne pas détecter certaines anomalies et a induit des difficultés d'interprétation pour 6 % des profils, qui ont été classés comme « activité désordonnée », ne pouvant être attribué à aucun profil caractérisant une des anomalies décrites précédemment (**CO58**).

#### *2.2.4.2 Phénotypage comportemental de l'oestrus : des caméras aux activimètres*

En élevage, les éleveurs doivent faire face à ces variations de l'expression des chaleurs et de la cyclicité pour repérer les chaleurs. Seules les vaches qui ovulent et qui s'expriment auront des chaleurs détectables (Annexe 6.4, **CO116**). Pratiquement, la première détection de chaleurs est en moyenne notée autour de 2 mois postpartum (59 jours, **CO64**) et varie en fonction de la cyclicité des femelles entre 30 et 80 jours postpartum. La 1ère détection est plus tardive pour les vaches anormalement cyclées (78 vs 53 jours) et seules 31 % de ces vaches (vs 65% des vaches présentant une cyclicité normale) ont des chaleurs détectées avant la 1ère IA (**CO58**). Les éleveurs détectent plus fréquemment des signes manifestes et répétés lorsque les vaches sont normalement cyclées (Figure 11 ; Annexe 6.2, **S8** ; Annexe 6.4, **CO64**).

La détection est donc étroitement liée aux facteurs associés à la cyclicité, notamment les pathologies autour du vêlage et le profil d'état corporel (Tableau 11 ; **S8**). Dans un troupeau à très forte productivité laitière, le délai de mise à la reproduction n'est pas primordial, le coût de l'IA souvent important et les animaux le plus souvent en bâtiment. L'expression est faible, les anomalies de cyclicité fréquentes et les vêlages le plus souvent étalés sur tout ou grande partie de l'année (revue de Disenhaus et al., 2005).

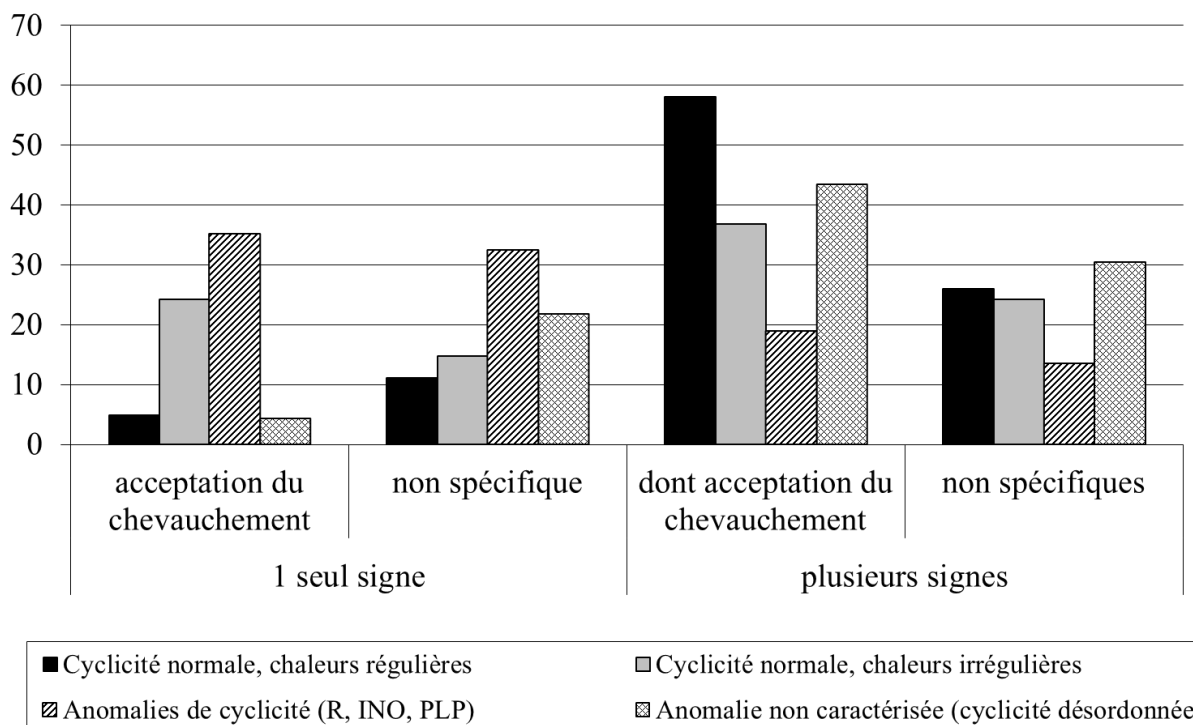


Figure 11 : Relation entre profil de cyclicité et modalités de détection de la première chaleur après vêlage chez 236 vaches Holstein issues de 10 troupeaux et suivies en 2004-05 (CO64, S8)

Tableau 11 : Facteurs influençant l'intervalle vêlage – 1ère détection de chaleurs (CO64)

Variable	Classe	Effet estimé <sup>1</sup> (jours)	P
Présence d'une pathologie postpartum	Non	Réf	0,001
	Oui	+ 11 jours	
Perte d'état entre 0 et 30 jours PP	< 1 point	Réf	0,004
	≥ 1 point	+ 8 jours	
Note d'état corporel aux 1ères chaleurs	≥ 2,5	Réf	0,02
	]1,5 – 2,5[	+ 5 jours	
	≤ 1,5	+ 16 jours	
Rang de lactation	Primipare	Réf	> 0,05
	Multipare	+ 2 jours	

<sup>1</sup> modèle multivarié, avec élevage en effet aléatoire, à partir de 353 vaches issues de 10 élevages

L'expression de l'oestrus était une caractéristique peu étudiée avant le développement des automates qui a explosé au cours de la dernière décennie (pour revue Saint Dizier et Chastant-Maillard et al., 2012). La durée de l'oestrus, de la première à la dernière acceptation du chevauchement, était évaluée à 18-20 h dans les années 1980. Toutefois, cette durée tend à raccourcir, notamment chez les vaches de race Prim Holstein (Kerbrat and Disenhaus 2004; Lucy 2007). Dans cette race, l'intervalle entre la première et la dernière acceptation du chevauchement est désormais de 4 à 8 heures et la durée de l'oestrus varie

entre 11 à 14 h si l'on prend en compte d'autres signes de chaleurs (Van Eerdenburg et al. 1996; Kerbrat and Disenhaus 2004; Roelofs et al. 2005a,b). Il a été rapporté que près de 60 % des ovulations ne sont pas accompagnées d'acceptation du chevauchement (Van Eerdenburg et al. 1996; Kerbrat and Disenhaus 2004; Roelofs et al. 2005a). L'acceptation du chevauchement constitue le comportement spécifique de l'œstrus, celui-ci étant exprimé uniquement lors des périodes de chaleurs. Ainsi, l'éleveur a très peu de chances de se tromper en basant la détection uniquement sur ce signe. Une vache manifestant une seule acceptation du chevauchement est alors considérée en chaleurs et peut être inséminée.

Les résultats du projet DETOESTRUS ont montré que même pour les races allaitantes, les acceptations du chevauchement sont rares (CO98) et fugaces (quelques secondes), ce qui rend cette pratique peu sensible et peut conduire à une proportion élevée d'œstrus non détectés. Au total cinq expérimentations ont été réalisées entre 2008 et 2010. Trois ont porté sur des vaches Charolaise (deux essais à l'Unité Expérimentale des Monts d'Auvergne sur le site de Laqueuille et un à l'INRA de Bourges). Les deux autres expérimentations ont concerné des vaches Limousine (LI) et Blonde d'Aquitaine (BA) et ont été respectivement menées au lycée agricole des Vaseix (87) et à l'EARL Terre Blonde à Monflanquin (47). L'UNCEIA était en charge de l'encadrement de l'expérimentation menée au lycée des Vaseix. Ce projet a permis un phénotypage original des œstrus à partir d'enregistrement vidéo : le repérage des dates certaines des œstrus a été permis grâce à la confrontation de toutes les mesures collectées (dosages de progestérone, observations visuelles ou détection par le taureau, enregistrements vidéo). Ainsi, pour chaque œstrus repéré, une séquence vidéo couvrant 36 heures de temps réel et centrée sur la période d'acceptation des chevauchements, a été extraite pour être dépouillée. Parallèlement, une séquence de phase lutéale de même durée, de même calage horaire et sans autre femelle en chaleurs, a été extraite des enregistrements vidéo. Cette séquence de phase lutéale visait à établir le profil comportemental de référence de la femelle considérée. Les données comportementales filmées ont été dépouillées à l'aide du logiciel The Observer® en utilisant un éthogramme commun pour l'ensemble des expérimentations. Un profil comportemental a été représenté pour chaque type de comportement, indiquant l'évolution au cours du temps de la fréquence (nombre par ½ h) des comportements exprimés (Figure 12).

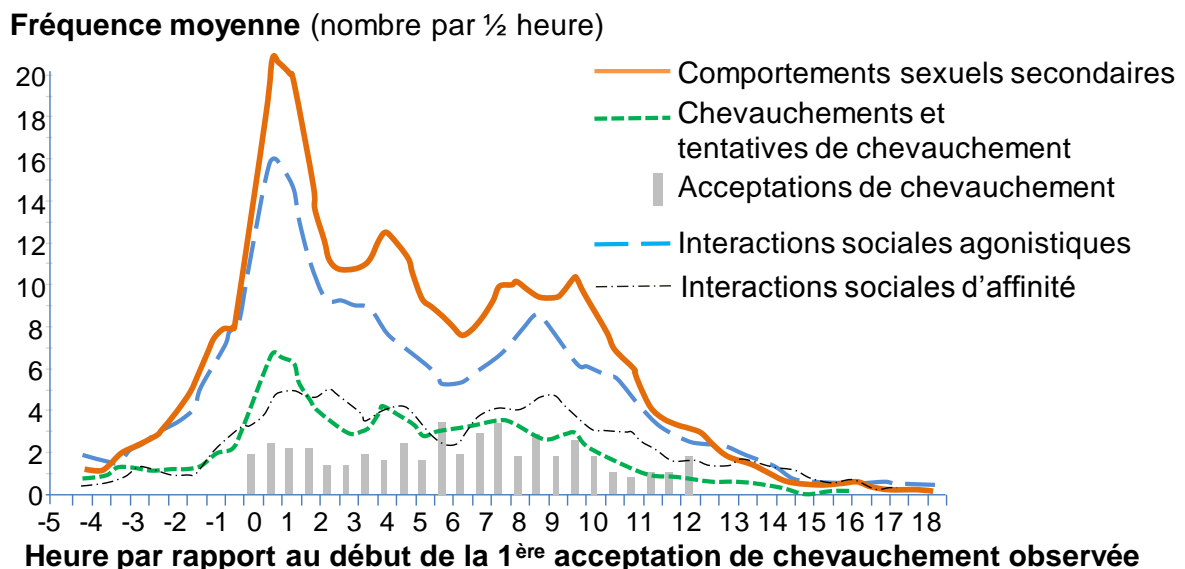


Figure 12 : Profils comportementaux moyens obtenus en phase œstrale chez les vaches Blonde d'Aquitaine (n=20, CO98)

Ce phénotypage original a permis une caractérisation précise des manifestations comportementales en races allaitantes, complétant ainsi les données publiées en race Prim Holstein (Kerbrat and Disenhaus 2004; Roelofs et al. 2005a,b). Il a été observé que les signes sexuels secondaires sont exprimés pendant 11 à 12 heures à raison de 34 signes en moyenne par demi-heure (**CO98**). Cependant, ces comportements sont aussi exprimés, dans une moindre mesure, en dehors des périodes de chaleur et sont de ce fait moins spécifiques que l'acceptation du chevauchement.

Le temps passé debout augmente d'environ 30 % lors des chaleurs (**CO98**) et devrait donc être pris en compte pour permettre, en théorie, d'augmenter l'efficacité de la détection. Cet indicateur est difficile à appréhender de façon visuelle, mais est intégré dans les systèmes automatisés récents (podomètres) permettant de détecter les chaleurs (pour revue Saint Dizier et Chastant-Maillard et al., 2012). D'après Rasininghe et al (2010), les ovulations qui ne sont pas précédées d'une augmentation de l'activité pédométrique représentent respectivement 55,2 %, 23,8 %, 21,3 %, et 10.5 % des 1ère, 2ème, 3ème et 4<sup>ème</sup> ovulations postpartum chez la vache laitière. Il est intéressant de noter que les productions laitières élevées augmentent le risque d'occurrence des ovulations silencieuses. Dans ces conditions, pouvoir disposer d'automates permettant un recueil systématisé et exhaustif des comportements est un enjeu important pour les éleveurs laitiers (Annexe 6.2, **S8**).

L'évaluation de nouvelles méthodes automatisées a également fait l'objet de projets auxquels j'ai participé. Deux grandes familles de nouvelles technologies se sont développées au cours des dix dernières années. Une première famille se base sur la détection des activités et mouvements des vaches. Il s'agit des podomètres de nouvelle génération et des activimètres. Tous ces systèmes sont basés sur i) l'enregistrement en continu de l'activité de chaque vache : déplacement, temps couché, temps debout, et pour les activimètres : mouvements de la tête, de l'encolure...ii) le traitement de cette information par des algorithmes de calcul propres à chaque système permettant une comparaison automatique avec l'activité de la vache (et/ou du troupeau) les jours précédents, iii) une alerte donnée à l'éleveur (**S8**). Le capteur peut être posé aux membres ou en collier sur la vache. Plusieurs enquêtes ont concerné le dispositif HEATIME® (**CO110**), puis la comparaison de plusieurs dispositifs automatisés de détection, alors que les collaborations avec le centre d'Élevage de Poisy ont permis de proposer une méthode rapide de dépouillement d'enregistrements vidéo (Annexe 6.1, **A12** ; Annexe 6.4, **CO127**).

#### **2.2.4.3 Phénotypage de l'oestrus pour la détection de phéromones**

*Le travail d'identification des molécules chimiques a été réalisé dans le laboratoire de Patricia Nagnan le Meillour (UMR CNRS/USTL 8576, UGSF, Lille) et à conduit au dépôt d'un brevet (INRA FR 1052329 ; Chrystelle Le Danvic, Patricia Nagnan-Le Meillour, Patrice Humblot, Philippe Chemineau, Olivier Gérard, Christine Briant) et au développement d'un spray commercialisé par IMV (Pherobull®, IMV Technologies), visant à stimuler la libido des taureaux. Ces travaux ont été valorisés sous forme d'un article scientifique (annexe 6.1 ; **A30**) et de communications scientifiques (annexe 6.4 ; **CO107, CO130**).*

*J'ai repris la supervision de ce projet en 2010, en tant que Directrice scientifique de l'UNCEIA. J'ai notamment suivi la valorisation scientifique du travail, les échanges et la contractualisation avec IMV. J'ai également contribué à la poursuite de cette thématique, en favorisant le recrutement de Chrystelle Le Danvic comme chargée de projet de recherche à l'UNCEIA (recherche de financements) et en m'impliquant dans la conception et la rédaction d'un projet de recherche, dénommé REPROBIO (REPROBIO : Maîtrise de la REproduction dans les élevages de Petits Ruminants s'inscrivant dans un Objectif d'élevage BIOlogique).*

*Ce projet a été déposé et labellisé par le CASDAR en 2012. REPROBIO (2013-2015) a pour objectif d'améliorer la gestion de la reproduction chez les espèces saisonnées (ovins, caprins), en développant de nouvelles technologies : détecteurs automatisés de chaleurs et utilisation des phéromones comme alternatives à l'induction et à la synchronisation des ovulations. Lors du dépôt de ce projet, je représentais l'UNCEIA, organisme chef de file de ce projet.*

Chez les bovins, comme chez la plupart des Mammifères, la communication chimique accompagne seule, ou en combinaison avec d'autres stimuli (tactiles, auditifs ou visuels) les événements de reproduction (Rekwot et al., 2001). Lorsque des liquides physiologiques (salive, liquide vaginal, lait, urine, faeces) prélevés en période oestrale et di-oestrale ont été présentés à des taureaux, il a été possible de discriminer les deux stades du cycle (Kiddy et al., 1984 ; Rivard et al., 1989 ; Sankar et al., 2004). Le travail d'identification de molécules chimiques spécifiques de l'oestrus a impliqué 32 vaches (Prim Holstein et Montbéliarde) issues de deux stations expérimentales (INRA-UEPAO Nouzilly et UNCEIA Chateauvillain ; Annexe 6.1, **A30**).

Au cours du travail expérimental, les femelles ont été synchronisées à l'aide de deux injections successives de prostaglandines et l'oestrus a été caractérisé à l'aide d'observations visuelles (2 fois par jour) et de dosages répétés de progestérone et de LH réalisés toutes les 6 heures après la 2<sup>nd</sup>e injection de prostaglandines. Des prélèvements d'urine (et de mucus vaginal lorsque c'était possible) ont été prélevés lors des mictions naturelles, 3 fois par jour, afin de cibler la période de pré-oestrus et d'oestrus (en fonction de l'occurrence du pic de LH et de l'observation d'acceptations du chevauchement). Seules les vaches ayant présenté une ovulation (vérifiée par l'occurrence d'un pic de LH suivi par une augmentation de progestérone) ont été prises en compte (18 vaches sur 32). Après congélation à -20°C, les prélèvements ont été extraits (méthode à base de dichlorométhane), puis les extraits ont été concentrés puis analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

L'analyse différentielle des spectres obtenus en période pré-oestrale, oestrale et en période lutéale a permis l'identification de 6 composants spécifiques de l'oestrus, dont cinq ont pu être comparés à des réactifs standards, disponibles commercialement : dichlorométhane (DCM), éthanol, glycérol, 1,2-dichloroéthylène (DCE), coumarin (C), squalène (SQ), acide oléique (OA), 2-butanone (B). Ces molécules ont été sélectionnées en fonction de leur présence (ou augmentation des quantités détectées) autour de l'ovulation, puis leur activité biologique a été testée en combinant différentes molécules sous forme d'un spray, pulvérisé dans les naseaux de taureaux d'insémination : l'effet du mélange des différents composants a été apprécié par l'augmentation de la libido des taureaux d'IA (diminution des intervalles de temps avant saut et éjaculation) et l'évolution de la quantité et qualité du sperme collecté.

Lorsque le mélange 2-butanone et acide oléique synthétique a été présenté aux taureaux, les intervalles de temps avant saut et éjaculation ont été diminués de 33 % et 21 % respectivement ( $p < 0.05$ ). La combinaison "squalène + 1,2-dichloroéthylène" a induit une augmentation de la quantité du sperme de 9 % ( $p < 0.05$ ). L'acide oléique a été considéré comme phéromone sexuelle chez le buffle, induisant une érection et une activité de chevauchement après détection (Rajananarayanan et al., 2011). Le squalène est décrit comme une phéromone mâle chez le panda géant (Zhang et al, 2008). Ces résultats originaux et prometteurs ont justifié pleinement le projet initié chez les petits ruminants.

**En conclusion, j'ai contribué à l'acquisition de nouvelles connaissances caractérisant les évènements autour de l'ovulation grâce à ces différentes méthodes de phénotypage de l'oestrus, notamment l'expression de l'oestrus, les caractérisations hormonale et phéromonale des périodes oestrales. Ces connaissances ont été soit valorisées en partenariat avec l'industrie, soit transférées aux éleveurs.**

**En complément, un travail conséquent de développement a été réalisé à partir d'enquêtes auprès des éleveurs et des techniciens, afin de mieux appréhender les freins et leviers associés à la détection des chaleurs, notamment dans le cadre du projet DETOESTRUS (annexe 6.5 ; CO111, CO115, CO119). Ces travaux ont donné lieu à de nombreuses actions de formation et de sensibilisation des éleveurs (plaquettes 4 pages, articles de vulgarisation détaillés en annexe 3 ; annexe 6.4, CO119).**



## 2.2.5 Apports de la génomique fonctionnelle pour le phénotypage de la santé reproductive

*Les projets de génomique fonctionnelle ont été initiés par Patrice Humblot en 2006 via l'appel d'offre GENANIMAL proposé par l'Agence Nationale pour la Recherche (ANR), qui a facilité la réalisation de plusieurs projets multi-partenariaux. Dans ce cadre, j'ai participé à 6 projets de recherche nationaux, financés par l'ANR et/ou co-financés par APIS-GENE (EMBRYOGEN, EMMA, OVOGENAE2, MEETAC, REPROSEQ, VALOPROT ; Annexe 12).*

*Les approches «omiques» ont été appliquées à l'analyse de différentes cellules et tissus impliqués dans la qualité et la maturation des gamètes, le développement embryonnaire et l'implantation afin d'identifier les gènes associés aux étapes précoces de la gestation. L'utilisation conjointe de biotechnologies liées à l'embryon, de cultures primaires de cellules du tractus génital et de profils métaboliques et hormonaux ont permis de définir des modèles animaux aux performances contrastées. Mon rôle dans les projets initiés avant 2009 (EMBRYOGEN, EMMA, OVOGENAE2, MEETAC) a consisté à encadrer l'utilisation de données issues du réseau UNCEIA, à suivre, à superviser les travaux réalisés à la station expérimentale de Chateaufvillain et à veiller à la valorisation des résultats pour la filière insémination.*

*Par ailleurs, j'ai directement impulsé et participé à la rédaction des projets REPROSEQ et VALOPROT, qui ont été labellisés et financés par APIS-GENE. J'ai également rédigé et déposé deux projets soumis à l'appel d'offre ANR BIOADAPT : REBECA visait à étudier en collaboration avec Gilles Charpigny et Olivier Sandra (INRA Jouy en Josas) des stratégies de mitigations / compensations de restrictions alimentaires chez des femelles et les conséquences épigénétiques sur la génération suivante ; PUBERTI, rédigé en collaboration avec Anne Duittoz (INRA Nouzilly) visait à investiguer le contrôle central de la puberté. Ces deux projets n'ont pas été retenus. Puis, en 2012, j'ai participé à la construction de 2 projets européens qui ont été labellisés (FECUND, PROLIFIC). Ces deux projets ont marqué un tournant dans mon activité de recherche : ce fut une première expérience réussie de travail multipartenarial au sein d'un consortium international. Ce travail m'a conduit, en tant que Directrice Scientifique de l'UNCEIA, à construire une nouvelle stratégie de recherche pour l'équipe du département R&D de l'UNCEIA, à concevoir et définir les modèles expérimentaux, prévoir le budget prévisionnel des projets et ainsi obtenir des subventions conséquentes pour financer les projets de recherche de notre département.*

*Ces activités de recherche m'ont donné l'opportunité de participer à l'encadrement de 3 thèses d'université, dans le cadre de contrats CIFRE financés par l'UNCEIA (Leslie Angulo, Amanda Cordova, Damien Valour ; annexe 4.2). Les résultats obtenus ont donné lieu à quatre publications scientifiques dans des revues internationales, rédigées par les doctorants (Annexe 6.1 ; **A16, A17, A20, A26**), à deux articles de synthèse (Annexe 6.2 ; **S11, S19**), plusieurs communications scientifiques (Annexe 6.4 ; **CO55, CI117, CO118, CO120, CO114, CO122, CO140, CO155**) et conférences invitées (Annexe 6.5 ; **CI25, CI26, CI27, CI28**).*

La génomique fonctionnelle vise à déterminer la fonction des gènes à partir de leurs produits d'expression (ARN et protéines ; [www.ens-lyon.fr/RDP/glossaire-lettre-G](http://www.ens-lyon.fr/RDP/glossaire-lettre-G)). Elle permet de recueillir de nouveaux phénotypes, plus précis et plus détaillés, de la fonction étudiée. Ce phénotypage vertical (mesure de plusieurs phénotypes de plus en plus fins concernant une famille de caractères) est d'autant plus important que la fertilité est une fonction complexe, reposant sur plusieurs caractères mâles, femelles et sur leurs interactions. Outre la production de gamètes aptes au développement, cette interaction correspond à la capacité de la femelle à transporter, sélectionner et préparer les spermatozoïdes d'un mâle donné, à assurer un microenvironnement propice à la fécondation puis au développement embryonnaire précoce. Le dialogue entre l'embryon et l'environnement maternel se

poursuit ensuite pour aboutir à l'implantation de l'embryon. Chacune de ces étapes précoces est déterminante pour le développement du placenta et du fœtus. Elles forment une « boîte noire » à l'intérieur de laquelle les méthodes classiques de phénotypage de la fertilité (taux de non-retour, taux de vêlage) ne permettent pas de déterminer les mécanismes physiologiques précis qui sont en cause dans le succès ou l'échec de l'IA.

### 2.2.5.1 Phénotypage vertical de la santé reproductive

Des approches verticales de phénotypage ont donc été développées et m'ont permis de participer à la conception et à la réalisation de plusieurs modèles expérimentaux contrastés, ciblant les périodes clés du début de la gestation, que sont la fécondation, les premiers stades de développement embryonnaire et la période péri-implantatoire, ainsi que les interactions avec le métabolisme énergétique. Les modèles *in vivo* font appel à des animaux présentant des génotypes ou des phénotypes extrêmes de fertilité qui ont servi à l'identification des gènes et protéines différentiels, alors que les modèles *in vitro* sont principalement basés sur des méthodes de culture cellulaire et/ou co-culture d'embryons (Tableau 12 ; Annexe 6.2, **S11, S19**).

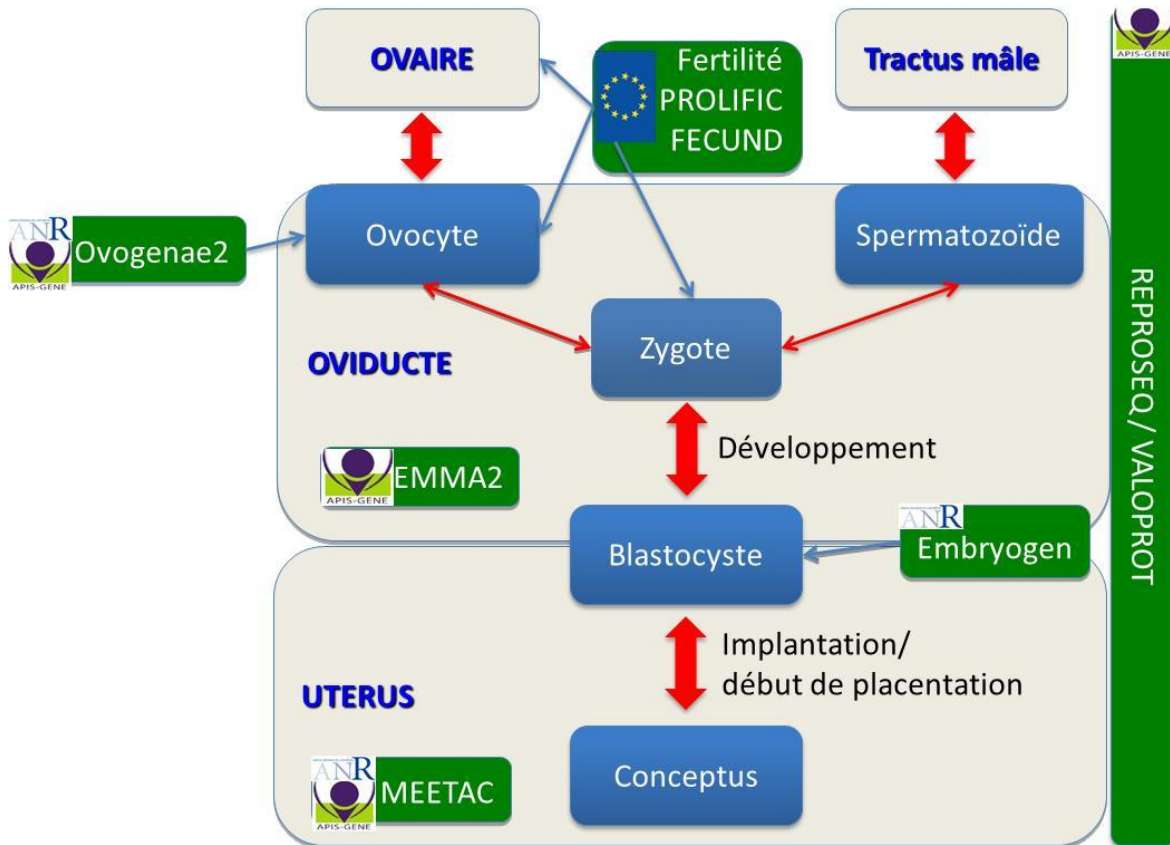
**Tableau 12 : Modèles animaux expérimentaux de fertilité contrastée utilisés pour des approches de génomique fonctionnelle (modifié d'après S11)**

Projet	Modèle expérimental
EMBRYOGEN	Donneuses Prim Holstein de statut énergétique contrasté (génisses, vaches en début ou en milieu de lactation) ; embryons collectés <i>in vivo</i> à 18 j après insémination
EMMA 1, 2	Modèle <i>in vitro</i> basé sur la co-culture d'embryons avec des cellules d'oviductes
FECUND	Génisses Holstein et Montbéliardes recrutées selon leur index fertilité (haut/bas) mais avec des index lait homogènes
GENIFER	Femelles Prim Holstein avec différents profils de réussite à l'IA, entre 0 et 90 j
OVOGENAE 1, 2	Donneuses extrêmes sur la qualité de l'ovocyte, présentant des taux de développement contrastés par OPU-FIV ; COC maturés <i>in vivo</i> ou <i>in vitro</i>
MEETAC	-Receveuses d'embryons présentant ou non des échecs de gestation après TE -Infusion intra-utérine d'interféron-tau (IFNT) <i>in vivo</i> à 14 j post-oestrus
PROLIFIC	Génisses Holstein conduites selon une alimentation normale ou soumise à une restriction alimentaire prolongée

L'utilisation des biotechnologies liées à l'embryon (collecte d'ovocytes par ovum pick up et fécondation *in vitro* (OPU-FIV ; Annexe 6.1, **A16, A26**) ou collecte d'embryons *in vivo* après superovulation ; **A26**, Thélie et al., 2007), des techniques de chirurgie (biopsies de tissu adipeux ; Coyral-Castel et al., 2010), d'imagerie *in vivo* (Kölle et al., 2010), ainsi que des cultures primaires de cellules d'oviducte (Annexe 6.1, **A20**) et d'endomètre (Mansouri-Attia et al., 2009) ont été développées, permettant de multiplier les approches verticales de phénotypage (Figure 13 ; Annexe 6.2, **S11, S19**). Les nouvelles biotechnologies disponibles élargissent les possibilités d'investigation, de la collecte d'embryons dans l'oviducte par endoscopie, aux biopsies de cellules embryonnaires pour le génotypage (cf paragraphe 2.2.3), en passant par le diagnostic pré-implantatoire d'animaux modèles (cf 2.3.3), ou encore les biopsies de cellules utérines à différents stades de gestation (Salilew-Wondim, 2010).

Des outils dédiés ont été élaborés au cours des programmes, permettant d'étudier spécifiquement les gènes impliqués dans certaines étapes. Par exemple, une membrane d'ADNc ovocyte-spécifique a été élaborée avec le CRB-GADIE (Centre de Ressources Biologiques pour la Génomique des Animaux

Domestiques et d'Intérêt Economique, Jouy-en-Josas, France) dans le programme OVOGENAE ; une puce dédiée à la fonction de reproduction comportant 22 000 oligonucléotides (réseau 22 K) a été utilisée dans plusieurs projets (EMBRYOGEN, OVOGENAE, MEETAC ; Annexe 12). Pour l'approche micro-array, des outils génériques bovins (Affymetrix, Agilent) ont aussi été utilisés. L'avantage des outils dédiés est la présélection des oligonucléotides déposés sur la lame, alors que les outils génériques permettent la comparaison avec d'autres travaux de recherche. Des travaux importants de validation et d'annotation des outils dédiés ont été réalisés dans les différents programmes en collaboration avec l'équipe SIGENAE. Le réseau 22 K a été globalement réannoté. En outre, dans le cadre du projet OVOGENAE, certains de ces oligonucléotides ont été analysés individuellement permettant d'identifier certains gènes inconnus (A16, S11).



**Figure 13 : Principaux tissus / étapes de la gestation ciblés par les projets de génomique fonctionnelle (logos indiquant le financement des projets : ANR, APIS-GENE et Union Européenne)**

J'ai choisi d'illustrer ces approches de phénotypage à partir du modèle *in vivo* utilisé dans OVOGENAE (donneuses d'ovocytes présentant des taux de développement contrastés ; Annexe 6.1, A16, A26). Les projets OVOGENAE 1 et 2 ont largement impliqué la station expérimentale de l'UNCEIA basée à Chateaufvillain, qui a réalisé un travail conséquent de collecte et caractérisation d'ovocytes collectés par OPU-FIV. Les résultats d'OVOGENAE m'ont également conduit à réfléchir au projet REPROSEQ, avec l'objectif de lier les phénotypes originaux obtenus dans les projets de phénotypage vertical au génotype des femelles, en appliquant notamment des approches de séquençage à ces femelles présentant des phénotypes extrêmes. Enfin, ce projet illustre mes fonctions d'encadrement, avec les travaux de l'équipe de la station de Chateaufvillain et le suivi d'une thèse co-financée par l'UNCEIA et accueillie à l'INRA de Nouzilly (Leslie Angulo, encadrée par Rozenn Dalbies-Tran). Les principales connaissances acquises au cours des autres projets de génomique fonctionnelle ciblant la qualité des gamètes, le développement

embryonnaire précoce jusqu'au stade blastocyste et la période péri-implantatoire sont synthétisées dans une revue à laquelle j'ai contribué (Annexe 6.2, **S19**).

### ***2.2.5.2 Phénotypage des ovocytes et des cellules du cumulus : apports de la transcriptomique***

Au cours de sa croissance puis de sa maturation au sein du follicule ovarien, l'ovocyte stocke des ARN et des protéines qui vont par la suite lui permettre d'acquérir la capacité à être fécondé puis à soutenir le début du développement embryonnaire. La croissance folliculaire terminale et la maturation ovocytaire sont des phases critiques au cours desquelles l'ovocyte acquiert sa compétence de développement. L'ovocyte est entouré de plusieurs couches de cellules, formant le cumulus qui jouent un rôle essentiel dans l'acquisition par l'ovocyte de sa compétence à soutenir le développement embryonnaire. Des expériences de génomique fonctionnelle dans les espèces modèles (drosophile, souris) ont mis en évidence le rôle crucial de certains gènes ovocytaires pour le développement embryonnaire. Pendant sa phase de croissance, la transcription est très intense dans l'ovocyte, puis elle diminue lorsque ce dernier approche de sa taille finale (Mamo et al., 2011). L'expression des gènes au cours de la maturation est principalement sous contrôle post-transcriptionnel, impliquant une proportion substantielle de transcrits maternels. Les transcrits peuvent être conservés et protégés de la dégradation et du processus de traduction jusqu'à leur recrutement et les phénomènes d'adénylation cytoplasmique. Inversement, d'autres transcrits subissent une dé-adénylation après fécondation, une fois que les protéines deviennent redondantes (pour revue Graindorge et al. 2006). L'aptitude de l'ovocyte à générer un embryon viable est donc associée à un répertoire d'expression génique complexe dans l'ovocyte et les cellules du cumulus au cours de la maturation. Les liens entre le follicule et l'ovocyte, et notamment les cellules de la granulosa sont déterminants pour la compétence de développement de l'ovocyte (Charlier et al., 2012b ; pour revue Sirard, 2014).

Le modèle expérimental des projets OVOGENAE s'est appuyé sur le phénotypage de 13 femelles de race Montbéliarde, ayant déjà donné naissance à au moins un veau. Des collectes d'ovocytes répétées ont été réalisées après synchronisation et superovulation (Guyader-Joly et al. 1997), afin de collecter des ovocytes aux stades immature ou mature (Annexe 6.1, **A16**, **A26**). Les ovocytes immatures ont été maturés pendant 22–24 h à 38.5°C sous atmosphère humidifiée contenant 5 % de CO<sub>2</sub> (Guyader-Joly et al. 1999), puis fécondés en utilisant la semence d'un taureau unique puis cultivés en micro-gouttes sous huile dans un système de cellules Vero (**A26**). Le phénotype de chaque donneuse a été obtenu à partir de 4 sessions d'OPU-FIV : les taux de segmentation après 2 jours de culture ont été estimés à partir des nombres d'ovocytes inséminés et les taux de blastocystes développés à 7 jours ont été calculés à partir des nombres d'ovocytes inséminés et d'embryons segmentés. Les taux de développement ont varié de 0 à 62 % entre les donneuses, ce qui est cohérent avec les données publiées pour la race Montbéliarde et Simmental (Tamassia et al. 2003; Machado et al. 2006). Des analyses de classification hiérarchique ont permis de discriminer des groupes de donneuses en fonction de la compétence de développement des ovocytes collectés (Faible, F ; Intermédiaire, I ou Elevée, E ; Figure 14). Le groupe E, constitué de 4 femelles [C3, C5, C8, C10] a présenté des taux de développement supérieurs à 40,9 %, alors que le groupe F, incluant 7 femelles [C1, C2, C4, C7, C9, C12, C13] a présenté des taux de développement inférieurs à 18,8 %. Les performances des deux dernières femelles [C6 et C11] ont été considérées comme intermédiaires.

A partir de ce travail, 6 femelles de phénotypes extrêmes, 3 du groupe E [C5, C8 et C10] et 3 du groupe F [C2, C4 et C9] ont été sélectionnées pour les études de transcriptomiques visant à comparer les ovocytes aux stades mature et immature. L'ARN a été extrait à partir de pools de 15 ovocytes par stade pour chaque animal, selon le protocole de Thélie et al. (2009). La puce dédiée à la fonction de reproduction comportant 22 000 oligonucléotides (réseau 22 K), élaborée avec le CRB-GADIE, a été utilisée à partir du

dispositif suivant : pour chaque stade ovocytaire, 3 extraits d'ARN du groupe E ont été hybridés séparément et comparés à deux extraits du groupe F [C5 vs C2; C5 vs C4; C8 vs C4; C8 vs C9; C10 vs C2; C10 vs C9], correspondant à un total de 12 puces par stade.

Au total, 60 et 135 gènes (correspondant à 1 % des gènes présents sur la puce) ont été exprimés différemment entre les groupes E et F, aux stades immature et mature respectivement. Parmi cette liste, 7 et 15 gènes ont présenté un ratio d'expression différentielle (Fold Change) d'au moins 2 entre les deux conditions pour les stades immature et mature respectivement, avec un ratio maximal de 4. Ces variations d'amplitude assez faible peuvent s'expliquer partiellement par le dispositif expérimental : les deux groupes étaient relativement similaires sur le plan physiologique, avec des collectes réalisées dans une station unique, avec un protocole standard de superovulation, afin de limiter les variations d'expression génique associés à ces facteurs (Romar et al. 2011; Chu et al. 2012; Dorji et al. 2012; Labrecque et al. 2013). Ces variations modérées d'expression génique au niveau ovocytaire ont également été rapportées par d'autres auteurs (Dessie et al. 2007; Torner et al. 2008; Labrecque et al. 2013). L'utilisation de pools d'ovocytes peut aussi atténuer les différences puisque les ovocytes d'un même pool ne présentent pas tous la même compétence de développement. Enfin, il faut aussi tenir compte du fait que les ovocytes aux stades étudiés sont en phase de contrôle post-transcriptionnel, avec une activité de transcription limitée qui peut expliquer les résultats observés.

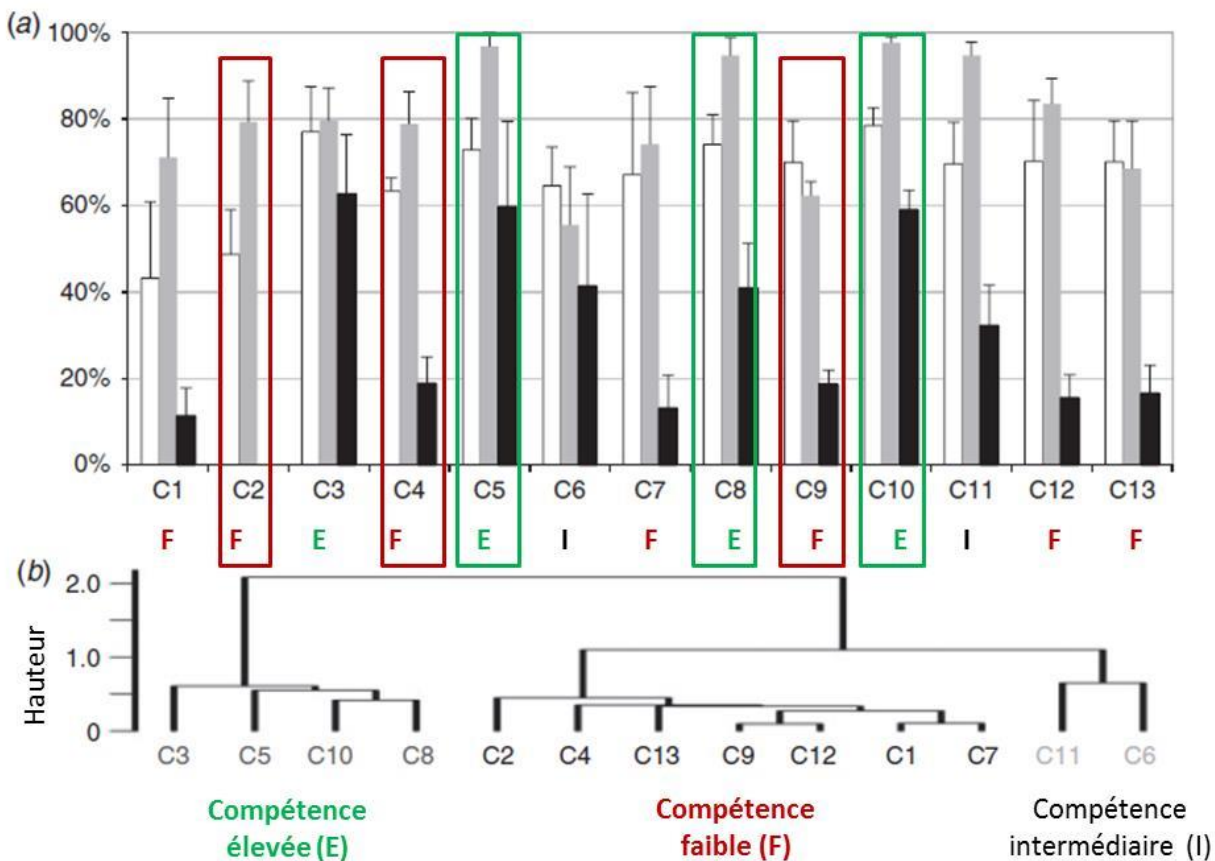


Figure 14 : Phénotypes de qualité ovocytaire chez 13 femelles de race Montbéliarde. (a) % d'ovocytes de qualité 1 et 2 (blanc), % segmentation à partir des ovocytes inséminés (gris) et % embryons développés à partir des embryons segmentés (noir) pour chaque animal. (b) Classification hiérarchique des femelles selon la compétence de développement (Elevée, Intermédiaire et Faible). La hauteur est proportionnelle à l'inertie intra-cluster.

Les gènes ont été positionnés sur le génome bovin et leur position analysée par rapport aux marqueurs de fertilité (QTL, Quantitative Trait Loci pour l'intervalle vêlage – 1<sup>ère</sup> insémination, Taux de non retour à 56 jours) connus dans les 3 principales races laitières françaises (Montbéliarde, Holstein and Normande). Il est intéressant de noter que 17 et 33 gènes différentiels pour les stades immature et mature respectivement, appartiennent à des QTLs de fertilité.

Après l'étape d'analyse *in silico*, un panel de gènes a été sélectionné pour validation individuelle par amplification RT PCR, à partir des critères suivants : i) gènes ayant présenté un ratio d'expression différentielle d'au moins 2 entre les deux groupes, ii) gènes affectant les deux stades ovocytaires, iii) gènes présents sur des QTLs. Pour ces analyses moléculaires, du matériel biologique supplémentaire a été collecté à partir de 5 femelles du groupe F (11 pools d'ovocytes immatures et 10 pools d'ovocytes matures) et 3 femelles du groupe E (9 pools d'ovocytes immatures et 9 pools d'ovocytes matures). Des amplifications inversées (RT PCR) ont été réalisées à partir de l'ARN total extrait des pools (Thélie et al., 2007). Pour certains gènes, des difficultés techniques ont été rencontrées. Néanmoins, 10 transcrits ont été analysés à partir du stade immature, confirmant les résultats obtenus à partir des puces.

A partir des 14 transcrits analysés au stade mature, 10 transcrits ont été confirmés par RT PCR (7 et 3 sur-exprimés dans les ovocytes issus du groupe F et E respectivement). De plus, plusieurs gènes différentiellement exprimés sont associés à l'acétylation des histones : c'est le cas des transcrits MEAF6 (MYST/Esa1-associated factor 6 ; protéine nucléaire impliquée dans l'activation de la transcription, composant des acétyltransférases) et VIM (Vimentine, composant des filaments du cytosquelette, impliqué dans le maintien de l'intégrité du cytoplasme). Ces deux gènes n'avaient jamais été associés au potentiel de développement ovocytaire. C'est également le cas de HDAC1 (histone déacétylase). Ces données suggèrent que la dys-régulation de l'acétylation des histones peut affecter la compétence ovocytaire et le développement embryonnaire ultérieur.

Ces données complètent d'autres approches de transcriptomique, basées sur la comparaison d'ovocytes et/ou de cellules du cumulus :

- analysés avant et après maturation (Regassa et al., 2011; Charlier et al., 2012b),
- collectés sur des femelles présentant des génotypes favorables (Fertil+) ou défavorables (Fertil-) de fertilité, en lien avec un QTL de fertilité localisé sur le chromosome 3 (Coyral-Castel et al., 2012; Brisard et al., 2014) et impliquant des gènes différentiellement exprimés en lien avec le métabolisme énergétique.
- collectés à partir de génisses Holstein en bonne santé ou provenant d'un groupe de génisses ayant présenté des échecs répétés de reproduction (Repeat Breeding) : un total de 43 gènes sur-exprimés et 135 gènes sous-exprimés dans le groupe Repeat breeding a concerné principalement les gènes du métabolisme, du transport de substrat, d'adhésion cellulaire et du cytosquelette (Puglisi et al., 2013).

### **2.2.5.3 Etude fonctionnelle d'un gène ovocytaire : BCAR4**

Pendant les phases initiales des projets AGENAE, le développement d'outils spécifiques a été une étape importante. La constitution d'une banque d'ADN complémentaire a conduit à identifier et caractériser un nouveau gène spécifique de l'ovocytaire, Breast-cancer anti estrogen resistance 4 (BCAR4 ; Thélie, et al., 2007). Au cours du projet OVOGENAE, ce gène codant pour une protéine à effet maternel a fait l'objet d'études fonctionnelles, menées dans plusieurs espèces y compris l'humain (Annexe 6.1, **A16**). Des analyses par Western-blot et des marquages couplés à la microscopie confocale ont été utilisées pour investiguer l'expression et la localisation de la protéine. Chez la vache, la protéine n'est pas détectée dans l'ovocyte immature, mais elle est synthétisée pendant la maturation, augmente au stade

zygote et persiste jusqu'au stade morula. La protéine est détectée dans le cytoplasme des ovocytes matures, se concentre dans et autour des pronuclei au stade zygote, puis est retrouvée dans ou en dehors du noyau à partir du stade 2 cellules.

Pour l'approche fonctionnelle, des ovocytes ont été ponctionnés à partir d'ovaires collectés à l'abattoir. Deux ARN interférents ciblant le transcrite du gène BCAR4 ont été produits. Ces petits ARN interférents (ARNi) ont été injectés dans des ovocytes matures dénudés (groupes de 50 ovocytes) après maturation *in vitro*, puis fécondés et cultivés *in vitro*. Des groupes témoins de 50 ovocytes non micro-injectés (dénudés ou non) ou micro-injectés avec une solution PBS (Phosphate Buffered Saline) ont été également préparés afin de prendre en compte l'effet de la microinjection et des ARNi sur les taux de développement embryonnaire. Les taux de segmentation, de développement embryonnaire et d'éclosion au stade blastocyste ont été comparés pour les différents groupes (A16).

Logiquement, les taux de développement ont été supérieurs dans les groupes d'ovocytes non dénudés (effet des cellules du cumulus), mais aucune différence significative n'a été observée entre les deux autres groupes, démontrant ainsi que la microinjection n'avait pas d'effet délétère sur le développement embryonnaire. Dans une deuxième série d'expérience, les groupes micro-injectés avec du PBS ont été comparés à ceux injectés avec les ARNi : aucune différence n'a été observée pour les taux de segmentation, mais le développement de morulas et de blastocystes épanouis a été diminué dans le groupe d'ovocytes traités avec les ARN interférents, démontrant ainsi les conséquences de l'absence de la protéine BCAR4 sur le développement ultérieur de l'embryon.

**En conclusion, cet exemple de phénotypage vertical est particulièrement intéressant, du fait des approches pluridisciplinaires qui ont été utilisées en parallèle et / ou en série pour investiguer la qualité ovocytaire et sa compétence de développement : conception d'un modèle expérimental original de phénotypage avec recueil d'un matériel biologique rare et délicat à collecter (ovocytes matures issues de donneuses caractérisées au préalable grâce à la technique OPU-FIV), développement et utilisation d'approches moléculaires pour l'étude du transcriptome de l'ovocyte, identification de marqueurs génétiques associés à la compétence ovocytaire au développement, étude fonctionnelle d'un gène à l'aide d'ARN interférents. La liste des gènes différenciellement exprimés ouvre des perspectives de recherche pour l'identification de biomarqueurs associés à la qualité ovocytaire, la définition de nouveaux phénotypes de qualité ovocytaire, l'étude fonctionnelle des gènes d'intérêt identifiés et la détection de polymorphismes génétiques impliqués dans la santé reproductive.**



## 2.3- Synthèse de l'activité scientifique : Des phénotypes aux génotypes, apports de la sélection génomique pour améliorer la santé reproductive

*Cadre du travail de recherche : Recherche en tant que responsable du service transfert embryonnaire (1998-2002) puis coordinatrice du programme « la fertilité d'abord » (2002-2010). Nommée Directrice scientifique de l'UNCEIA en 2010.*

*Laboratoire : Département R & D de l'UNCEIA (Direction scientifique : Patrice Humblot ; de 1998 à 2010), Maisons-Alfort, France.*

### 2.3.1 Contexte et finalités du travail de recherche

Pendant plusieurs décennies, les vaches laitières ont été sélectionnées avec une approche similaire dans le monde entier : les index génétiques étaient estimés à partir des performances mesurées sur les taureaux candidats et leur descendance. Il fallait alors au minimum 6 ans (pour obtenir la procréation d'un nombre suffisant de filles d'un taureau pour évaluer les caractères que l'on ne peut mesurer directement sur lui) et près de 50 000 € d'investissement par taureau avant de disposer d'informations dont la précision satisfasse les conditions réglementaires sine qua non de sa commercialisation (coefficient de détermination (CD) au moins égal à 0,50 pour le lait par exemple (Annexe 6.2, **S16** ; Annexe 6.5, **C110**). Les informations recueillies incluaient les performances mesurées, les principaux facteurs de variations connus (troupeaux, dates, âges, etc) et les informations de parenté. La situation était assez simple du fait de l'utilisation majoritaire de l'insémination dans cette espèce et du nombre limité de caractères étudiés (Boichard et Brochard, 2012).

Depuis le début des années 2000, le développement de la sélection génomique a révolutionné les programmes de sélection, en ouvrant de nouvelles opportunités pour des approches multi-caractères et en accélérant le processus d'évaluation et de sélection des taureaux : il suffit désormais d'un génotypage et de quelques semaines pour décider ou non de faire d'un mâle un futur reproducteur pour sa race (CD à la naissance : 0,60 pour le lait) ou d'utiliser une donneuse d'embryons comme mère à taureau. Ceci a bouleversé grandement le travail des entreprises de sélection ainsi que l'organisation de l'ensemble du secteur de l'insémination. En effet, toutes les entreprises de sélection françaises ont aujourd'hui abandonné la sélection classique par testage sur descendance pour les races Prim'Holstein, Normande et Montbéliarde (Boichard et al., 2010 ; Pryce & Daetwyler, 2012).

Ceci explique la part croissante des jeunes taureaux évalués avec la génomique au détriment des taureaux évalués par la méthode classique polygénique parmi les taureaux utilisés en IA. Par ailleurs, avec le développement de l'élevage de précision et l'utilisation croissante d'automates et de robots de traite en élevage, le nombre de caractères mesurés a augmenté régulièrement au cours des dernières années. Désormais, ce sont près de 40 caractères qui sont suivis dans les troupeaux laitiers, incluant la production et la composition du lait, des paramètres liés aux événements de reproduction et de santé (Boichard et Brochard, 2012).

Dans ce contexte, optimiser l'utilisation des biotechnologies de la reproduction, de l'insémination à la production d'embryons *in vitro* représente un levier supplémentaire pour accélérer le progrès génétique et augmenter les chances de procréer des candidats intéressants.

## 2.3.2 Identification de marqueurs génétiques de santé reproductive

*Dans le cadre de ces travaux de recherche réalisés en collaboration avec l'INRA (Départements Génétique Animale et Physiologie Animale et Systèmes d'Élevage, PHASE) avec le soutien du GIS AGENAE et de l'ANR, j'ai contribué au suivi et à la réalisation du programme GENIFER, initié suite aux premiers programmes de cartographie visant à préciser la localisation et la fonction de gènes d'intérêt sur la base des informations du programme de sélection assistée par marqueurs (SAM). Pour ce travail initié par Patrice Humblot (UNCEIA) et Bénédicte Grimard (ENVA), j'ai participé au suivi d'une thèse de 3<sup>ème</sup> cycle (Dorothee LEDOUX ; Annexe 4.2) et à plusieurs stages dédiés au recueil des phénotypes en élevage (Rachel Lefebvre ; Benoît Mouchard ; Pierre Vergiat ; Annexe 4.1).*

*Après avoir pris la fonction de Directrice scientifique de l'UNCEIA, j'ai continué à soutenir les interactions entre généticiens et physiologistes, notamment avec la rédaction du projet REPROSEQ, labellisé et financé par APIS-GENE.*

*Les résultats du projet GENIFER ont été valorisés sous forme d'un article scientifique (Annexe 6.1 ; **A312**), de communications en congrès scientifiques (Annexe 6.4 ; **CO59, CO81, CO131, CO132, CO135** et de conférences invitées (Annexe 6.5 ; **CI14, CI28**). Les marqueurs génétiques associés aux différents phénotypes de reproduction ont fait l'objet d'une synthèse publiée en 2015 (Annexe 6.2 ; **S19**),*

L'espèce bovine cumule un certain nombre de freins au progrès génétique : gestation longue (9 mois), maturité sexuelle tardive (15 mois), espèce monotoque, nombreux caractères d'intérêt agronomique dont l'expression, souvent tardive, est liée au sexe. Pour pallier ces limitations, les schémas de sélection bovins ont intégré successivement de nombreuses biotechnologies (insémination artificielle, transplantation embryonnaire) et méthodes de sélection (testage sur descendance, évaluation BLUP) afin d'être les plus efficaces possible. Le développement de la sélection génomique, basée sur l'usage d'informations moléculaires représente l'évolution la plus spectaculaire des quinze dernières années en matière de sélection animale. En France, un programme pionnier de détection de QTL (Quantitative trait loci) conduit de 96 à 99 a abouti à la mise en évidence de plusieurs centaines de QTL (Boichard et al., 2003). Puis, un programme de sélection assistée par marqueurs (SAM) mené de 2001 à 2008 a permis la collecte de 70 000 génotypages et la détection de nombreux QTL (Dassonneville, 2012). Les premières femelles issues de taureaux d'IA connus sur les index de synthèse intégrant la fertilité sont entrées dans les troupeaux en 2004. Un programme de pré-localisation de QTL de qualité de semence et de fertilité a été conduit chez le mâle (Basso et al., 2005), avant que les premiers haplotypes défavorables à la fertilité des vaches ne soient identifiés dans le cadre du projet CARTOFINE ciblant 14 régions ciblées dont celle du QTL du chromosome 3 impliquée dans le contrôle de la fertilité (Guillaume et al., 2007 ; Druet et al., 2008).

L'objectif du programme GENIFER était de préciser le(s) moment(s) au cours de la gestation au(x)quel(s) les différences de fertilité s'expriment, grâce à un phénotypage plus fin que celui permis par la seule utilisation des données d'IA. Le dispositif a impliqué 4559 vaches Holstein dans 1028 élevages, issues de 12 taureaux Holstein connus pour leur index génétique de fertilité postpartum (Index FERv) : les vaches des taureaux à index FERv faible ( $\leq -0,5$ ) ont été plus à risque de mortalités embryonnaires précoce (NF-MEP) et tardive (MET) que les vaches de taureaux à index moyen (respectivement  $OR=1,23$ ,  $p=0,03$  ;  $OR=1,53$ ,  $p=0,007$ ) et élevé (respectivement  $OR=1,28$ ,  $p=0,02$  ;  $OR=1,79$ ,  $p<0,001$  ; **CO131, A31**).

L'analyse des 7 caractères de reproduction (vaches inséminées en phase lutéale, non fécondation-mortalité embryonnaire précoce, mortalité embryonnaire tardive, mortalité fœtale et avortement) a porté sur 2669 femelles génotypées pour 306 SNP choisis dans 16 régions de 13 chromosomes (1-6, 9,

10, 14, 15, 18, 26, 27). Ces régions ont été choisies sur la base des résultats de cartographie de QTL du projet CARTOFINE, financé par l'ANR et APIS-GENE. Une puce SNP (Single Nucleotide Polymorphism) dédiée au projet a été créée par Labogena. Les données corrigées pour le numéro de lactation ont été traitées par analyse d'association, marqueur par marqueur, avec un modèle mixte prenant en compte l'information familiale sur l'ensemble du pedigree. Entre 2 et 8 QTL ont été confirmés ( $p < 0,01$ ) pour chacun des caractères : 6 sur le taux de mise bas, 3 sur la mortalité embryonnaire précoce ou non fécondation, 3 sur la mortalité embryonnaire tardive, 8 sur la mortalité embryonnaire totale, 2 sur la mortalité fœtale et 3 sur les avortements (**CO132**). Le QTL principalement ciblé, situé sur le chromosome 3, est confirmé et sa localisation a été affinée à 24 cM. Son effet semble maximum sur la mortalité embryonnaire tardive, tandis qu'un effet sur les mortalités précoces et les avortements n'est pas exclu (Figure 15).

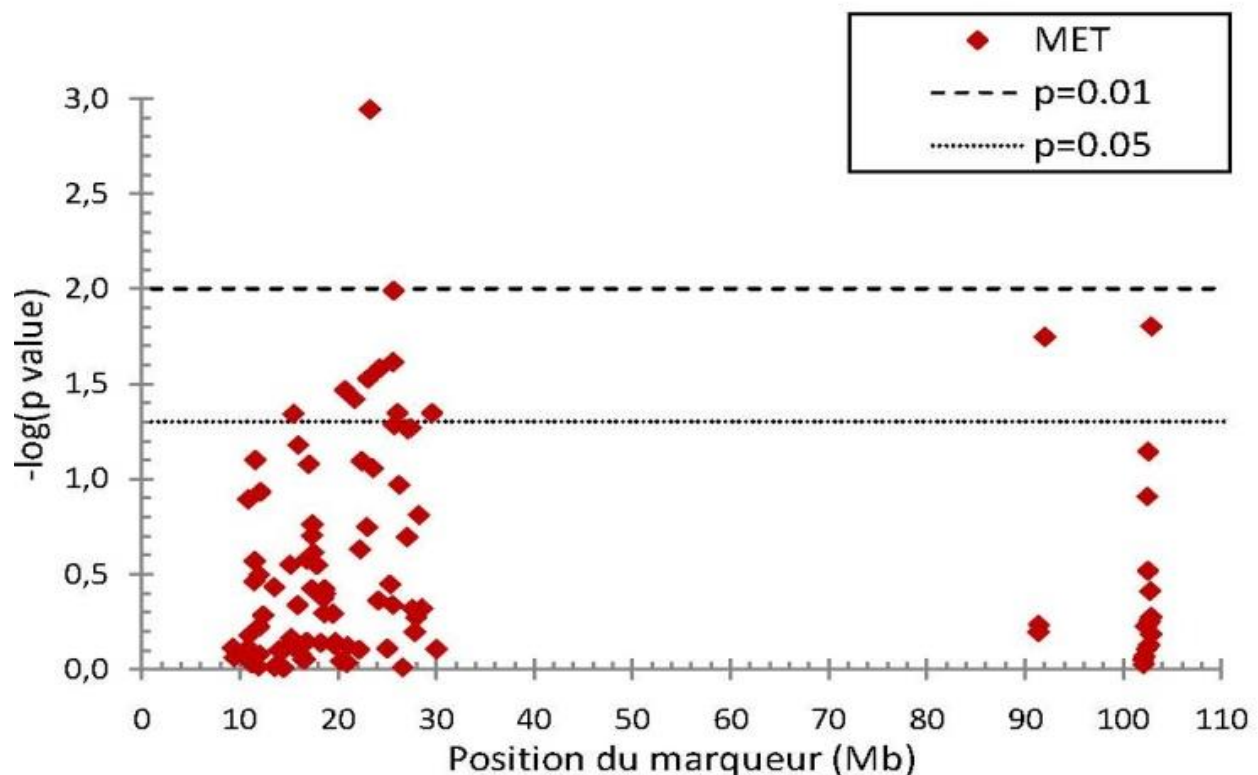


Figure 15 : Détection de marqueurs associés à la mortalité embryonnaire tardive (MET) sur le chromosome 3 (n=1572, CO132).

Depuis ce projet, de nombreuses études ont été menées pour identifier les régions génomiques ciblées sur les caractères de reproduction liés à la voie femelle (Charlier et al., 2012a ; Fortes et al., 2013 ; Figure 16). Ainsi, les programmes de cartographie fine ont permis de confirmer et affiner certaines des régions QTL initialement décrites, grâce à la confirmation de QTL dans des populations bovines indépendantes. Par exemple, une étude récente a identifié un total de 4474 SNP du génome associés à huit caractères de reproduction chez les génisses et les vaches de la population nordique Holstein, 836 et 686 d'entre eux étant également confirmé dans les races Swedish Red et Jersey respectivement (Hoglund et al., 2014).

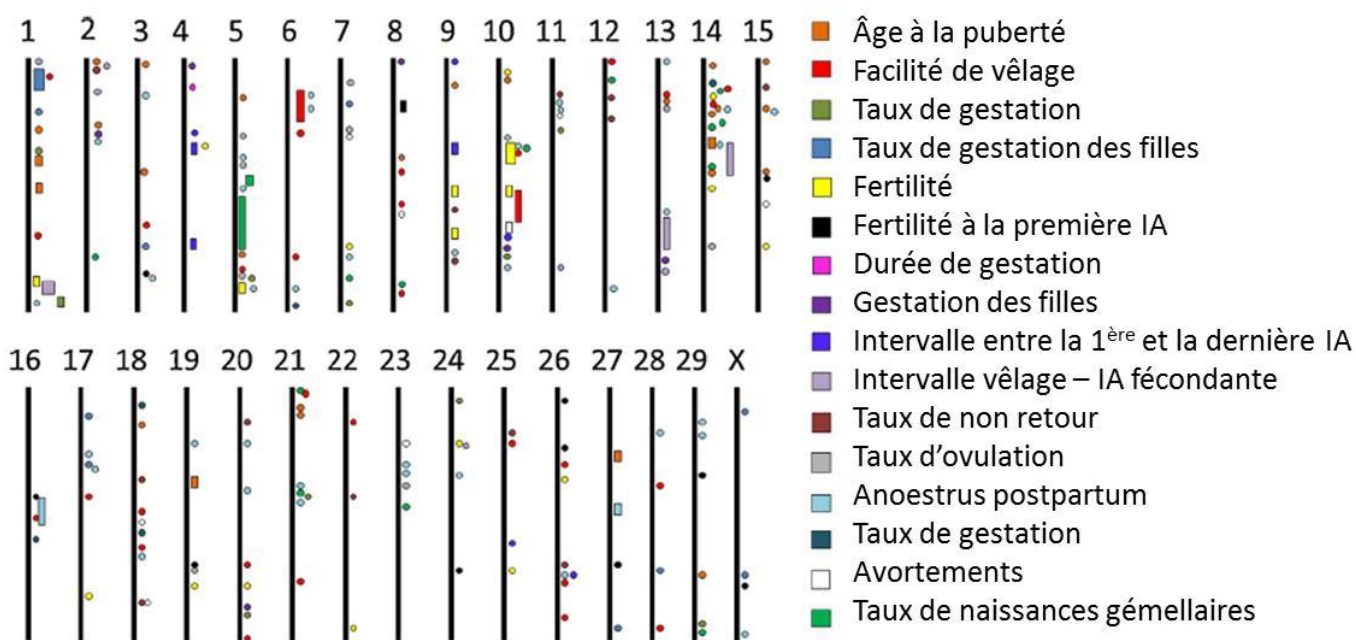


Figure 16 : Représentation schématique des QTL rapportés pour les caractères de fertilité femelle (d'après Fortes et al., 2013)

Récemment, des anomalies génétiques récessives responsables de létalité prénatale et des régions génomiques contenant des mutations létales affectant le développement in utero ont été identifiées dans plusieurs races (Ayrshires, Brown Swiss, Holstein, Jersey, Montbéliarde et Normande ; Tableau 13).

Au total, un effet significatif sur le taux de vêlage a été identifié pour 20 haplotypes, confirmant l'association avec des mutations létales in utero. Comme proposé par VanRaden et al. (2011), les régions du génome relativement fréquentes à l'échelle de la population (> 1 %) et présentant un fort déficit d'individus homozygotes sont considérées comme des QTL (Quantitative Trait Locus) associés à de la mortalité embryonnaire à l'état homozygote.

Leur mise en évidence n'est pas facile, car elles ne se traduisent que par une légère baisse de fertilité. En France, l'utilisation des données de typages de la puce BovineSNP50<sup>®</sup> d'Illumina utilisées en sélection génomique (47 878 animaux Holstein, 16 833 Montbéliards, et 11 466 Normands) a permis de détecter un effet significatif négatif sur la fertilité pour 10 de ces régions dans les accouplements à risque entre taureaux porteurs et filles de taureaux porteurs, confortant leur association avec des mutations létales à l'état embryonnaire. Des effets significatifs ont également été observés sur la mortalité pour 7 haplotypes. Ces régions ont été ensuite analysées avec des données de séquence complète du génome de taureaux porteurs et contrôle (45 animaux au total). Des mutations candidates très fortes ont été mises en évidence, dont trois déjà connues dans les gènes FANCI (Brachyspina ; Charlier et al., 2012a), SLC35A3 (CVM), et APAF1 (HH1) et quatre nouvelles mutations avec des effets prédits très délétères sur la structure protéique dans les gènes GART, SMC2, SLC37A2, et NOA1 (Fritz et al., 2013 ; **S19**).

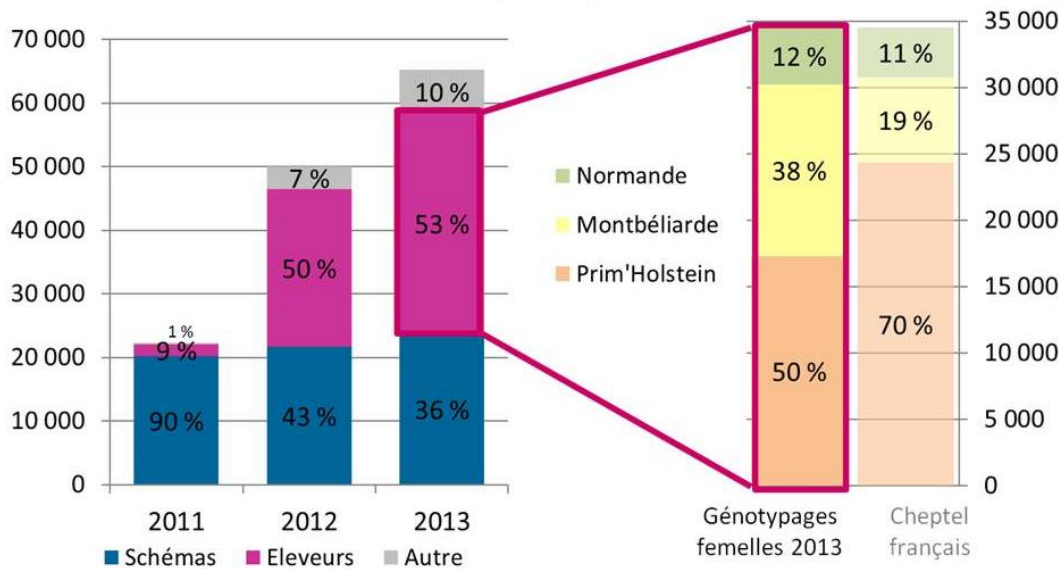
Cette nouvelle approche montre un aspect jusqu'à présent inconnu de la consanguinité dans les races bovines sélectionnées. Il est possible de mener une contre-sélection pour diminuer progressivement la fréquence de ces mutations, en proposant des plans d'accouplement permettant d'éviter les accouplements à risque.

**Tableau 13: Haplotypes et gènes affectant le développement in utero chez les bovins (d'après S19)**

Race	Haplo-type	Chromo-some	Region (Mb) UMD3	Gène	Reference
Ayrshires	AH1	17	65.9-66.2		(Cooper et al., 2014)
Brune des Alpes	BH1	7	42.8-47.0		(VanRaden et al., 2011)
	BH2	19	10.1-11.1		(Schwarzenbacher et al., 2012)
Finnish Ayrshire and Swedish Red		12	20.1-20.7	RNASEH2B	(Kadri et al., 2014)
Holstein	HH0	21	21.1-21.2	FANCI	(Agerholm et al., 2006) (Charlier et al., 2012a) (Sahana et al., 2013)
	HH1	5	63.1	APAF1	(Adams et al., 2012) (VanRaden et al., 2011)
	HH2	1	94.8-96.6		(VanRaden et al., 2011)
	HH3	8	95.4	SMC2	(VanRaden et al., 2011) (Sahana et al., 2013)
	HH4	1	1.3	GART	(Fritz et al., 2013)
		5	66.8-68.6		(Sahana et al., 2013)
		5	106.7-114.4		(Sahana et al., 2013)
		7	33.3-34.6		(Sahana et al., 2013)
		11	60-63		(Sahana et al., 2013)
		19	131-144		(Sahana et al., 2013)
Jersey	JH1	15	15.7	CWC15	(Sonstegard et al., 2013; VanRaden et al., 2011)
Montbéliarde	MH1	19	27.6-29.4		(Fritz et al., 2013)
	MH2	29	27.9-29.1	SLC37A2	(Fritz et al., 2013)
Normande	NH1	24	38.1-39.2		(Fritz et al., 2013)
	NH2	1	45.7-146.8		(Fritz et al., 2013)
	NH5	7	3.6-4.6		(Fritz et al., 2013)
	NH6	15	59.8-61.1		(Fritz et al., 2013)

Ces avancées prennent une autre dimension depuis l'ouverture du service de génotypage aux éleveurs bovins laitiers français en 2011, en particulier au sein des élevages des races Montbéliarde, Prim'Holstein, Pie Rouge et Normande. La diffusion du progrès génétique par la voie mâle, c'est-à-dire le choix des meilleurs taureaux vis-à-vis des objectifs de l'éleveur, était jusqu'à présent la principale source d'amélioration génétique intra-troupeau.

Or, la voie femelle en est une autre qui prend de l'importance dans les élevages bovins laitiers français (Annexe 6.2, S16). En effet, le génotypage des femelles est en plein essor, avec près de 35 000 génotypages réalisés en 2013 pour les éleveurs (Figure 17).



**Figure 17: Nombre de génotypages réalisés depuis l'ouverture du service aux éleveurs en 2011 (source VALOGENE ; S16)**

Outre les avancées en matière de sélection sur la santé reproductive, la sélection génomique apporte aux éleveurs la possibilité de développer des stratégies d'élevage novatrices (Clay, 2012 ; Dassonneville, 2012) :

- trier les génisses plus précisément pour économiser les 1 000 à 1 200 € de frais d'élevage moyen d'une génisse Prim'Holstein pour un vêlage à 28 mois (Pulvery, 2012 ; Perret, 2012),
- affiner les accouplements par un choix des taureaux optimisé permettant de corriger les défauts et/ou d'accentuer les qualités des femelles individuellement,
- acheter et vendre des animaux (Dupas et al., 2010),
- vérifier et quantifier la pertinence de la conduite génétique du troupeau, identifier les meilleurs animaux,
- contrôler la consanguinité au niveau génétique et non plus seulement généalogique (Pryce & Hayes, 2012) et corriger les erreurs de généalogie. Pour cela, en France, deux types de données sont fournies avec le résultat du génotypage : d'une part, des propositions de parentés en cas d'incompatibilité génétique de l'animal avec ses parents déclarés et, d'autre part, des « index originalité », non officiels, calculés par l'UMT 3G et qui sont souvent intégrés dans les programmes d'accouplement utilisés par les entreprises de sélection et les inséminateurs,
- Préparer le plan d'accouplement (choix du mode de reproduction (monte naturelle, insémination, TE) et/ou du type de semence (laitière sexée ou non pour le renouvellement, allaitante pour du croisement industriel ; Le Mézec et al., 2013). En particulier, il faut noter la véritable synergie entre le génotypage femelle et l'utilisation de semence sexée pour la gestion du renouvellement : réaliser le génotypage des génisses permet d'affiner le choix des futures reproductrices du troupeau, tandis que l'utilisation de semence sexée sur un groupe ciblé de femelles permet d'assurer la naissance de veaux femelles (Dassonneville et al., 2012).

### 2.3.3 Sélection génomique et biotechnologies de la reproduction

Au cours des dix dernières années, les échanges internationaux d'embryons ont doublé. Le transfert embryonnaire reste un des moyens les plus sûrs pour échanger du matériel génétique (Hasler, 2014). Optimiser les techniques de reproduction est devenu un axe stratégique à l'ère de la génomique : l'amélioration du progrès génétique peut être accélérée grâce à l'utilisation combinée de l'insémination, du génotypage des femelles, de la production d'embryons, de la superovulation, du transfert d'embryon (TE) et de la ponction d'ovocytes associée au développement embryonnaire *in vitro* (OPU-FIV). Après 40 ans de développement, les défis majeurs des biotechnologies de la reproduction incluent l'identification précoce de candidats intéressants pour la sélection génomique, ainsi que la caractérisation de marqueurs prédictifs de viabilité, pouvant correspondre par exemple à un diagnostic pré-implantatoire (pour revue, **S17**). Les travaux de génotypage réalisés à partir d'un petit nombre de cellules prélevées chez l'embryon, ainsi que les recherches visant à optimiser l'utilisation des biotechnologies de l'embryon dans les schémas sont autant d'avancées qui peuvent servir le progrès génétique.

#### 2.3.3.1 Génotypage de l'embryon

*La mise au point du génotypage de l'embryo est une des principales innovations à laquelle j'ai contribué ces dernières années. Ce travail, initié par Patrice Humblot avec le projet TYPAGENAE (2004-2007) a été réalisé en collaboration avec Daniel Le Bourhis (UNCEIA), LABOGENA, les départements de génétique de l'INRA et de l'UNCEIA ainsi que les entreprises de sélection, notamment MIDATEST et UMOTEST. Une collaboration avec l'entreprise CRV (Pays-Bas) a permis d'accélérer l'obtention de résultats. Les travaux ont abouti à une première mondiale avec la naissance de Gaston, en 2011, premier veau né après transfert d'un embryon génotypé. A cette occasion, l'UNCEIA a d'ailleurs publié un communiqué de presse : "Cet outil offre de nouvelles perspectives aux entreprises de sélection dans la gestion de leurs schémas de sélection. Il sera désormais possible de sélectionner les futurs reproducteurs de la race dès le stade embryonnaire, augmentant du même coup la pression de sélection et le progrès génétique. En outre la connaissance précoce des animaux à haut potentiel génétique permettra de les intégrer plus rapidement dans les stations d'élevage puis dans les centres de production de semence et permettra ainsi de mieux préparer leur future carrière de reproducteurs. » (Web-Agri, 2011).*

*Ces travaux ont été valorisés sous forme d'un article scientifique (Annexe 6.1; **A15**), d'articles de synthèse (Annexe 6.2 ; **S15, S16, S17**), de communications orales associées aux techniques de biopsie (Annexe 6.3 ; **CO72, CO83, CO84, CO94**) et génotypage (Annexe 6.4 ; **CO86, CO87, CO95, CO128, CO129, CO145, CO149 ; CO158**) et de conférences invitées (Annexe 6.5 ; **CI29, CI30, CI35, CI37**). Différents aspects de l'utilisation des biotechnologies de la reproduction ont fait l'objet de deux chapitres d'ouvrages (Annexe 6.3 ; **C4, C5**).*

L'une des principales contraintes vécues par les éleveurs et les entreprises de sélection en Europe reste la disponibilité limitée des femelles receveuses. Depuis 20 ans, les entreprises de sélection ont à leur disposition la méthode de sexage des embryons permettant de limiter le nombre de transferts en ferme. Des cellules embryonnaires sont prélevées par biopsie. L'ADN est ensuite amplifié par PCR (Bondioli et al., 1992 ; Lopes et al., 2001) permettant de révéler une séquence spécifique du chromosome Y chez l'embryon mâle. Le compromis à atteindre consiste à préserver la viabilité de l'embryon tout en obtenant une quantité d'ADN suffisante pour cette analyse. Pour y parvenir, l'objectif est de prélever 5 à 10 cellules par embryon lors d'une biopsie (Thibier et Nibart 1995 ; pour revue **S13, S15, S16**).

La biopsie embryonnaire est pratiquée entre le troisième et le septième jour après l'insémination, au moment où l'embryon est au stade 8/16 cellules à blastocyste (**C5**). Elle consiste à prélever quelques cellules (entre 1 à 10 cellules) de l'embryon sans pour autant compromettre son développement ultérieur. L'opération de biopsie, réalisée sous microscope équipé de micromanipulateurs, se pratique selon deux techniques distinctes représentées en Figure 18 :

- la biopsie par coupe consiste à couper à l'aide d'un micro-couteau une petite partie de l'embryon. Cette technique s'applique sur des embryons de stade morula compactée ou blastocyste. La dissection est pratiquée en coupant par pression du micro couteau une partie de la zone pellucide et une partie du trophoblaste. Sur morula, la biopsie est pratiquée selon cette méthode sans orientation de l'embryon.
- la biopsie par aspiration consiste à aspirer à l'aide d'une micropipette quelques cellules d'un embryon de stade 8/16 à morula. Une fois l'embryon stabilisé au moyen d'une pipette de contention, une ou quelques cellules embryonnaires sont aspirées à l'aide d'une pipette d'aspiration de 35 micromètres de diamètre.

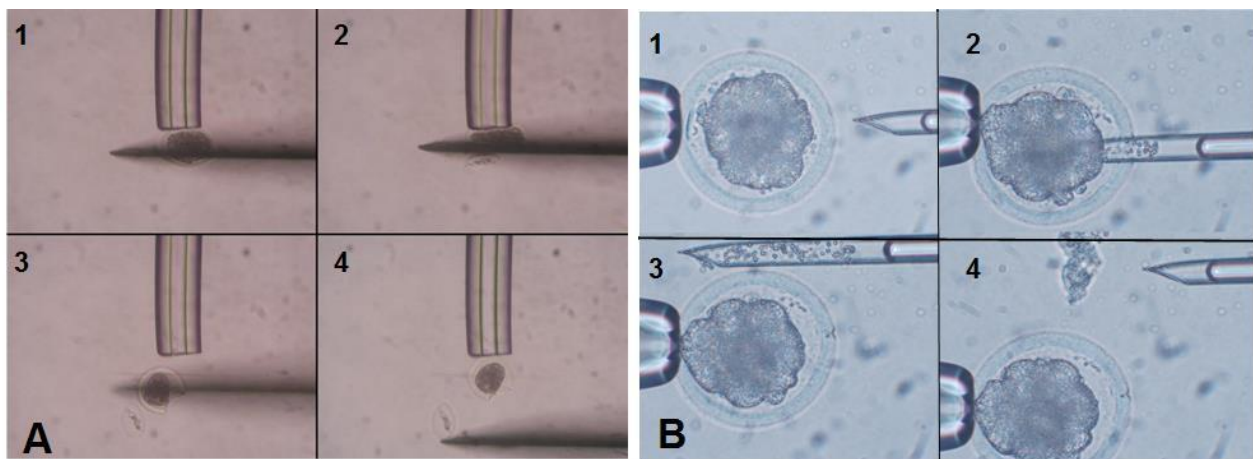


Figure 18: Etapes de la biopsie embryonnaire (A : par coupe ; B : par aspiration ; source C5)

Récemment, la détection de marqueurs génétiques a été réalisée à partir de biopsies embryonnaires au stade blastocyste. Cela ouvre la voie pour développer de nouvelles stratégies basées sur le diagnostic pré-implantatoire, applicable dès la première semaine de développement, dans le cadre d'opérations de collectes d'embryons. Les avantages du génotypage de l'embryon ont été rapportés dès que la sélection assistée par marqueurs (SAM), basée sur un nombre limité de marqueurs micro-satellites a été utilisée, en raison de l'estimation simultanée de plusieurs caractères dès un stade précoce de développement (Peippo et al., 2007). Les avantages vis-à-vis du progrès génétique potentiel sont encore plus importants avec l'utilisation d'un grand nombre de marqueurs SNP (pour revue **S9, S10**). Cependant, un des défis majeurs de la sélection génomique au stade embryonnaire est la détection d'un très grand nombre de SNP à partir d'un petit échantillon d'ADN prélevé chez un embryon pré-implantatoire.

Plusieurs stratégies ont été testées pour amplifier la quantité d'ADN disponible et ainsi estimer le potentiel génétique des embryons (**S9, S10, S13, S15, S16**). L'amplification du génome complet (whole genome amplification ou WGA) a été développée pour la pré-amplification de petites quantités d'ADN génomique, permettant même d'utiliser une cellule unique (Lovmar et al., 2006 ; Dean et al., 2002). Depuis, cette méthode a été largement utilisée dans une variété d'applications (Paez et al., 2004 ; Gunderson et al., 2005 ; Lovmar et al., 2006), incluant le génotypage à haut-débit par puce Affymetrix ou Illumina pour l'espèce bovine (Guillaume et al., 2009). Des kits commerciaux d'amplification selon la méthode WGA sont disponibles et présentent une bonne fiabilité et exactitude (Treff et al., 2001).

De plus, l'ADN génomique pré-amplifié à partir de cellules embryonnaires issues de diverses espèces (porcin, caprin, bovin et humain) a été utilisé dans de nombreuses études. Le but est de développer des tests de diagnostic génétique pré-implantatoire qui incluent des caractères spécifiques comme le sexe, la sensibilité vis-à-vis du prion chez des embryons caprins ou des anomalies génétiques, comme la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) chez l'humain (Ren et al., 2009 ; Polisseni et al., 2010 ; Akasaka et al., 2011; Guignot et al., 2011).

Différentes expériences ont été conçues pour affiner les conditions assurant une quantité suffisante d'ADN génomique après pré-amplification. Après amplification WGA, les échantillons de 5 à 10 cellules ont présenté des taux de détection de marqueurs (proportion de marqueurs détectés ou call rate, CR) significativement plus élevés que les échantillons comportant moins de 5 cellules (98 % contre 75 %, **CO95**). Après WGA, une quantité d'ADN allant de 5 à 7 µg (analyse PicoGreen) est générée, ce qui représente une augmentation d'au moins 40 000 fois la quantité initiale d'ADNg. Toutefois, le taux d'amplification du génome n'est pas nécessairement proportionnel à la quantité d'ADN de départ. L'amplification déséquilibrée de locus hétérozygotes peut entraîner des phénomènes de perte allélique (allele drop-out (ADO) ; cas d'un allèle hétérozygote, détecté homozygote à tort à partir des cellules de la biopsie), avec des valeurs d'ADO comprises entre 2 et 18 % (Annexe 6.4, **CO95, CO128, CO129** ; Fisher et al., 2012 ; Sargolzaei et al., 2012 ; Lauri et al., 2013). D'autres erreurs semblent être le résultat d'un phénomène inverse (détection d'allèles hétérozygotes à tort ; Fisher et al., 2012). Plusieurs auteurs ont montré que le CR observé après pré-amplification par WGA augmente de façon significative avec le nombre de cellules (pour revue **S13, S15, S16** ; Ling et al., 2009 ; Tableau 14).

**Tableau 14: Taux moyens de détection des marqueurs (Call Rates, CR) après pré-amplification de biopsies par la technique WGA et génotypage (puce Illumina) selon le nombre de cellules (S15)**

Référence	Nombre de cellules	Nombre de biopsies	CR (moyenne ± erreur type)
Le Bourhis et al., 2011 ( <b>CO128, CO129</b> )	5 à 7	12	85 ± 8 <sup>a</sup>
	8 à 10	14	90 ± 4 <sup>b</sup>
Fisher et al., 2012	1	17	77.6 ± 6.2
	3	18	85.5 ± 2.8
	>½ morula	6	96.3 ± 1.7

Une corrélation négative entre les CR et les erreurs d'amplification a été rapportée (Fisher et al., 2012). Les CR moyens à partir d'ADN embryonnaire pré-amplifié varient de 78 à 90 % (Tableau 14) et restent donc inférieurs à ceux obtenus à partir de prélèvements sanguins chez les animaux vivants. Cependant, lorsque l'on compare les marqueurs hétérozygotes (SNP) de l'embryon à ceux du veau qu'il a ensuite engendré, il a été observé que les CR supérieurs à 85 % correspondent à un taux inférieur à 1 % de ADO (**CO149**). En conséquence, seules les biopsies présentant des CR supérieurs à 85 % sont utilisées pour estimer les index génomiques des embryons, ce qui est le cas pour 85 à 91 % des échantillons (**CO149**).

Les embryons biopsiés sont cultivés *in vitro* pendant 24 à 48 heures ou immédiatement transférés frais ou congelés chez des receveuses synchronisées (**CO94** ; El Sayed et al., 2006 ; Ghanem et al., 2011). Les taux de gestation varient de 47,3 à 62,3 % après transfert direct d'embryons biopsiés congelés, selon le stade de développement embryonnaire ou la méthode de biopsie (Tableau 15). Lorsque les embryons sont transférés à l'état frais, les taux de gestation ont tendance à être corrélés à leur qualité et au stade embryonnaire. La congélation des embryons produits *in vitro* et biopsiés reste un challenge technique pour utiliser le génotypage combiné à la production d'embryons *in vitro*. Les taux de survie après décongélation des blastocystes congelés lentement à -25 °C dans le glycérol seul (53,8 %) sont plus bas

que ceux des blastocystes congelés à -25 °C ou -30 °C dans ce milieu additionné de sucre (91,3 % ; Tominaga et al., 2007). Les effets positifs du sucre sont également rapportés chez les embryons collectés *in vivo* puis biopsiés (taux de gestation atteignant 55,8 % dans le milieu contenant le sucre, versus 40,8 % pour les embryons témoins ; **CO94**).

**Tableau 15 : Taux de gestation après transfert d'embryons bovins biopsiés et congelés, en ferme ou en station (EG = éthylène glycol ; SVF = Sérum de veau foetal ; TD = transfert direct ; AI = aiguille ; AS = aspiration ; MC = microcouteau ; P = pipette de maintien ; Q=qualité ; d'après S15)**

Auteurs	Embryon	Biopsie	Cryoconservation	Taux de gestation
Gonzalez et al., 2008	56 <i>in vivo</i> , station Q1=24 ; Q2=7 ; Q3=23	MC+P	congélation dans 1,5 M d'EG, TD	à 90 j : Q1 54%, Q2 57%, Q3 48%
			État frais (284)	59 %
Lacaze et al., 2009 ( <b>CO94</b> )	671 <i>in vivo</i> , Q1, ferme	MC +P	1.5 M EG + 40 % SVF (53) ou 0,1 M sucrose (340)	50 %
Fisher et al., 2012	42 blastocystes <i>in vitro</i> vitrifiés (versus 42, état frais)	MC	Vitrification (Cryologic) ; incubation de 2h et évaluation avant TE	À jour 65 : 43 % (état frais : 38 %)
Cenariu et al., 2012	407 <i>in vivo</i>	AI AS MC	Biopsie, puis 3 h de culture TCM199 + 20 % SVF ; congélation dans EG	À jour 30 : 57 % 43 % 31 %
CRV <sup>1</sup>	231 <i>in vivo</i>	MC	EG, période de 4 mois	44% (vs 52% entiers)

<sup>1</sup> communication personnelle

Le diagnostic génétique préimplantatoire combiné avec la congélation et le transfert des embryons ouvre de nouvelles perspectives pour faciliter la mise en œuvre et augmenter l'efficacité des schémas de sélection. Ceci permet la détection de caractères et mutations spécifiques à un stade précoce, comme la présence d'anomalies génétiques, le gène sans corne ou le variant de caséine du lait (Annexe 6.1, **A15** ; Annexe 6.4, **CO158**) et de diminuer le nombre de transferts en ciblant les embryons candidats.

Enfin, l'explosion récente de la mutagenèse ciblée est un nouveau champ de recherche qui pourrait révolutionner les biotechnologies de l'embryon : par exemple, les systèmes enzymatiques de type CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeat)-Cas9 (CRISPR-associated nuclease 9) utilisent une nucléase (Cas9), qui complexée à un ARN guide (ARNg) complémentaire de la séquence-cible, clive l'ADN de façon spécifique en amont d'une séquence PAM (Protospacer Adaptor Motif) localisée sur l'ADN génomique (pour revue, Gaj et al., 2013). Ces systèmes ont été récemment injectés à des embryons de mammifères, notamment de souris (Yasue et al., 2014), de rat (Guan et al., 2014) et de porc (Witworth et al., 2014). Après injection des ARN guides chez des zygotes porcins produits *in vitro*, les mutations ciblées ont été obtenues chez 100 % des blastocystes et ont conduit à la naissance de porcelets présentant pour la plupart d'entre eux les modifications génétiques sur les deux allèles (Witworth et al., 2014). Appliquées aux cellules totipotentes ou embryonnaires, ces technologies pourraient constituer des innovations de rupture pour la sélection des espèces domestiques.

### 2.3.3.2 Vers l'identification de marqueurs génétiques pour la production d'embryons

Suite aux travaux réalisés à partir des modèles expérimentaux *in vivo* (et notamment ayant utilisé les biotechnologies de l'embryon, collectes *in vivo* et OPU-FIV), j'ai proposé le projet REPROSEQ avec les différents partenaires impliqués dans les projets de reproduction et de génétique, avec les objectifs suivants :

- 1/ compléter les données de génomique fonctionnelle afin de caractériser les étapes essentielles de la reproduction,
- 2/ Compléter les travaux de séquençage pour inclure des animaux particulièrement intéressants en matière de reproduction.
- 3/ Compiler et organiser les données de génomique fonctionnelle collectées ; puis les croiser avec les polymorphismes génétiques identifiés pour préciser les relations entre gènes et fonction.

Une liste de taureaux à séquencer a été établie à partir des programmes de génomique GENIFER, EMBRYOGEN, FERTINUT, MEETAC et OVOGENAE et des bases de données UNCEIA permettant l'identification de nouveaux polymorphismes et l'étude de nouveaux caractères d'intérêt notamment apparition de la puberté chez le mâle, aptitude à produire des embryons chez la femelle.

Il paraît désormais possible de sélectionner des donneuses d'embryons présentant une meilleure santé reproductive, avec l'objectif d'améliorer l'efficacité des biotechnologies (Annexe 6.2, **S15, S16**). Plusieurs publications ont déjà démontré que des embryons issus de croisement se développent plus rapidement et avec des taux plus élevés que les embryons de race pure, suggérant que le croisement pourrait être un levier pour améliorer l'efficacité des biotechnologies (Boediono et al., 2003; Lazzari et al., 2011).

Avec la sélection génomique, de nouveaux outils sont disponibles pour améliorer l'efficacité de l'OPU-FIV : même si l'héritabilité des caractères qualitatifs (qualité des ovocytes, taux de segmentation et de développement) semble moins élevée que celle des caractères quantitatifs (nombres totaux d'ovocytes, d'embryons produits ; Merton et al., 2009), l'héritabilité rapportée par plusieurs auteurs rend possible la sélection des donneuses sur ces caractères. Par exemple, l'héritabilité du nombre total d'embryons transférables est comprise entre 0,10 et 0,26 selon les études (pour revue Merton et al., 2009). Le nombre d'ovocytes viables, les taux de segmentation et de développement ont déjà été associés à des polymorphismes de type SNP (Khatib et al., 2008a, 2008b et 2009 ; Penagaricano et Khatib, 2011 ; Cochran et al., 2013b). Les effets maximaux observés entre génotypes ont varié de 5,4 à 12,2 % pour les taux de fécondation (Khatib et al., 2009) et de 3,9% à 23,2% pour le développement embryonnaire à partir de la segmentation (Cochran et al., 2013b), ce qui démontre l'intérêt potentiel de la sélection génomique appliquée aux biotechnologies de l'embryon.

Un des principaux enjeux de recherche pour les années à venir reste la découverte de phénotypes non-invasifs permettant de prédire *in vitro* la viabilité de l'embryon après transfert. Un autre point critique est dépendant de l'étude des corrélations génétiques entre ces caractères de production d'embryons et d'autres aptitudes liées à la production, à la longévité ou à la résistance aux maladies comme suggéré par Pimentel et al. (2011). De plus, il semble que les ovocytes issus de *Bos indicus* présentent une meilleure tolérance au stress thermique que les cellules prélevées chez *Bos taurus* (Paula-Lopes et al., 2013). La sélection génomique pourrait permettre d'orienter la sélection des donneuses vers des femelles présentant une meilleure résistance aux chocs thermiques, qui altèrent la maturation nucléaire de l'ovocyte, induisent des phénomènes d'apoptose, désorganisent le cytosquelette des ovocytes et réduisent la compétence de développement de l'ovocyte (Paula-Lopes et al., 2013).

### 2.3.3.3 Accélérer le progrès génétique grâce aux biotechnologies de la reproduction

*L'utilisation des biotechnologies de la reproduction pour optimiser les schémas de sélection a été une thématique constante au cours de mon expérience professionnelle à l'UNCEIA. Dès 2004, avec le développement de la SAM (sélection assistée par marqueurs), des travaux de simulation ont été engagés en collaboration avec Michel Tissier (Umotest) afin d'envisager l'intégration de l'OPU-FIV dans les schémas de sélection. J'ai contribué à l'estimation des coûts et des performances associés à ces techniques avec l'appui d'Alain Malafosse (Département Génétique de l'UNCEIA) dans le cadre du projet TYPAGENAE (2004-2007) monté par Patrice Humblot. Dans les années 2010, l'utilisation combinée des biotechnologies de l'embryon est devenue plus stratégique encore avec le développement de la sélection génomique, le génotypage de l'embryon et le génotypage des femelles. Réfléchir à la combinaison des différentes techniques a fait l'objet de plusieurs réunions que j'ai co-organisées avec des partenaires professionnels européens, notamment en 2012 : Expert Meeting avec l'entreprise de sélection CRV (**CP-55**) et le Practitioner's forum de l'IETS (Annexe 3.3 ; **CP-61**). Ces travaux ont été valorisés à l'occasion de congrès à visée professionnelle (Annexe 3.3 ; **CP8, CP36, CP56, CP59**), de conférences invitées dans des congrès scientifiques (Annexe 6.5 ; **CI9, CI10, CI20, CI32, CI36, CI58**). Ils ont fait l'objet d'articles de synthèse (Annexe 6.2 ; **S3, S7, S9, S10, S13, S15, S16**) et d'une communication orale (Annexe 6.4 ; **CO75**).*

Les biotechnologies de l'embryon peuvent contribuer à accélérer le progrès génétique en diminuant l'intervalle de génération, en générant davantage de candidats dans le même intervalle de temps, permettant ainsi une intensité de sélection supérieure (Figure 19 ; Tableau 16). Au niveau d'une population, une des caractéristiques les plus marquantes de la sélection génomique est l'augmentation considérable du nombre de candidats évalués, ce qui maximise les chances d'obtenir des candidats de génotype souhaité. Le nombre d'animaux génotypés est donc un accélérateur pour la sélection des caractères d'intérêt et rend plus facile des approches multi-caractères. Dans ce contexte, bénéficier d'une méthode permettant de générer des nombres élevés de descendants dans un court intervalle de temps est un avantage supplémentaire (**S9, S10**).

Combiner le génotypage de femelles à large échelle à l'utilisation des biotechnologies (semence sexée, transfert embryonnaire, OPU-FIV) peut donc représenter un avantage concurrentiel dans un contexte où le renouvellement des générations et des taureaux d'insémination est beaucoup plus rapide. Ceci explique sans nul doute l'augmentation de l'utilisation de l'OPU-FIV depuis le début des années 2010 dans les pays où la sélection génomique appliquée aux populations laitières est largement développée, notamment en Amérique du Nord (Annexe 6.3, **C5**). Néanmoins, la gestion génétique du schéma doit être plus rigoureuse que dans le passé, le turn-over des générations étant sensiblement plus rapide (+30 %) que dans un schéma classique. Les avantages potentiels des programmes de sélection génomiques ont été évalués par des simulations sur des données réelles (Colleau et al., 2009). Ce travail a démontré qu'en triplant le nombre de candidats (2400 jeunes veaux mâles évalués par sélection génomique, conduisant à 80 taureaux de service, au lieu de 800 veaux menant à 130 descendants testés sur descendance et 15 taureaux confirmés et utilisés largement), il est possible de maximiser le progrès génétique et de limiter la consanguinité (-23 % par rapport à l'évaluation classique).

L'utilisation de semence sexée est une autre composante importante dont il faut tenir compte (Le Mézec et al., 2013). A partir de travaux de simulations, il a été noté que l'utilisation de semence sexée est susceptible de doubler le progrès génétique au niveau d'une population si ces semences sont utilisées pour toute la population (Sorensen et al., 2011; Pedersen et al., 2012). Toutefois, pour les mères à taureaux, cet avantage est moindre par rapport aux biotechnologies de l'embryon. En effet, l'utilisation de semence sexée permet surtout d'augmenter le nombre de femelles candidates (en modifiant donc l'intensité de sélection sur les mères à taureaux). En complément, les biotechnologies de l'embryon

permettent une production “intensifiée” de descendants issus de ces femelles d’élite (Pedersen et al., 2012). Si l’on compare les techniques de collecte d’embryons *in vivo* à la technique OPU-FIV, le nombre d’embryons produits sur une période donnée peut être multiplié par 2 ou 3 en répétant les sessions de collecte d’ovocytes (S9, S10).

$$\text{Progrès génétique} = \frac{\text{Précision ①} * \text{Intensité ③} * \text{Variabilité ⑤} * \text{Héritabilité}}{\text{Intervalle de génération ② ④}}$$

-Sélection génomique : meilleure précision (caractères fonctionnels) ①, réduction de l’intervalle de génération ②

-Biotechnologies de la reproduction : augmentation du nombre de candidats ③, réduction de l’intervalle de génération ④ (TE, OPU-IVP, biotechnologies de l’embryon), possible effet sur la consanguinité (en fonction du schéma appliqué aux donneuses ; nombre de femelles, nombre de collectes) ⑤

Figure 19: Effets combinés de la sélection génomique et des biotechnologies de la reproduction (C5)

Tableau 16 : Biotechnologies de la reproduction et impacts positif (+) ou négatif (-) sur les composantes du progrès génétique (S16)

	Impact sur les composantes du progrès génétique (+ positif / - négatif)				
	Précision	Intensité	Variation génétique	Héritabilité	Intervalle de génération
<b>Liens entre les biotechnologies de la reproduction et le progrès génétique</b>	Génotypage des femelles = population de référence plus large (et phénotypage possible)	Plus de candidat(e)s dans une période de temps donnée ou réduction du nombre de candidat(e)s sélectionné(e)s	Utilisation intensive d’un nombre limité de taureaux / mère à taureaux ; accouplements raisonnés	Sélection de nouveaux caractères, avec une héritabilité faible	+ (plus) ou – (moins) de candidat(e)s dans une période donnée
<b>Génotypage des femelles et semence sexée</b>	+++ (selon utilisation du génotypage, taille de la population)	+ (plus de candidats via la naissance de veaux de sexe contrôlé, détection des femelles d’élite)	++ (plans d’accouplement basés sur les informations génomiques)	Caractères fonctionnels des femelles	+ (sexe des veaux contrôlé, détection précoce de femelles d’élite)
<b>Superovulation et transfert d’embryons (TE)</b>	+ (fonction de l’utilisation des collectes, taille du noyau de sélection)	++ (nombre limité de donneuses, collectes à intervalle de 6 ou 7 semaines)	– (consanguinité) +(diversité des accouplements)	Nombre d’embryons (héritabilité comprise entre 0,10 et 0,26)	+ (plus de veaux à âge fixé) et / ou +( congélation <transfert à l’état frais)
<b>Production d’embryons <i>in vitro</i> (PIV)</b>	+ (fonction de l’utilisation des collectes, taille du noyau de sélection)	+++ (nombre limité de donneuses, ovocytes collectés à intervalle de 1 à 2 semaines)	– (consanguinité) + (diversité des accouplements)		++ Collecte d’ovocytes chez de jeunes génisses (à la puberté ou pré-bubères)
<b>Clonage embryonnaire</b>	?	+++ (> 1 veau à partir de quelques donneuses)	– (approche individuelle)	Nouveaux caractères	+++ (clones issus de cellules souche ou embryonnaires)
<b>Génotypage embryonnaire</b>	+ (fonction de l’utilisation des embryons, taille du noyau de sélection)	+++ (sélection de l’embryon avant TE)	++ (plus de candidats produits) –(sélection de l’embryon avant TE)	Nouveaux haplotypes	– (Congélation) ++ (sélection précoce des candidats puis TE)

Enfin, l'application des nouveaux outils d'ingénierie du génome, notamment la mutagenèse ciblée (Barrangou, 2014), la différenciation cellulaire de cellules souches associée au clonage pourrait de nouveau révolutionner les schémas de sélection dans les prochaines années. Récemment, plusieurs équipes ont rapporté des avancées significatives relatives à la spermatogénèse *in vitro* à partir de cellules souches (pour revues, Kurimoto et Saitou, 2015 ; Yokonishi et Ogawa, 2016). Ces aspects avaient été envisagés et discutés dès 2012 (Annexe 3.3, CP-55), conduisant à proposer un schéma original de sélection, combinant différentes approches *in vitro*, présenté avec Sybrand Merton en 2013 lors du *Practitioner's forum* de l'IETS (Annexe 3.3, CP-61 ; Figure 20). Ce schéma n'est pas applicable à l'heure actuelle, mais il montre que les techniques d'ingénierie du génome ouvrent des perspectives considérables pour la compréhension des mécanismes de gamétogénèse, la description des phénomènes épigénétiques et l'utilisation des biotechnologies de la reproduction chez les animaux domestiques, tout en posant de nouvelles questions éthiques pour l'agriculture mondiale et la recherche sur le développement embryonnaire chez toutes les espèces de mammifères, y compris chez l'homme.

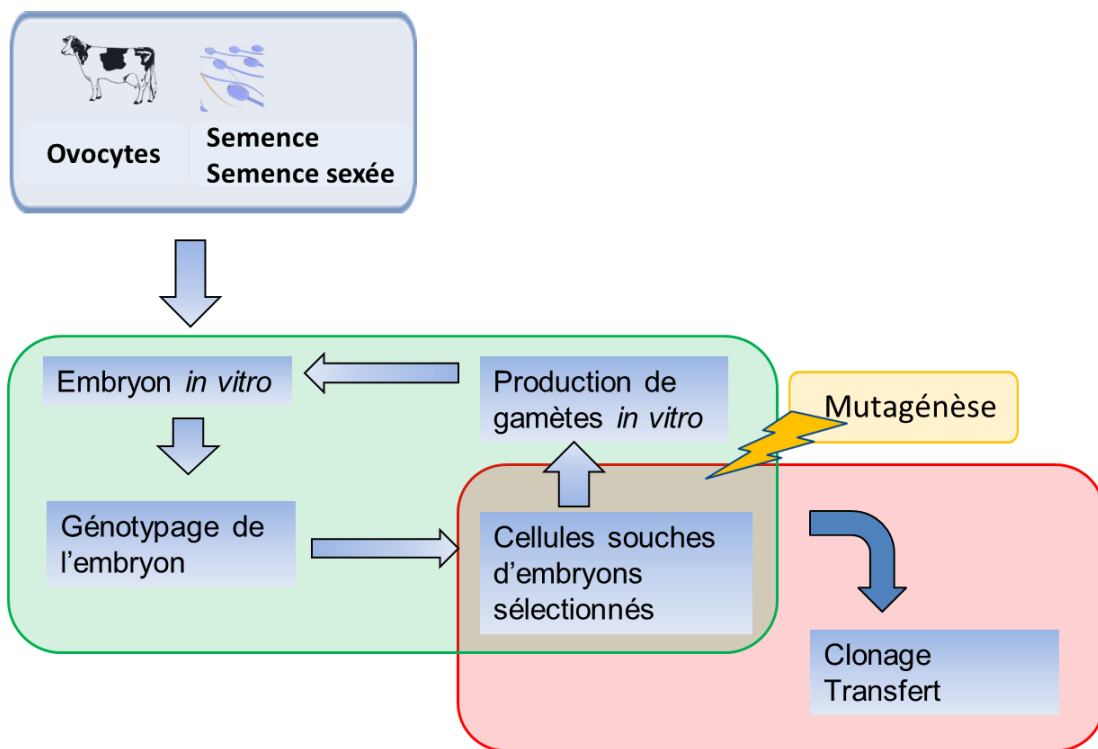


Figure 20: Schéma de sélection présenté au Practitioner's forum de l'IETS en 2013, combinant diverses techniques *in vitro* (CP-61)

### 2.3.4 Améliorer l'efficacité des biotechnologies de l'embryon

*Un premier axe a concerné l'étude des relations entre métabolisme énergétique et production d'embryons, avec des travaux menés au cours de deux thèses d'université (Sandrine Freret et Giselle Gamarra) et d'un master de reproduction (Mohammed Sehnine). Ces travaux ont été valorisés sous forme de 3 articles scientifiques (Annexe 6.1, **A10, A21, A27**), de conférences invitées en congrès scientifiques (Annexe 6.5, **CI13, CI15**) et professionnels (Annexe 3.3, **CP9, CP59, CP63, CP64**), ainsi que de communications orales (Annexe 6.4, **CO32, CO33, CO36, CO45, CO147, CO160, CO162**).*

*Le second axe avait pour objectif d'optimiser les protocoles de superovulation des donneuses et de cryoconservation des embryons. Au cours de ces 15 années de recherche appliquée, j'ai travaillé en étroite collaboration avec un groupe de 25 techniciens et vétérinaires d'équipes de transfert embryonnaire, salariés des entreprises de sélection adhérentes à l'UNCEIA. Outre l'organisation et l'animation de deux réunions chaque année (entre 1998 et 2008), j'ai conçu plusieurs protocoles, afin d'investiguer les facteurs de variation de la réponse à la superovulation et des taux de gestation obtenus après transfert. La principale difficulté rencontrée a été de mobiliser les équipes TE autour de projets prospectifs de recherche, qui leur demandait un travail supplémentaire, alors que leurs activités de prestation étaient prioritaires, avec des pics saisonniers d'activité. Pour pallier ces contraintes, j'ai accompagné et facilité le recueil de données de terrain (conception de fiches d'enquêtes simples). J'ai encadré d'un DESS (Nadia Boubekour) et plusieurs étudiants ingénieurs pendant leur stage de fin d'études (Frédéric Aymar, Gildas Bourgoïn, Fabienne Gonon, Armelle Govignon) en collaboration avec l'ensemble des entreprises de sélection.*

*Ces travaux ont été valorisés sous forme de 4 articles scientifiques (Annexe 6.1 ; **A8, A14, A22, A23**), d'un article de synthèse (Annexe 6.2 ; **S2**), de conférences invitées lors de manifestations scientifiques (Annexe 6.5 ; **CI2, CI8, CI17**) ou professionnelles (Annexe 3.3 ; **CP9, CP10, CP29**) ainsi que de nombreuses communications orales préparées avec les équipes de l'UNCEIA et les entreprises de sélection (Annexe 6.4 ; **CO35, CO40, CO85, CO92, CO102, CO104, CO105, CO133, CO134, CO146, CO148**) et/ou avec les étudiants encadrés au cours de cette période (Annexe 6.4 ; **CO42, CO43, CO51, CO66, CO61, CO62**).*

Optimiser les techniques de reproduction a constitué un autre axe stratégique de mes recherches, intégrant la production d'embryons, l'utilisation de la superovulation et du transfert d'embryon (TE), la conservation des embryons ainsi que la ponction d'ovocytes. Les axes de recherche principaux ont visé à améliorer la production et la qualité des embryons produits en améliorant la préparation des donneuses d'embryons. Avec la sélection génomique, améliorer les performances de la technique OPU-FIV est devenu un réel enjeu pour les entreprises de sélection. L'OPU initialement développée en station a été ensuite mise en œuvre en ferme par de nombreuses équipes selon des modalités différentes (Galli et al., 2001 ; Merton et al., 2003 et 2013). Les collectes d'ovocytes par OPU peuvent être réalisées régulièrement deux fois par semaine sans superovulation ou après stimulation ovarienne par FSH, une fois par semaine ou une fois toutes les deux semaines ou à intervalles plus espacés (Knijn, 2012). Dans ce cas, les doses de FSH utilisées sont généralement inférieures à celles employées dans les protocoles de production d'embryons *in vivo*. Récemment, des traitements incluant une période de « coasting », délai compris entre 44 et 68 h entre la dernière injection de FSH et l'OPU ont permis d'améliorer les taux de développement, avec des valeurs supérieures à 50 % (Nivet et al., 2012).

L'utilisation commerciale de cette technique a augmenté de façon très importante depuis les années 2001, avec plus de 300 000 embryons produits par OPU-FIV au Brésil (Hasler, 2014). Des données récentes rapportent des nombres moyens d'ovocytes collectés variant de 6 à 16 et des nombres d'embryons produits *in vitro* compris entre 1,0 et 3,5 chez les donneuses de race Holstein (Annexe 6.4, **CO105** ; Pontes et al., 2010 ; Nivet et al., 2012 ; Merton et al., 2013 ; Viera et al., 2014). Chez le zébu de

race Nelore, les valeurs sont beaucoup plus élevées, avec 30 ovocytes collectés et 8 embryons produits (Pontes et al., 2011). Réussir à améliorer l'efficacité de ces méthodes doit permettre aux professionnels d'augmenter les nombres d'ovocytes collectés, la compétence au développement des ovocytes ponctionnés par OPU et les taux de développement embryonnaire après culture *in vitro*.

J'ai choisi d'illustrer cet axe avec les travaux réalisés dans le cadre de la thèse de Giselle Gamarra, qui a conduit des approches expérimentales *in vivo* en station ayant abouti à la description de nouveaux phénotypes de donneuses d'embryons associés au métabolisme de l'insuline, à la description de gènes de qualité embryonnaire et à la proposition de protocoles appliqués de préparation des donneuses (Annexe 6.1, **A21**, **A27**). Ces travaux, encadrés par Andrew Ponter (ENVA), ont permis de compléter l'étude des interactions entre nutrition et production d'embryons menée par Sandrine Freret, à partir d'un modèle de donneuses d'embryons suralimentées (Annexe 6.1, **A10**). Ces approches expérimentales *in vivo* sont délicates à mettre en œuvre, du fait des efficacités alimentaires différentes entre génisses. Malgré une ration contrôlée et identique pour toutes les femelles, les gains moyens quotidiens peuvent varier entre animaux et nécessitent un suivi strict de l'alimentation. Ces dispositifs sont très lourds à mettre en œuvre, du fait des coûts d'achats et de pension des donneuses en station, des manipulations répétées (pesées, échographies, ponctions d'ovocytes), des nombreux prélèvements à effectuer (cinétiques de métabolites) et des observations à noter (tailles des follicules). Le travail *in vivo* réalisé au cours de ces thèses est donc précieux et c'est une réelle satisfaction d'avoir pu suivre ces modèles, réfléchir aux résultats obtenus impliquant divers métabolites et hormones et en tirer des enseignements permettant d'améliorer de façon opérationnelle la préparation des donneuses d'ovocytes.

L'objectif de ce travail était de proposer une stratégie alimentaire permettant de moduler les niveaux de glucose et d'insuline dans le sang et le liquide folliculaire des donneuses d'ovocytes ; ainsi modifié, l'environnement ovarien pourrait entraîner une stimulation de la croissance folliculaire, une meilleure qualité ovocytaire au moment de l'OPU et par conséquent une meilleure production d'embryons, en quantité et en qualité. D'une part, une augmentation des apports énergétiques est généralement favorable à la croissance folliculaire chez les génisses et augmentent en 1 ou 2 jours le nombre de petits follicules recrutés sans effet sur les concentrations de FSH (**A10** ; Gutierrez et al. 1997 ; Armstrong et al, 2001 ; Gong et al., 2002 ; Garnsworthy et al. 2008). Cet effet combiné à un traitement FSH pourrait augmenter la réponse ovulatoire après superovulation (Gong et al., 2002). D'autre part, il a été montré que les concentrations élevées d'insuline circulante ont des effets négatifs sur la qualité de l'ovocyte (Fouladi-Nashta et al., 2005 ; Garnsworthy et al., 2008), la production *in vivo* (Mollo et al., 2007) et *in vitro* d'embryons de génisses superstimulées et suralimentées (**A10**).

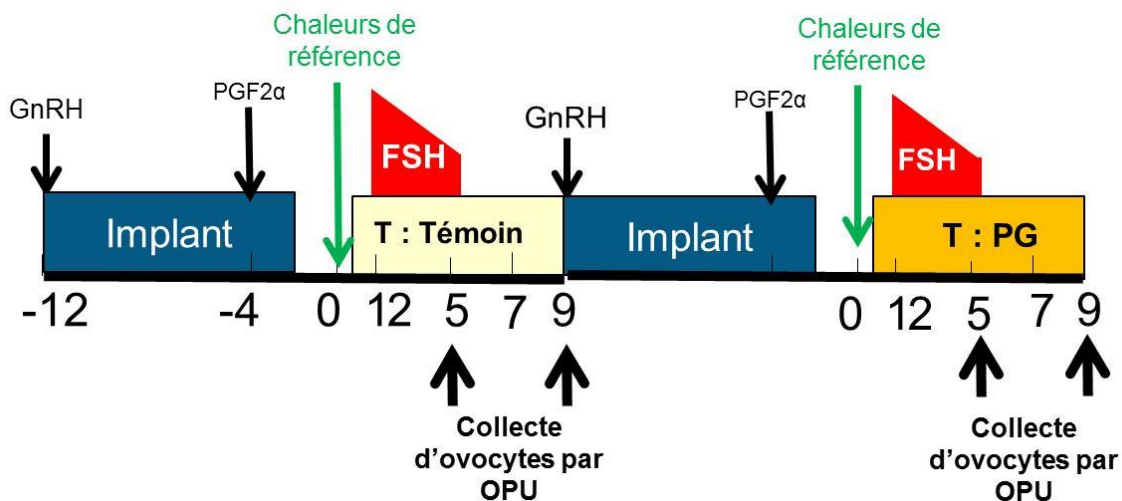
Garnsworthy et al. (2009) ont proposé une stratégie de l'alimentation glycogénique, depuis le vêlage et jusqu'à ce que les vaches reprennent leurs cycles ovariens, suivie d'une alimentation lipogénique avec une réduction des niveaux d'insuline jusqu'à 120 jours postpartum. Cette stratégie alimentaire en deux phases a permis d'augmenter les taux de gestation. Théoriquement, l'administration d'un régime hyperinsulinémique après le vêlage favoriserait le développement folliculaire et l'administration d'un régime hypoinsulinémique et riche en acides gras pendant la période d'accouplement favoriserait la compétence ovocytaire et probablement les niveaux de progestérone (Garnsworthy et al., 2009).

Les dispositifs expérimentaux ont été basés sur l'utilisation de propylène glycol alimentaire (PG, Propypact, DIFAGRI, France), connu pour augmenter la production de lait, prévenir la cétose et améliorer la reproduction. L'augmentation de la production de glucose, induite par le PG stimule la sécrétion d'insuline par le pancréas qui diminue la mobilisation des acides gras des tissus adipeux (substrats pour la cétogenèse hépatique ; pour revue, Gamarra, 2014).

Le premier protocole expérimental a investigué les effets du PG sur les métabolites sanguins, les hormones métaboliques, les hormones de la reproduction et sur la croissance folliculaire chez 10 génisses laitières et a permis de préciser les modalités de distribution du PG (A21).

Un second protocole a étudié les effets de l'administration quotidienne de propylène glycol sous forme liquide par voie orale (400 ml de PG) sur la production *in vitro* d'embryons chez des génisses laitières soumises à une restriction alimentaire modérée (A27). Une caractéristique originale du dispositif a consisté à sélectionner des donneuses présentant des phénotypes différents d'hormone anti-Müllérienne (AMH). Les concentrations plasmatiques d'AMH apparaissant stables sur une durée de plusieurs mois pour un même animal, elles sont proposées comme méthode prédictive simple d'évaluation du niveau d'activité ovarienne et de capacité de production d'embryons par une potentielle vache donneuse (A14 ; pour revue, Monniaux et al., 2012).

Pour ce protocole, seize génisses Holstein ont été regroupées en fonction de la concentration d'AMH circulante pré-expérimentale : basse (AMH comprise entre 1-80 pg/ml, groupe AMH B, n = 7) ou haute (AMH > 150 pg/ml; groupe AMH H, n = 9). Elles ont été soumises à deux périodes successives séparées par un intervalle de 6 semaines. Les génisses ont reçu, dans un plan croisé répété, une seule administration orale quotidienne de 400 ml d'eau (contrôle) du jour 1 au jour 9 du premier cycle oestral synchronisé suivie par 400 ml de PG du jour 1 au jour 9 lors de la deuxième synchronisation du cycle oestral. Les complexes cumulus-ovocytes (COC) utilisés pour la production *in vitro* d'embryons ont été recueillis par Ovum Pick-Up (OPU) toutes les 3 semaines. Les oestrus ont été synchronisés, suivis par une superovulation débutant le 2ème jour du cycle. Après chaque chaleur synchronisée, deux OPU ont été effectuées le 5<sup>ème</sup> jour du cycle oestral pour production d'embryons *in vitro*, puis le 9<sup>ème</sup> jour du cycle pour analyse des COCs (Figure 21). Après maturation, les COCs ont été fécondés *in vitro*. Les embryons ont été cultivés dans un milieu synthétique SOF pendant 7 jours.

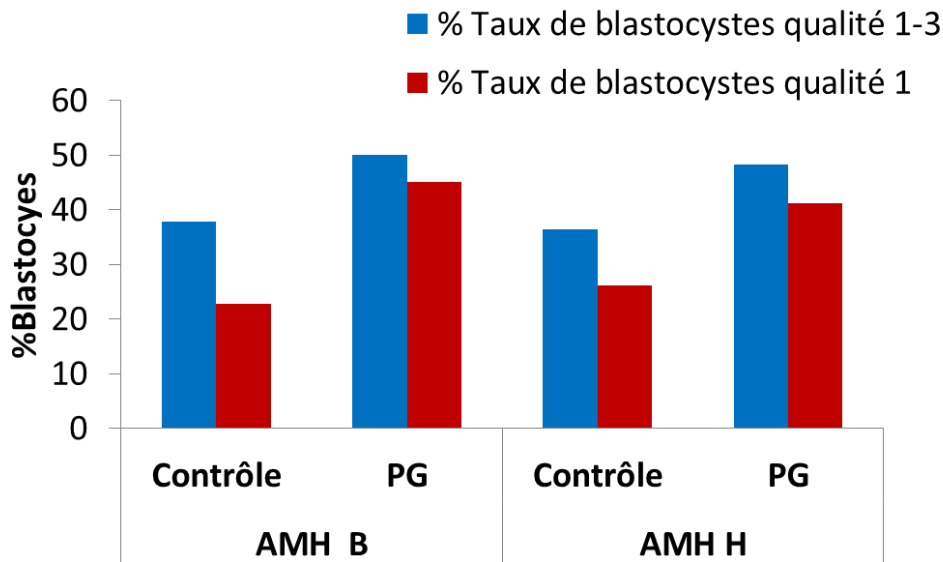


**Figure 21: Protocole expérimental réalisé chez 16 génisses Holstein sousmises à une sous-alimentation modérée et supplémentées par Propylène glycol (PG, 400 ml / j, voie orale) ou de l'eau (400 ml / j, Témoin), collectées 5 et 9 jours après synchronisation des chaleurs ; A27)**

L'administration de PG a accru les niveaux d'insuline et de glucose, conformément à ceux observés dans d'autres études (Grummer et al., 1994 ; Christensen et al., 1997 ; Miyoshi et al., 2001). Les concentrations de P4 ont été réduites par la supplémentation les jours 5 et 9 du cycle oestral pour toutes les génisses

traitées par rapport au groupe contrôle. L'administration de PG a augmenté considérablement le nombre de petits follicules (2-3 mm) et les follicules totaux (2-8 mm) le jour 2 du cycle chez toutes les génisses, ainsi que les follicules de taille moyenne (4-8 mm) et les follicules totaux (2-8 mm) le jour 5 chez les génisses AMH H.

L'administration de PG a également augmenté le nombre d'ovocytes de qualité 1 chez les génisses présentant un profil AMH H et a amélioré le taux de blastocystes développés *in vitro* de plus de 10 % (nombre total d'embryons / nombre d'ovocytes fécondés) chez toutes les génisses supplémentées par PG par rapport au groupe contrôle (Figure 22 ;  $P < 0,05$ ). Dans le groupe AMH H, le nombre de blastocystes de qualité 1 le jour 7 de culture a été augmenté avec la supplémentation PG par rapport au groupe contrôle (contrôle,  $5,2 \pm 1,0$  vs. PG,  $8,9 \pm 1,0$ ,  $P < 0,01$ ) alors qu'il n'y avait pas de différence entre les traitements chez les génisses AMH L (contrôle,  $1,9 \pm 1,1$  vs. PG,  $3,2 \pm 1,1$   $P > 0,05$ ). Le PG a accru la vitesse de multiplication cellulaire : 48 heures après l'insémination, une proportion plus importante d'embryons comportant 8 cellules a été notée par rapport aux stades 2 et 4 cellules, et ce, pour les deux groupes d'AMH (Groupe AMH B : 16,4 % vs. 43,8 % et Groupe AMH H : 27,1 % vs. 52,5 % ; **A27**).



**Figure 22: Taux de blastocystes développés après OPU-FIV chez 16 génisses Holstein soumises à une sous-alimentation modérée et supplémentées par Propylène glycol (PG, 400 ml / j, voie orale) ou de l'eau (400 ml / j, Contrôle) au cours du traitement de superovulation, selon leur profil d'AMH (Bas (B) avec AMH entre 1-80 pg/ml, n = 7 vs ou Haut (H) avec AMH > 150 pg/ml; n = 9 ; **A27**)**

L'apport de PG a permis l'amélioration de la production d'embryons *in vitro* après un traitement de superovulation et la collecte des ovocytes par OPU. Ce travail a confirmé l'augmentation de la compétence ovocytaire et embryonnaire avec l'administration de PG, après analyse de la cinétique des embryons jusqu'au stade 8 cellules. Après fécondation *in vitro*, la vitesse de développement, et plus spécifiquement le délai d'apparition de la première division (segmentation) et/ou celui de l'apparition du stade blastocyste est en relation avec la compétence au développement des embryons (Lonergan et al., 1999 ; Matoba et al., 2014). Les effets positifs du PG ont été plus marqués chez les génisses présentant un niveau d'AMH haut par rapport aux génisses présentant un niveau d'AMH faible.

Ces résultats indiquent qu'une supplémentation orale de PG de courte durée modifie les concentrations circulantes de métabolites et d'hormones métaboliques. Les effets métaboliques ont été observés dès le 5ème jour de supplémentation (concentrations d'IGF1), ce qui permet de proposer un plan de supplémentation de courte durée chez des donneuses d'ovocytes, de 5 à 6 jours précédant l'OPU à partir de l'émergence de la vague folliculaire précédant l'OPU, par exemple 2 jours avant le traitement de stimulation de la croissance folliculaire par l'hormone FSH, au moment de la ponction du follicule dominant (A27).

**En conclusion, la sélection génomique permet aux éleveurs laitiers de s'engager davantage vers un pilotage durable de leur troupeau, à la croisée des chemins entre le pilotage de la diversité génétique et l'adaptation des génotypes aux systèmes d'élevage. D'une part, l'évaluation génétique offre la possibilité de travailler simultanément sur de nouveaux caractères peu héréditaires, fonctionnels, comme les caractères liés à la reproduction. Grâce à ces outils permettant la sélection multi-critères, d'autres phénotypes liés à l'efficacité alimentaire, à la santé, au bien-être animal sont simultanément investigués. D'autre part le génotypage des femelles, possible dès la naissance, leur permet de trier précocement les futures reproductrices du troupeau, d'adapter leur stratégie de reproduction à leurs objectifs prioritaires de production : production laitière, amélioration des caractères fonctionnels ou encore vente de « génétique ». Grâce à ces outils innovants combinés à l'élaboration de systèmes experts, ils pourront gérer de façon plus sécurisée le renouvellement de leur troupeau, piloter de façon individualisée la mise à la reproduction des femelles, avec une palette de caractères sélectionnés en constante évolution et des plans d'accouplement optimisés. Toutefois, les corrélations génétiques entre les différents caractères sélectionnés doivent être investiguées précisément et régulièrement, afin de suivre l'évolution génétique et phénotypique des populations.**

L'utilisation raisonnée des biotechnologies de l'embryon constitue un levier complémentaire pour accélérer le progrès génétique. Au niveau des populations, ces outils peuvent impacter le progrès génétique, le contrôle de mutations délétères ou de caractères d'intérêt, l'efficacité de la reproduction, la santé et le bien-être, avec une meilleure gestion de la consanguinité. Un des enjeux majeurs pour l'amélioration des techniques est d'identifier, de comprendre et de maîtriser les effets épigénétiques, notamment pour les biotechnologies *in vitro* modifiant considérablement l'environnement des gamètes et de l'embryon, de la phase de maturation aux étapes précoces du développement embryonnaire. Le développement des techniques d'ingénierie du génome constitue un nouveau champ d'investigation pour les biotechnologies des gamètes et des embryons, soulevant néanmoins des questions éthiques et sociétales relatives à l'utilisation de ces techniques pour les espèces domestiques, et par prolongement pour l'espèce humaine.



## 2.4- Synthèse de l'activité scientifique : Nouveaux phénotypes de santé reproductive associés à l'émergence de dangers sanitaires chez les Ruminants

*Cadre du travail de recherche : Recherche réalisée en tant qu'Attachée de Direction du Laboratoire National de Contrôle des reproducteurs (LNCR, 2008-2012) puis Directrice du Laboratoire entre 2012 et 2014.*

*Laboratoire : Laboratoire National de Contrôle des Reproducteurs (LNCR), Directeur du Laboratoire Bernard Guérin (jusqu'en 2012), Maisons-Alfort, France.*

### 2.4.1 Contexte et finalités du travail de recherche

A partir de 2008, il m'a été proposé de rejoindre à mi-temps le LNCR, laboratoire dédié au contrôle sanitaire des animaux reproducteurs utilisés pour l'insémination, pour les espèces bovine, ovine, caprine et porcine. Au cours de cette période, deux nouveaux dangers sanitaires ont émergé en Europe puis en France, impactant la santé reproductive des ruminants et l'économie de ces filières : sérotype 8 du virus de la fièvre catarrhale ovine puis virus de Schmallerberg.

Chez la femelle, une grande diversité d'agents, infectieux ou non, sont capables de traverser la barrière placentaire et d'impacter le développement du fœtus. Les infections virales maternelles ne sont pas systématiquement transmises au fœtus, néanmoins, les virus qui passent la barrière placentaire peuvent induire des défauts de développement et avoir des effets tératogènes. Le résultat de l'infection virale sur le fœtus dépend de l'âge du fœtus lors de l'exposition à l'agent infectieux et inclut des anomalies tératogènes, des pathologies fœtales (avec ou sans avortement), des retards de croissance, des phénotypes d'infection post-natale persistance ou l'absence d'anomalies (pour revue MacLachlan et al., 2000 ; **S18**).

Chez le mâle, un grand nombre d'agents pathogènes sont présents dans les glandes du tractus génital ou les testicules, dans le système lymphatique, dans le réseau sanguin (durant la phase de bactériémie ou virémie) ou dans le tractus urinaire. Tous ces micro-organismes peuvent être transmis facilement par le liquide séminal, la semence ou par contact avec l'urine. Ceci est cohérent avec le fait que la grande majorité des micro-organismes listés par l'OIE (Organisation mondiale de la Santé Animale) ont été isolés à partir de prélèvements de semence (Hare 1985 ; Dejuq-Rainsford and Jegou 2004 ; Bielanski 2006 ; Zea-Mazo et al. 2010). Certains agents adhèrent à la surface du spermatozoïde, tandis que d'autres sont associés au plasma séminal ou présents dans la fraction cellulaire non spermatique de la semence (Vanroose et al, 1999). Lorsqu'un agent pathogène n'est pas détecté dans la semence, plusieurs possibilités doivent être envisagées : d'une part, cette situation peut être retrouvée lorsque le profil d'excrétion est intermittent (pour revue, **S2**) D'autre part, il est pertinent de s'interroger sur les limites de détection et la sensibilité du test utilisé, notamment en raison de l'utilisation de dilueurs pour la préparation de la semence et de la présence d'inhibiteurs dans cette matrice.

Avec l'émergence du sérotype 8 du virus de la fièvre catarrhale ovine en 2006 dans le Nord de l'Europe, puis l'émergence du virus de Schmallerberg en Allemagne en 2011, mes recherches ont contribué à caractériser les profils d'excrétion de ces virus dans le tractus génital, chez le mâle et la femelle, à investiguer les voies de transmission (gamètes, embryons, transmission placentaire) et à estimer les impacts sur la santé reproductive des troupeaux de ruminants. Ces projets m'ont permis de travailler sur les modèles ovin et caprin, ce qui a permis d'élargir mon expérience à d'autres espèces de ruminants.

## 2.4.2 Nouveau sérotype du virus de la fièvre catarrhale ovine : sérotype 8

Mon premier projet sur le sérotype 8 du virus de la fièvre catarrhale ovine (FCO) fut une enquête épidémiologique dans 8 élevages ovins des Ardennes fin 2007, en partenariat avec la coopérative d'insémination, le GDS des Ardennes. J'ai ensuite participé à plusieurs analyses de bases de données : une analyse des performances de reproduction réalisée *in silico* en collaboration avec l'Institut de l'Élevage et l'INRA (GABI) afin d'évaluer l'impact sur la fertilité des vaches et des génisses en 2007 et 2008 et une analyse des mortalités embryonnaires chez les bovins. Les résultats ont été valorisés sous forme d'un article de synthèse (Annexe 6.2 ; **S18**), de communications orales (Annexe 6.4 ; **CO89, CO96, CO108, CO113**), de présentations en congrès professionnel (Annexe 3.3 ; **CP41**) et au Réseau Français de Santé Animale (RFSA, **CI23**).

Le virus de la fièvre catarrhale ovine (FCO) est une maladie non contagieuse, transmise par voie vectorielle à certaines races ovines et espèces de ruminants (Verwoerd et al., 2004). Le virus de la FCO est un virus à ARN double brin, du genre Orbivirus, famille des Reoviridae (Mertens et al., 2004). Actuellement, 27 sérotypes distincts ont été décrits : ils partagent des groupes d'antigènes communs mais peuvent être distingués sur la base de résultats de séroneutralisation virale, spécifique de sérotype. Il est important de noter que les souches virales isolées sur le terrain varient considérablement, du fait des processus de réassortiment (Bonneau et al., 2001, 2004). La protection est spécifique de chaque sérotype : l'immunisation contre un des sérotypes n'induit pas de protection croisée très marquée vis-à-vis des autres sérotypes.

La FCO a longtemps été considérée comme une maladie circonscrite au pourtour méditerranéen, en lien avec la répartition géographique des espèces de moucheron Culicoïdes qui sont les vecteurs biologiques du virus (Gibbs et al., 1994; Tabachnick et al., 2004). L'apparition du sérotype 8 à la fin de l'été 2006 dans le Nord de l'Europe et la description de cas chez les bovins ont soulevé de nombreuses questions quant aux particularités de ce sérotype (**S18**).

### 2.4.2.1 FCO et cyclicité des brebis : approche épidémiologique

Lors de l'émergence du virus en 2007, il a été décidé d'estimer les impacts du virus sur la cyclicité des brebis dans le Nord Est de la France. Au total, 149 brebis de race Texel issues de 7 troupeaux ont été suivies durant la période de lutte, au cours de l'automne 2007. Les éleveurs des troupeaux sélectionnés avaient observé des signes cliniques chez 10 brebis au moins, au cours des 30 jours précédant la lutte. Dans chaque troupeau, deux groupes ont été constitués en fonction de l'observation ou non des signes cliniques. L'état corporel a été noté et des prises de sang ont été réalisées en moyenne 14±4 et 27±4 jours après le début de la période de reproduction pour dosage de la progestérone et détermination du statut sanitaire. Quatre statuts sanitaires ont été déterminés en combinant les résultats sérologiques (ELISA) et la détection d'ARN viral (PCR) au 2<sup>nd</sup> prélèvement sanguin (Tableau 17).

**Tableau 17 : Définition du statut FCO déterminé chez 149 brebis Texel (7 troupeaux, Ardennes) en automne 2007, en combinant les résultats sérologiques et la détection d'ARN viral (CO89, CO96)**

Statut FCO	Négatif	Infectieux précoce	Infectieux aigu	Immunisé
Sérologie (ELISA)	-	-	+	+
Détection ARN viral	-	+	+	-
Nombre de brebis (%)	19 (13 %)	54 (36 %)	43 (29 %)	33 (22 %)

La cyclicité a été déterminée à partir des concentrations plasmatiques de progestérone (deux prélèvements successifs inférieurs à 1,8 ng/ml correspondent à un profil d'inactivité ovarienne, les autres situations correspondant à des brebis cyclées). Toutes les brebis étaient cyclées, sans différence de progestéronémie entre les femelles négatives ou infectées (11.1±0.5 vs 11.4±0.5 ng/ml, p>0.05). La présence de signes cliniques dans les 30 jours précédant la lutte a été associée à un état corporel moins élevé lors du premier prélèvement (signes cliniques : 3.0±0.1 vs absence de signes : 3.5±0.1, p<0.01). Le statut sanitaire a été associé significativement à l'âge des brebis (plus de jeunes brebis ont présenté un statut négatif) et à l'état corporel estimé à la première prise de sang. En conclusion, le sérotype 8 ne semble pas impacter le taux de cyclicité des brebis Texel, mais est associé à l'âge et à l'état corporel des brebis.

#### 2.4.2.2 FCO et composantes de la fécondité bovine : approches in silico (CO108)

Le système national d'informations génétiques (SNIG) centralise au CTIG de Jouy-en-Josas les enregistrements relatifs aux bovins nés ou élevés en France. Les données utilisées pour établir le bilan de la fertilité des trois principales races laitières en France concernent les femelles et leurs inséminations de rang 1 à 5 réalisées au cours des campagnes 2000 à 2008, pour lesquelles le résultat est définitif, c'est-à-dire établi avec un recul suffisant pour constater un éventuel vêlage. Le taux de réussite des IA (ou taux de conception), sur lequel est basée l'évaluation génétique fertilité femelle réalisée par l'INRA est défini par le pourcentage d'actes suivis d'une gestation (Barbat et al., 2007).

Alors que l'intervalle vêlage première IA (IVIA1) demeurait remarquablement stable pour les vaches montbéliardes depuis le début des années 2000, le moment de la mise à la reproduction passe de 76 jours à 80 jours en moyenne en 2007 pour revenir à 79 jours en 2008 et 2009. En races normande et prim'holstein, un recul de 2 à 4 jours est aussi constaté en 2007, maintenu en 2008 et 2009 (Tableau 18). L'évolution du délai entre le vêlage et l'insémination fécondante (IVIAF) sur les années 2007 et 2008 résulte à la fois de l'augmentation de l'IVIA1 et de l'intervalle moyen entre cette première IA et la fécondation.

**Tableau 18 : Intervalles entre évènements en 2008 et variation par rapport à 2006 (CO108)**

Race	IVIA1*	Variation /2006	IVIAF	Variation /2006	IVV*
montbéliarde	79	+ 3	108	+ 8	393
normande	81	+ 2	111	+ 7	396
prim'holstein	95	+ 4	139	+ 10	419

\* IVIA1 : intervalle vêlage -1<sup>ère</sup> IA, IVIAF : intervalle vêlage – IA fécondante, IVV = intervalle entre vêlages

Dans les trois races, cet intervalle moyen s'est creusé au cours de ces deux années particulières. La figure 23 rend compte des résultats inhabituels de reproduction obtenus au cours de l'année 2007. C'est surtout visible en montbéliarde, où l'IVIA1 et l'IVIAF et au final l'intervalle vêlage-vêlage (IVV) se sont allongés pour diminuer en 2008 et en 2009, revenant vers la situation antérieure. L'étude des délais entre la première IA (IA1) et la seconde (IA2) montre que dans la zone Nord-est le recul du taux de réussite observé de mai à décembre 2007 s'accompagne d'une proportion de retours décalés (entre 25 et 37 jours ou entre 47 et 200 jours (montbéliarde), entre 27 et 38 jours ou 53 et 200 jours (prim'holstein)) plus importante que sur les périodes antérieures : 19,1%, contre 17,2% en 2006 et 16,7% en 2008 pour la même période.

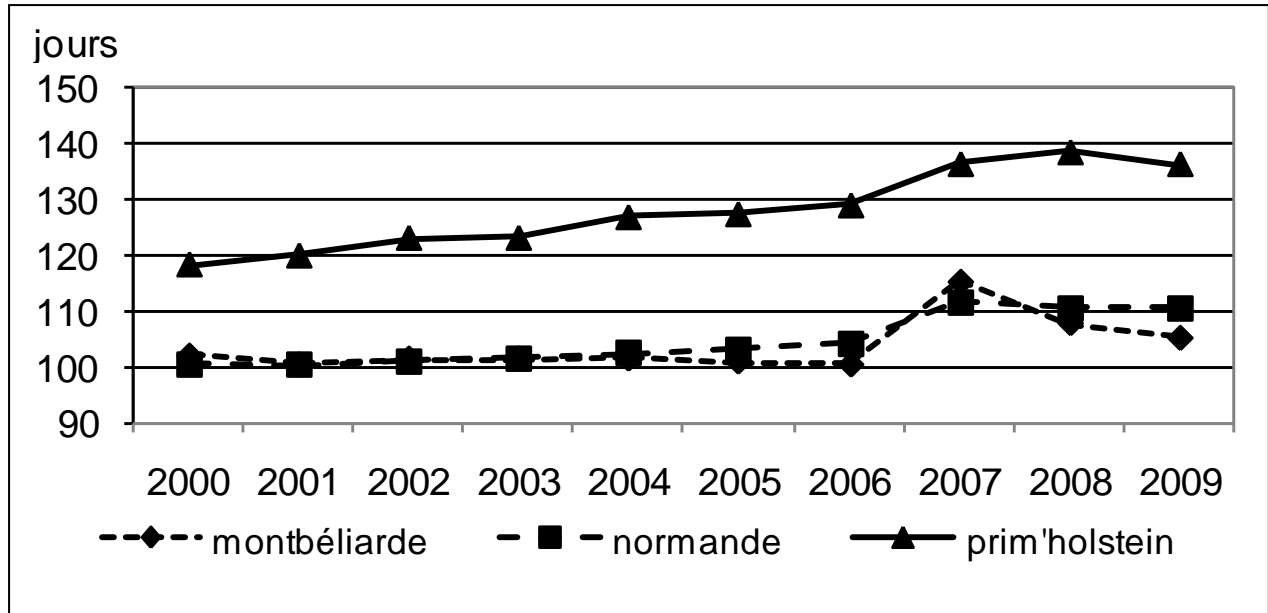


Figure 23: Evolution de l'intervalle entre vêlage et 1<sup>ère</sup> IA entre 2000 et 2009 pour les 3 principales races laitières (CO108)

Ces résultats sont cohérents avec d'autres observations de notre équipe qui ont observé une augmentation des mortalités embryonnaires tardives ou fœtales (CO113). L'effet de la FCO sur la reproduction a été observé sur les vaches du Nord-est de la France dans une première phase. La comparaison de leurs résultats avec ceux des vaches de la zone Ouest, touchées plus tardivement, montre en effet un recul des indicateurs de fertilité marqué dès l'été 2007 au début de l'épizootie, avec notamment un écart du taux de réussite des IA1 de l'ordre de 5 %, passant ensuite à 2 %.

Ces effets sur les mortalités fœtales et les nombres d'avortements ont été complétés par des observations d'hydrocéphalie rapportées fin 2007 par la Faculté Vétérinaire de Liège lors d'autopsie de veaux et d'agneaux (Desmecht et al., 2008). D'autres études menées ultérieurement en Belgique et aux Pays Bas ont confirmé la possibilité d'infection transplacentaire chez les bovins (De Clercq et al., 2008; Desmecht et al., 2008; Backx et al., 2009; Wouda et al., 2008).

### 2.4.3 Virus Schmallerberg (SBV), nouveau virus tératogène chez les ruminants

*L'émergence du virus Schmallerberg a été l'occasion de participer à un autre consortium européen d'envergure, piloté par Stéphan Zientara (ANSES) et regroupant 5 agences européennes de sécurité sanitaire (AHVLA, ANSES, CODA-CERVA, CVI, FLI) avec la participation du LNCR et de l'INRA (Plateforme d'infectiologie expérimentale (PFIE) de Nouzilly), financé par la Commission Européenne (DG Santé) entre 2012 et 2014. Au-delà des résultats scientifiques obtenus, ce projet m'a permis pour la première fois, de réaliser des manipulations et des autopsies en milieu confiné (Plateforme d'Infectiologie Expérimentale de l'INRA de Nouzilly. J'ai été amenée à effectuer des missions d'expertise au niveau national (Réseau Français de Santé Animale) et international, notamment pour travailler sur les protocoles sanitaires d'échanges de gamètes et embryons : j'ai participé à une délégation officielle du Ministère de l'Agriculture en juillet 2013, menée par Loïc EVAÏN (DGAL) à Moscou, pour négocier la reprise des échanges d'animaux vivants et de gamètes. J'ai été nommée « Hearing expert » à l'EFSA dans le groupe Schmallerberg (2013-2014) où j'ai assuré la rédaction de l'état des connaissances associées au risque de transmission via les gamètes, dans le rapport EFSA publié récemment (EFSA, 2014).*

*Les résultats scientifiques ont été valorisés sous forme de 4 articles scientifiques (Annexe 6.1 ; **A19, A24, A28, A29**), un article de synthèse (Annexe 6.2 ; **S18**), une communication orale (Annexe 6.4 ; **CO161**) J'ai été invitée à présenter les résultats scientifiques du LNCR pour des conférences invitées (Annexe 6.5 ; **CI42, CI43**) ainsi que des réunions professionnelles (organisées par des laboratoires comme CEVA, IMV, INTERVET ou organisées par des entreprises de sélection européennes comme CRV, VIKINGGENETICS ; annexe 3.4).*

En 2011, un autre virus a émergé en Europe. Le virus Schmallerberg virus (SBV) a été détecté pour la première fois en Allemagne et aux Pays-Bas en 2011. Les adultes infectés ont présenté des signes cliniques modérés : hyperthermie, diarrhée et chute de production laitière pendant quelques jours (Hoffmann et al., 2012). En décembre 2011, Les Pays-Bas ont rapporté un effet tératogène chez les ovins, suite à la naissance d'agneaux atteints de malformations, notamment de lésions d'arthrogrypose, d'hydrocéphalie. La présence de SBV en Belgique a ensuite été détectée en Belgique fin décembre 2011, au Royaume Uni le 22 janvier 2012. En France, le premier cas de SBV a été rapporté le 25 janvier 2012 après détection du génome viral par RT-qPCR dans des prélèvements de cerveau à partir d'agneaux malformés (pour revue Doceul et al., 2013).

Fin avril 2012, le virus avait été détecté dans 3628 troupeaux européens (Doceul et al., 2013). Dès le mois de mai 2012, des cas d'infection aiguë ont été observés dans le Sud Ouest de la France, indiquant que le virus avait repris sa circulation après l'hiver (Sailleau et al., 2013). Plusieurs rapports ont alors confirmé la diffusion rapide du virus dans différents pays d'Europe. Il est important de noter que ce virus n'avait jamais été décrit auparavant. L'analyse des séquences du génome viral a permis de classer le virus SBV dans la famille des Bunyaviridae et du genre *Orthobunyavirus*. Cette famille est composée de 350 virus qui sont répartis entre 5 genres : *Orthobunyavirus*, *Hantavirus*, *Nairovirus*, *Phlebovirus* et *Tospovirus*. Les virus de la fièvre de la vallée du Rift (*Phlebovirus*), d'Akabane (*Orthobunyavirus*) et le virus de la maladie des moutons de Nairobi (*Nairovirus*) sont responsables de maladies importantes en médecine vétérinaire. D'autres virus comme les *Hantavirus* responsables de fièvres hémorragiques avec des syndromes rénaux et cardiopulmonaires ou le virus de la fièvre hémorragique de Congo-Crimée (*Nairovirus*), sont des problèmes sérieux pour la santé humaine (Doceul et al., 2013). Le genre *Orthobunyavirus* est composé de plus de 170 virus incluant SBV.

La majorité des virus de la famille de Bunyaviridae, à l'exception du genre *Hantavirus*, sont transmis par des arthropodes comme les moustiques, les phlébotomes, les culicoides, les tiques et les thrips. Une

étude a rapporté la présence du génome viral de SBV dans un pool de culicoides (*Culicoïdes obsoletus* and *Culicoïdes dewulfi*) capturés en octobre 2011 en Belgique (pour revue Doceul et al., 2013). Ces études suggèrent que ces moucheron peuvent jouer le rôle de vecteurs pour la transmission de SBV tout comme pour le virus de la FCO.

Au-delà des signes cliniques modérés chez les adultes, l'induction de malformations congénitales sévères, d'avortements ou naissance d'animaux morts-nés ou momifiés a été décrite après infection de la mère pendant certaines périodes de la gestation. Suite à ces observations, un consortium européen a été constitué (AHVLA, ANSES, CODA-CERVA, CVI, FLI avec la participation de l'INRA PFIE et du LNCR), afin de mener des études de pathogénèse dans les 3 principales espèces de ruminants domestiques (bovine, caprine et ovine) et d'investiguer les effets du virus sur la fonction de reproduction, chez le mâle et la femelle (pour revue **S18**). Les partenaires français (ANSES, INRA et LNCR) ont travaillé sur les gamètes et les embryons, ainsi que sur la pathogénèse de l'infection chez la chèvre gestante.

#### **2.4.3.1 Phénotypes d'excrétion du virus Schmallenberg (SBV) dans la semence des Ruminants**

Trois projets ont été conduits avec l'objectif d'investiguer l'excrétion du virus chez le mâle : i) une approche épidémiologique longitudinale à partir de sept taureaux infectés naturellement (**A24**), ii) une approche expérimentale, en zone confinée, chez deux boucs (un bouc de race Alpine et un de race Saanen, **A28**) et iii) une approche en laboratoire, incluant un essai européen inter-laboratoires dédié à la méthode RT-PCR appliquée à la détection de génome viral dans la semence (**A29**). J'ai choisi de présenter les résultats du suivi longitudinal, car ce sont les premières observations réalisées en Europe, démontrant la présence de virus SBV infectieux dans la semence bovine (Annexe 6.1, **A24**).

Sept taureaux, âgés de 1 à 5 ans, séronégatifs au début de l'étude ont été sélectionnés avec les critères suivants : séro-conversion observée entre septembre 2011 et Décembre 2012, en lien avec une infection naturelle pendant cette période et des données de production de semence les plus complètes possibles (collectes répétées d'éjaculats, de 4 semaines avant à 4 semaines après le premier résultat sérologique positif). La semence a été préparée à partir de collectes réalisées 1 ou 2 fois par semaine, dans deux centres agréés, diluée à l'aide un dilueur commercial à base de jaune d'œuf (taureaux 2 à 7) ou d'un dilueur préparé sur site sans jaune d'œuf (taureau 1) puis conditionnée en paillettes de 0,25 mL, après 4 heures d'équilibration et congelée selon une procédure classique dans un milieu glycérolé (Amirat et al., 2004). La présence du génome viral de SBV a été détectée à l'aide de la méthode quantitative de RT-PCR, développée et validée par le FLI, en appliquant un protocole d'extraction automatisé (équipement King Fisher, Thermo Fisher ; Hoffman et al., 2011). Puis, la présence de virus infectieux a été appréciée en inoculant des groupes de souris IFNAR avec la semence des éjaculats les plus positifs. Des prélèvements de sang hépariné ont été testés par qRT-PCR pour détecter la présence de génome viral 4 jours après inoculation, et par ELISA pour détecter la présence d'anticorps 2 à 3 semaines après.

La période pendant laquelle le génome viral a été détecté dans la semence a varié de 2 semaines (taureau 5) à près de 3 mois (taureau 7) suivant le premier résultat positif, avec des valeurs de Ct très variables (17 à 38). Il est intéressant de noter que les taureaux 1 et 7 ont présenté une augmentation continue des valeurs de Ct pendant le suivi des animaux, jusqu'à ce que le génome viral devienne non détectable. Chez le taureau 1, un éjaculat négatif (16/12/2011) a été suivi par un test positif (19/12/2011), qui pourrait correspondre à une excrétion intermittente ou à la présence d'une faible quantité de génome viral, proche de la limite de détection (Figure 24)Figure 24: Présence de génome viral du virus Schmallenberg chez trois taureaux infectés naturellement et suivis pendant 2 ou 3 mois, autour de la période de séroconversion (A24).

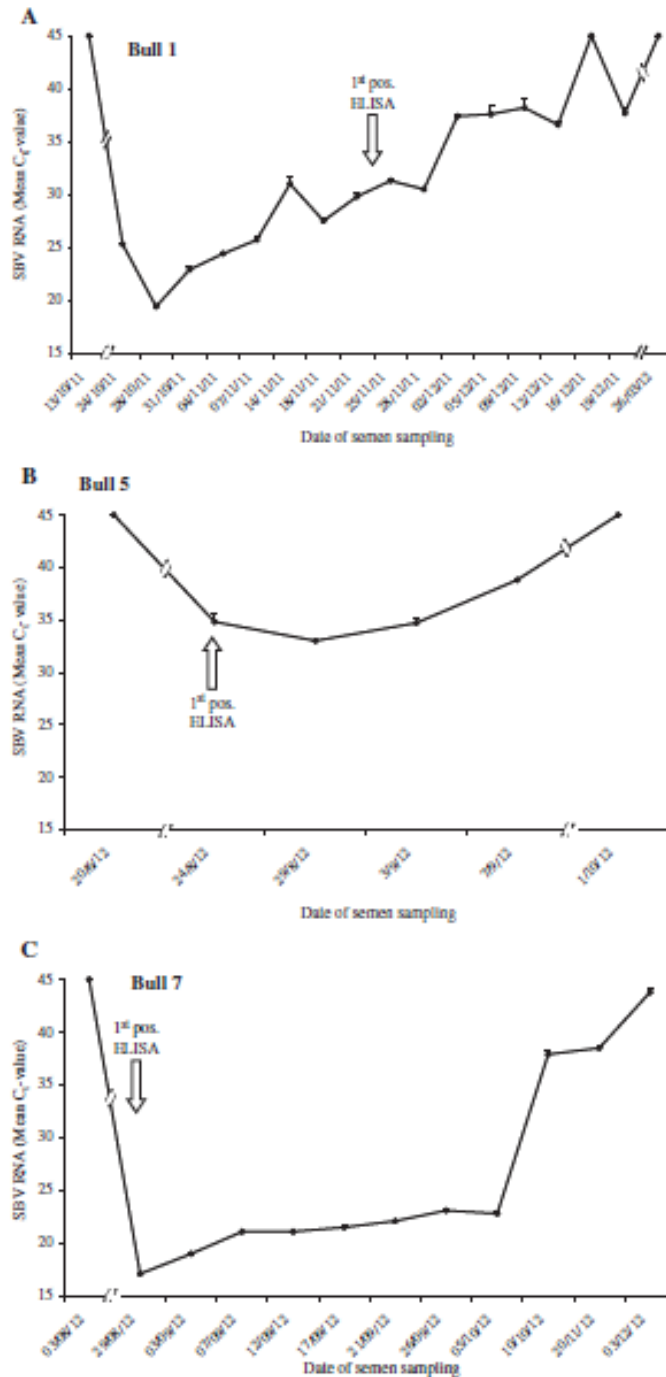


Figure 24: Présence de génome viral du virus Schmallenberg chez trois taureaux infectés naturellement et suivis pendant 2 ou 3 mois, autour de la période de séroconversion (A24)

La présence de virus infectieux dans la semence a ensuite été investiguée à l'aide d'un modèle de souris IFNAR -/-, sensibles à l'infection. Dans toutes les expériences citées ci-après, les souris inoculées n'ont pas présenté de signes cliniques et leurs poids n'ont pas évolué pendant le suivi.

Pour la première expérience, un volume de 100 µL de semence provenant d'un éjaculat positif (taureau 8, collecte du 29/8/2012, Ct=17) a été injecté par voie sous-cutanée à 3 souris adultes. Les prélèvements de sang réalisés chez ces souris ont permis de détecter le génome viral 4 jours après inoculation et de mettre en évidence la séroconversion des souris. Dans une seconde phase, quatre groupes de souris ont été inoculées avec ce même éjaculat ainsi que les 2 éjaculats entourant cette date de collecte. Les résultats observés lors des premières expériences ont été confirmés. L'inoculation de l'éjaculat suivant (7/9/2012) a induit la présence de faibles quantités de génome viral 4 jours après inoculation et la séroconversion de 2 souris sur les 4 inoculées. Il est intéressant de noter que toutes les souris chez lesquelles le génome viral n'a pas été détecté 4 jours post inoculation n'ont pas présenté de séroconversion, ce qui suggère qu'une virémie est requise pour induire une réponse humorale.

Ces résultats confirment que la semence peut contenir du virus infectieux, et ce, après séroconversion. Ceci a été démontré grâce au modèle de souris IFNAR<sup>-/-</sup>. Différents profils d'excrétion ont été observés chez 3 des 7 taureaux suivis. Deux animaux ont présenté des niveaux élevés de génome viral, alors que l'excrétion a été plus limitée chez le taureau 5. Chez quatre taureaux séropositifs, aucun génome viral n'a été détecté dans la semence, indiquant que l'excrétion du virus dans la semence semble être très variable chez les taureaux infectés naturellement.

Les résultats compilés dans le cadre du projet européen ont confirmé ces observations : à partir de données de terrain, le génome viral a été détecté dans 55 éjaculats sur 1719 éjaculats testés et issus de taureaux séropositifs (EFSA, 2014). Après infection expérimentale, les concentrations de génome viral les plus élevées ont été observées 4 à 7 jours après inoculation (Van der Poel et al., 2013). Dans cette étude, le virus SBV n'a été isolé qu'à partir de prélèvements sanguins.

Il a également été montré que la détection d'ARN viral dans la semence était largement dépendante de la méthode d'extraction (Hoffmann et al., 2013). Quatre profils différents ont été caractérisés : i) excrétion prolongée de génome viral (Hoffmann et al., 2013; **A24**), or ii) éjaculat positif unique (Hoffmann et al., 2013; Steinrigl et al., 2013) ou iii) excrétion intermittente (Hoffmann et al., 2013; Van der Poel et al., 2013) ou iv) l'absence d'ARN dans la semence (Hoffmann et al., 2013; **A24**).

### 2.4.3.2 Phénotypes fœtaux et transmission du virus Schmallenberg chez la chèvre (SBV)

Le virus Schmallenberg (SBV) est assez similaire à un autre orthobunyavirus, le virus Akabane, connu pour être associé à des troubles de la santé reproductive. Il a été rapporté des effets tératogènes pour le virus Akabane chez les bovins et les petits ruminants. En fonction du stade de gestation au moment de l'infection et de la durée de gestation de l'hôte, des effets congénitaux variés peuvent être observés. Les brebis et chèvres gestantes sont les plus sensibles entre le 28<sup>ème</sup> et le 56<sup>ème</sup> jour de gestation : le système nerveux central des fœtus est généralement le plus sévèrement atteint, avec des cas d'hydranencéphalie et d'arthrogrypose. De façon moins commune, le virus Akabane cause des encéphalites chez le nouveau-né et rarement chez l'adulte (Kirkland *et al.*, 1988).

Une étude épidémiologique réalisée dans une région caprine française a suggéré que les chèvres sont moins sensibles au virus Schmallenberg que les espèces bovine et ovine (Valas *et al.*, 2014). Une autre enquête d'épidémiosurveillance réalisée en France en 2012-2013 a révélé que 8 % des agneaux, 3 % des veaux et 2 % des chevreaux nés dans des troupeaux infectés par SBV ont présenté des malformations congénitales, ainsi que des cas de mortalité embryonnaire précoce rapportés par les éleveurs dans ces 3 espèces (Dominguez *et al.*, 2014).

Nous avons conduit des travaux d'infection expérimentale en station confinée, afin d'étudier la pathogénèse de l'infection SBV chez des chèvres au cours du premier tiers de gestation, entre 28 et 42 jours après insémination (Annexe 6.1 ; **A28**). Nos objectifs spécifiques étaient i) d'investiguer la sensibilité des embryons et fœtus en cas d'infection maternelle entre 28 et 42 jours de gestation, ii) de décrire les impacts sur la gestation et les lésions observées chez les fœtus et iii) de déterminer les tissus et cellules cibles pour le virus Schmallenberg en cas d'infection transplacentaire. Pour ces travaux, j'ai participé aux autopsies, notamment pour réaliser la dissection des tractus génitaux. Ces travaux ont fait l'objet d'une thèse (Laloy, 2015), encadrée par Stéphan Zientara, pour laquelle j'ai participé au comité de suivi.

Au total, 13 chèvres adultes de race Alpine et 16 de race Saanen ont été maintenues dans une infrastructure confinée de niveau 3 (PFIE, INRA Nouzilly, France). Toutes les femelles étaient séronégatives vis à vis du SBV, de la fièvre Q et de la brucellose. L'absence de génome viral a été vérifiée par RT-qPCR pour les virus de la Border disease et SBV. Les chèvres ont été synchronisées et inséminées. Un contrôle de gestation a été réalisé 35 et 42 jours après insémination par échographie : les chèvres non gestantes (15/29) ont été exclues du protocole. Le protocole a inclus trois groupes d'inoculation : un groupe inoculé 28 jours après insémination (G28; 5 chèvres gestantes), un groupe inoculé 42 jours après insémination (G42; 5 chèvres gestantes) et un groupe témoin (4 chèvres gestantes). Les chèvres des groupes G28 et G42 ont été inoculées par voie sous-cutanée avec 1 mL de sérum infectieux contenant SBV fourni par le Friedrich-Loeffler-Institut (FLI, 8). Le groupe témoin a reçu 1 mL de solution saline par voie sous-cutanée 28 (2 animaux) et 42 jours (2 animaux) après insémination. Après inoculation, des prélèvements sanguins ont été réalisés quotidiennement pendant 1 semaine, puis avec un rythme hebdomadaire jusqu'à l'euthanasie des animaux. Les prélèvements ont été analysés pour caractérisation hématologique et présence du génome de SBV. Les animaux ont été euthanasiés 53, 54 ou 55 jours après insémination.

A l'autopsie, tous les organes ont été évalués de façon macroscopique et un panel de tissus et liquides a été collecté pour des analyses histologiques et une recherche de génome viral (rate, noeud lymphatique préscapulaire, ovaire, oviducte, utérus, vagin). Les fœtus des chèvres gestantes ont été examinés, mesurés et un large panel de tissus fœtaux a également été prélevé pour ces analyses.

Les résultats de gestation sont présentés dans le tableau 19. La prolificité a été en moyenne de 2,2 foetus par chèvre dans les groupes G28 et G42, sans différence significative avec le groupe témoin (prolificité de 2,5). Néanmoins, 5 foetus sur 11 dans le groupe G28 étaient autolysés, de même que dans le groupe G42. Ceci indique que les foetus étaient morts avant autopsie. Il a été montré que la mortalité fœtale était plus fréquente dans ces 2 groupes que dans le groupe (P<0.05). Lorsque les chèvres étaient gestantes de deux foetus, la mortalité fœtale a été observée soit chez un des foetus, soit chez les deux, ou bien chez aucun des deux. Dans le cas de gestations triples, un ou deux foetus ont été trouvés autolysés.

**Tableau 19 : Résultats de gestation chez 3 groupes de chèvres gestantes, infectées expérimentalement avec le virus Schmallerberg 28 (G28) et 42 (G42) jours après insémination ou ayant reçu une injection saline aux mêmes périodes (Témoin, A28)**

Groupe	Nombre de foetus autolysés	Nombre total de foetus	Nombre de chèvres gestantes	Prolificité (nombre de foetus / chèvre)	Nombre de chèvres avec au moins un foetus mort
G28	5 <sup>a</sup>	11	5	2.2	3
G42	5 <sup>b</sup>	11	5	2.2	3
Témoin	0 <sup>a,b</sup>	10	4	2.5	0

<sup>a</sup> et <sup>b</sup>: P<0.05

Il a été possible de mettre en évidence la présence de génome viral chez tous les foetus issus des chèvres infectées au 42ème jour de gestation et chez la majorité de ceux issus des chèvres du groupe G28. Le génome viral était présent dans de nombreux organes (cerveau, muscle, poumons, cordon ombilical, thymus, foie), ainsi qu'au niveau placentaire. Le virus a pu être isolé de plusieurs organes de foetus vivants et de cotylédons. Ces résultats sont cohérents avec les observations rapportées chez les espèces bovine et ovine (Bilk et al., 2014 ; Wisløff et al., 2014 ; Balseiro et al., 2015). Les résultats obtenus lors des autopsies (à 55 jours de gestation) ont démontré la présence de mortalités fœtales, la présence de foetus vivants et présentant des lésions du système nerveux central et des foetus vivants sans lésion.

Cette expérimentation a permis de mettre en évidence la possible transmission transplacentaire du virus SBV chez des chèvres gestantes entre 28 et 42 jours de gestation. Chez les ruminants, les échanges foeto-maternels sont réalisés au niveau des caroncules. Chez la brebis, la transmission placentaire a été rapportée entre 38<sup>ème</sup> et le 45 jour de gestation. De plus, le virus a été détecté au niveau placentaire et chez des foetus ovins dès 7 jours post-infection (Stockhofe et al., 2013). Dans cette étude, tous les tissus placentaires des chèvres du groupe G42 contenaient du génome viral à 12 jours post-infection et le virus a pu être isolé pour au moins une des chèvres du groupe. Le génome viral a été mis en évidence chez la majorité des chèvres du groupe G28, euthanasiées 26 jours après infection. La période critique pour la transmission placentaire semble proche de celle observée pour le virus Akabane (Kirkland *et al.*, 1988).

Ces observations sont cohérentes avec les lésions et les effets tératogènes rapportés chez d'autres espèces de Ruminants (Tableau 20). Comme pour d'autres virus du groupe Simbu, les infections au cours de cette période ne se traduisent pas systématiquement par des anomalies de la gestation ou peuvent conduire à une réponse anticorps chez le foetus (Tableau 20 ; Wernike et al., 2014). En outre, d'autres auteurs ont rapporté des cas d'hydranencephalie, d'hydrocephalie, d'hypoplasie cérébrale et cérébelleuse et de porencephalie lors d'autopsies (Garigliany et al., 2012 ; Hahn et al., 2012 ; Van den Brom et al., 2012). En conclusion, cette expérimentation a permis de décrire très précisément les lésions macroscopiques et histologiques présentées par les foetus issus des chèvres gestantes infectées et d'acquérir de nouvelles connaissances sur la pathogénèse de ce virus émergent chez la chèvre.

**Tableau 20 : Troubles de la reproduction et effets tératogènes associés à l'infection avec le virus Schmallerberg chez les Ruminants (S18)**

Troubles de la reproduction	Pays	Espèce(s)	Référence
15 agneaux et 2 veaux avec des malformations. Présence de génome viral dans le liquide placentaire, le cerveau, le cordon ombilical et la moelle épinière chez la plupart des animaux.	Allemagne	bovine	Bilk et al., 2012
Troupeaux infectés: 94% (190/201) de brebis et 99% (145/146) de vaches séropositives. Troupeaux avec nouveaux-nés malformés : > 90% (231/255) de brebis et 95% (795/834) de vaches séropositives.	Pays-Bas	bovine, ovine, caprine	Loeffen et al., 2012
Test RT-PCR sur le cerveau de plus de 600 agneaux et 1200 veaux avec syndrome d'arthrogrypose. SBV confirmé chez 22 % des agneaux et 19 % des veaux.	Pays-Bas	bovine, ovine	Van Maanen et al., 2012
2166 nouveaux-nés malformés issus de 1621 fermes. Résultats RT-PCR positifs chez 29% des cerveaux d'agneaux testés, 14% des cerveaux de veaux testés et 9% des cerveaux de chevreaux testés.	Pays-Bas	bovine, ovine, caprine	Bowstra et al., 2013
RT-PCR de différents tissus (cerveau, of various tissues (cerveau, cervelet, tronc cérébral, moelle épinière, thymus, rate, ganglions lymphatiques, méconium) de 90 agneaux et 81 veaux malformés. Le tronc cérébral est le tissu le plus approprié pour détecter SBV par vironeutralisation (95% d'agneaux positifs et 44% de veaux).	Belgique	bovine, ovine	De Regge et al., 2013
26 troupeaux ovins allaitants dont 13 infectés (I, 961 ovins) vs 13 négatifs (N, 331 ovins). Augmentation du taux d'avortements (I: 6.7% vs N: 3.2%), de la fréquence d'agneaux malformés (I: 6.7% vs N: 3.2%) et des dystocies (I: 6.7% vs N: 3.2%). Taux de prolificité divisé par deux dans les troupeaux infectés (93%).	Belgique	ovine	Saegerman et al., 2013
21 brebis séro-négatives SBV inoculées avec 1 ml de serum de veau virémique SBV à 38 ou 45 jours de gestation. Virémie détectée 3 jours post-infection chez toutes les brebis sauf une. Prélèvements d'autopsie réalisés de 39 fœtus à 7 jours post-infection. Cordon ombilical et liquide amniotique fœtal collecté des fœtus infectés à 38 (85 % et 15 % respectivement) and 45 jours (74 % et 11 % respectivement).	Pays-Bas	ovine	Stockhofe et al., 2013
27 veaux dont les mères ont été infectées naturellement pendant les 5 premiers mois de gestation (entre 47 et 162 jours) : 1 veau avec des malformations typiques, 1 mort-né, 9 veaux sans signes cliniques, avec des taux élevés d'anticorps mesurés avant prise de colostrum (6 avec présence de génome viral dans le méconium)	Allemagne	bovine	Wernicke et al., 2014



## 3-Perspectives de recherche : à la croisée des phénotypes de santé et des génotypes bactériens

*Cadre du travail de recherche : Projets réalisés en tant que chef de l'Unité des Zoonoses Bactériennes (UZB) et responsable des mandats de référence pour les brucelloses (Laboratoire OIE, Laboratoire de référence Européen, Laboratoire National de Référence, Centre de Référence) depuis juin 2014.*

*Laboratoire : Laboratoire de Santé Animale, ANSES, Maisons-Alfort, France. Directeur du Laboratoire Pascal Boireau*

### 3.1 Contexte et finalités du travail de recherche

J'ai été recrutée en juin 2014 comme chef de l'Unité des zoonoses bactériennes. Cette partie décrit les activités et résultats obtenus en 18 mois au sein du laboratoire de Santé Animale (LSAn). L'année 2014 a été principalement consacrée à la réorganisation de l'Unité. Le bilan de ce travail prospectif comprenait 3 axes intégrant les dimensions recherche, référence et organisation / environnement de travail : 1) Maintenir l'expertise et moderniser les activités de référence, 2) Développer les projets transversaux, inter-équipes ; 3) Améliorer l'environnement de travail (D27).

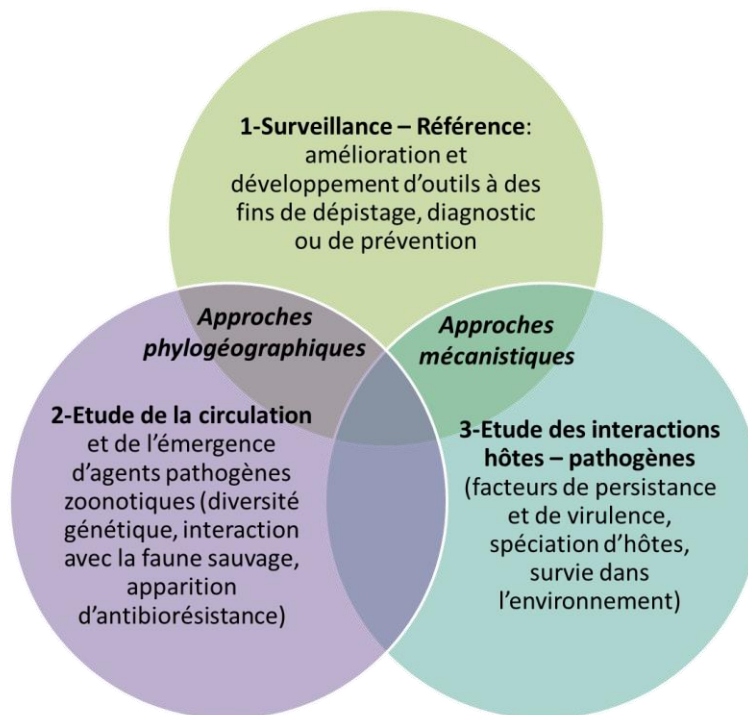
L'Unité traite d'infections bactériennes transmissibles de l'animal à l'homme et constituant un risque majeur de santé publique. Toutes peuvent être à l'origine de cas humains sévères, parfois mortels, requérant un traitement lourd et/ou prolongé et pouvant être à l'origine d'une incapacité professionnelle plus ou moins prolongée voire de lourds handicaps. Chez l'animal, elles peuvent induire des pertes économiques lourdes, du fait de la mortalité, avortements ou stérilités induites ou des abattages et/ou restrictions commerciales imposées par la réglementation nationale, européenne ou internationale. Toutes sont des maladies à déclaration obligatoire et/ou professionnelles chez l'homme et des maladies réglementées chez l'animal. Toutes (hormis la tuberculose bovine et la chlamydie) sont dues à des bactéries utilisables à des fins malveillantes (bioterrorisme). L'Unité Zoonoses Bactériennes est autorisée à détenir et manipuler cinq types de bactéries soumises à la réglementation MOT (Micro-Organismes et Toxines hautement pathogènes) : *Bacillus anthracis*, *Brucella spp.* (sauf *B. ovis*), *Burkholderia mallei* et *B. pseudo-mallei*, *Francisella tularensis*. Toutes requièrent des équipements (laboratoire confiné de niveau 3), des autorisations particulières pour leur détention, leur mise en œuvre, leur transport, et des procédures adaptées pour leur manipulation afin de garantir la sécurité et la sûreté biologiques (Arrêté du 23 janvier 2013). Les autorisations délivrées par l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament (ANSM) sont soumises à un niveau élevé d'exigences relatives à la traçabilité des opérations, à la formation et à l'habilitation des personnels et à l'analyse des risques biologiques associés à chaque MOT.

Outre les sept mandats de référence nationaux en santé animale pour l'ensemble des maladies animales couvertes, l'Unité s'implique depuis plusieurs années dans les réseaux européens de référence (LRUE), avec deux mandats (Brucellose et maladies équine [morve]) et plusieurs mandats internationaux pour Brucellose (FAO, OIE), Chlamydie (dossiers déposés auprès de l'OIE en 2015 pour la Chlamydie aviaire et la Chlamydie abortive) et Tuberculose bovine (OIE). Ces mandats facilitent les collaborations avec les équipes européennes et internationales et ont permis à l'Unité d'interagir avec de nombreux réseaux.

L'Unité conduit des travaux sur 6 genres bactériens (*Brucella*, *Mycobacterium*, *Chlamydia*, *Bacillus anthracis*, *Francisella tularensis*, *Burkholderia mallei* et *B. pseudomallei*). Le projet de l'Unité pour les trois prochaines années a été décrit début 2016 dans le cadre d'une évaluation collective prévue en juin 2016 (Annexe 6.9, D28).

Ce projet s'articule autour de 3 axes (Figure 25) :

- Conforter les activités de surveillance et de référence avec l'objectif d'améliorer et de développer les outils à des fins de dépistage, de diagnostic (bactériologie, immuno-sérologie, biologie moléculaire) ou de prévention (vaccins),
- Investiguer la circulation et l'émergence des agents pathogènes zoonotiques à l'aide d'approches phylogéographiques (étude de la diversité génétique), d'études épidémiologiques (en particulier, ciblées sur la faune sauvage et l'environnement) et la caractérisation de nouveaux phénotypes bactériens (antibiorésistance),
- Etudier les interactions hôtes/pathogènes à l'aide d'approches mécanistiques (modèles de cultures cellulaires, amibes, double hybride en levure) afin d'identifier les facteurs impliqués dans la virulence, la persistance ou encore la spéciation d'hôtes.



**Figure 25: Axes stratégiques du projet 2015-2018 de l'Unité des Zoonoses Bactériennes (D28)**

Le projet scientifique de l'Unité se décline en 3 grands thèmes : (1) étude de la circulation et de l'émergence des agents pathogènes bactériens zoonotiques, (2) développement d'approches phylogéographiques à l'aide d'outils haut débit (séquençage), en particulier pour *Bacillus anthracis*, *Brucella sp*, *Chlamydia sp*, *Mycobacterium bovis* et prochainement *Francisella tularensis*, (3) étude des interactions hôtes – pathogènes. Les deux premiers axes sont étroitement liés, puisque le développement d'outils de typage peut conduire à la fois à améliorer la surveillance des agents pathogènes circulant sur le terrain, mais aussi être valorisé au travers d'études de phylogénie. Le développement d'outils basés sur le séquençage de souches ou d'ADN bactériens est une priorité pour l'ensemble de l'Unité, qui souhaite déployer rapidement des approches NGS (next generation sequencing) avec l'objectif de les intégrer ensuite dans les activités de référence.

L'étude des interactions hôtes-pathogènes représente un axe stratégique à renforcer dans les prochaines années, avec l'objectif d'investiguer des phénotypes contrastés associés à la virulence, à la

persistance chez l'hôte ou à l'apparition d'antibiorésistances. L'utilisation de modèles originaux de cultures bactériennes et/ou cellulaires (cultures d'amibes, lignées cellulaires différentes, conditions de culture contrastées) voire de modèles animaux sera développée en interaction avec les autres unités du laboratoire. Le renforcement des compétences en culture cellulaire serait une opportunité pour développer une plateforme de culture cellulaire, qui pourrait fonctionner en étroite collaboration avec les autres unités du laboratoire de Santé Animale, afin d'élargir la palette de modèles cellulaires utilisés pour les agents pathogènes et de potentialiser la plateforme d'interactomique, animée par Damien Vitour pour le laboratoire de santé animale.

J'ai choisi d'illustrer ces différentes perspectives à partir i) de projets labellisés en 2015 associés à la circulation et au diagnostic de *Brucella* pour lesquels j'ai apporté ma contribution, ii) d'un projet dédié à l'analyse de la diversité génétique de *Francisella Turalensis*, également labellisé en 2015 et iii) d'une réflexion autour des interactions hôtes-pathogènes, qui pourra contribuer aux futurs projets de l'Unité.

### 3.2 Etude de la circulation et de l'émergence des agents bactériens zoonotiques

*Collaborations : CAHEC Qingdao, Chine (Dr FAN Weixing) et IDVET (Philippe Pourquoiier)*

*Financement : CAI YUANPEI 2015-2017, financement d'une thèse CIFRE défense par IDVET avec une allocation de la DGA (Direction Générale de l'Armement)*

J'ai rédigé deux projets en 2015 (projet CAI YUANPEI 2015-2017 avec ma collègue Virginie Mick ; projet de thèse CIFRE Défense avec IDVET et co-financement DGA) qui permettront de travailler sur la circulation et le diagnostic de *Brucella* au travers de deux questions scientifiques :

- 1- développement d'un outil moléculaire de diagnostic rapide, sensible et exhaustif nécessitant la mise au point combinée d'une technique d'extraction de l'ADN à partir du lait de ruminants et une technique d'amplification intégrant les cibles moléculaires les plus pertinentes
- 2- détection de *Brucella* à partir de prélèvements contaminés naturellement dans une ou plusieurs zones endémiques dont la Chine, issus de plusieurs espèces de ruminants (prélèvements de lait, ganglions rétro-mammaires) à l'aide de l'outil développé, puis isolement et caractérisation phénotypique des souches de *Brucella*.

Ces projets seront menés avec l'aide de Marion Holzapfel, doctorante recrutée dans l'Unité depuis novembre 2015 (co-direction de thèse avec V Mick). A l'issue des travaux de mise au point de l'outil, des prélèvements contaminés naturellement seront collectés à partir de différentes espèces de ruminants dans une ou plusieurs zones endémiques dont la Chine, puis testés à l'aide de l'outil développé et caractérisés à l'aide de méthodes phénotypiques et génétiques, afin de valider l'outil et d'investiguer les interactions entre *Brucella* et la glande mammaire chez plusieurs espèces de ruminants sensibles.

*Brucella* est l'agent étiologique de la brucellose, zoonose bactérienne à déclaration obligatoire en France. Elle se transmet principalement par la consommation de lait cru et de produits à base de lait cru issus d'animaux contaminés. Chez les ruminants produisant du lait, *Brucella* se réplique dans la glande mammaire et les nœuds lymphatiques supra-mammaires, ce qui conduit à une excrétion prolongée dans le lait, intermittente chez certaines femelles, pouvant se maintenir chez la brebis jusqu'à trois lactations successives (Grillo et al., 1997 ; Titarelli et al., 2005). Son incidence est en forte diminution en France grâce aux programmes de lutte mis en place chez les ruminants depuis plusieurs décennies, mais le pourtour méditerranéen, l'Afrique, l'Asie, l'Inde et l'Amérique du Sud restent des zones endémiques à l'heure actuelle et d'après l'OMS, 500 000 cas humains incidents surviennent chaque année.

Dans les zones infectées, l'identification rapide des ruminants infectés est un enjeu majeur pour la réussite des programmes de lutte. Actuellement, le dépistage est principalement réalisé grâce à des méthodes immuno-sérologiques, permettant de détecter les anticorps dans le sérum ou dans le lait (Godfroid et al., 2010). Disposer d'un outil de diagnostic direct, très sensible, exhaustif et facile à mettre en œuvre serait un plus, notamment s'il est applicable à des prélèvements de lait. Chez la brebis, il a été rapporté la détection de brebis séronégatives et pourtant excrétrices dans le lait (Hamdy et Amin, 2002), ce qui renforce l'intérêt diagnostique des méthodes moléculaires par rapport aux approches sérologiques. Dans ce contexte, la Chine est un pays particulièrement intéressant, du fait d'une industrie laitière développée, d'une prévalence élevée de cas de brucellose chez les ruminants et la détection de plus de 40 000 cas incidents / an chez l'homme, au cours de ces dernières années (Ponsart, communication personnelle).

A ce jour, la technique moléculaire optimale d'identification du genre est une PCR en temps réel (RT-PCR) qui cible trois gènes spécifiques des *Brucella* : *bcq31*, *IS711* et *per* (Bounaadja et al., 2009). D'autres PCR multiplexées sont disponibles : AMOS PCR (Bricker et al., 2003) qui discrimine *B. abortus* (bv 1-2 et 4), *B. melitensis* (bv 1-3), *B. ovis* et *B. suis* (seulement le bv 1) et la Bruce-ladder (8 marqueurs génétiques) qui différencie entre les espèces de *Brucella* classiques, vaccinales et marines (Garcia-Yoldi et al., 2006 ; Lopez-Goni et al., 2011 ; pour revue, Mick, 2014). Des techniques de PCR HRM (High Resolution Melt) ont également été développées à partir de panels de SNPs (Winchell et al., 2010 ; Gopaul et al., 2014). Toutefois, une des principales limites de ces méthodes est le manque de sensibilité lorsqu'elles sont appliquées à des échantillons de terrain (O'Leary et al., 2006 ; Winchell et al., 2010).

Par ailleurs, avec la présence d'inhibiteurs, le lait reste une matrice particulièrement difficile à travailler, riche en lipides et protéines (Wernars et al., 1991), pouvant influencer la quantité d'ADN extraite ainsi que le résultat de PCR (Mahmoudi et al., 2011; Pontiroli et al., 2011). De plus, les variations de composition observées entre les espèces de ruminants sensibles (bovins, ovins, caprins, camélidés) et la diversité des profils d'excrétion dans le lait (Titarelli et al., 2005) compliquent la standardisation des méthodes et nécessitent d'adapter les différentes étapes, dont l'extraction d'ADN (Psifidi et al., 2010). Dans une étude limitée à la crème (1 à 1,5 mL), mais portant sur 390 cultures positives issues de vaches naturellement infectées, Perdrix et Chirol (1975) dénombreaient moins de 1 à 12 colonies de *Brucella* dans 64 % des échantillons, 13 à 30 colonies dans 28 % des échantillons et plus de 30 colonies dans les 8 % restant, soit au plus quelques dizaines d'UFC par mL. D'autres études de survie de *Brucella* dans les produits laitiers publiées plus récemment (O'Leary et al., 2006 ; Saegerman et al., 2010) utilisent comme valeur de référence une concentration de 103 UFC/mL de lait. Comparativement à la brucellose bovine, peu de publications traitent du niveau d'excrétion de *B. melitensis* dans le lait des femelles de petits ruminants infectés. Des concentrations de *B. melitensis* au moins égales à 103 UFC par mL dans des laits de chèvres et de brebis infectés ont été rapportées (Hamdy et Amin, 2002).

En outre, les caractères microbiologiques et biochimiques doivent être obligatoirement combinés pour identifier le genre *Brucella*, puis l'espèce et le biovar (bv) (Alton, 1988). Le développement d'un outil moléculaire robuste, présentant un pouvoir discriminant capable de différencier les souches est compliqué par la faible diversité génétique des espèces du genre *Brucella* (homogénéité de l'ADN > 90 % ; Mick et al., 2014). Le développement d'approches basées sur le séquençage de génome complet à l'aide d'outils NGS ouvre de nouvelles perspectives pour développer des systèmes de diagnostic à haut pouvoir résolutif. Comme pour d'autres espèces bactériennes, le principal avantage serait de disposer d'un outil discriminant sans avoir à recourir au séquençage (Girault et al., 2014a et b).

Pour la réalisation de ces projets, les étapes suivantes sont prévues en collaboration avec les scientifiques de l'équipe *Brucella* (Guillaume Girault, Maryne Jay, Virginie Mick) :

- 1-Analyse de la bibliographie décrivant les outils moléculaires développés en microbiologie à partir de prélèvements de lait (méthodes d'inactivation, méthodes d'extraction, cibles),
- 2-Analyse *in silico* des génomes de *Brucella* disponibles dans les bases de données publiques, afin de choisir les cibles moléculaires d'intérêt,
- 3-Inoculation expérimentale de prélèvements de lait de différentes espèces de ruminants (bovins, ovins, caprins) avec différentes concentrations des suspensions cellulaires issues d'espèces de *Brucella* retrouvées chez les ruminants afin de i) mettre au point une méthode d'inactivation adaptée aux prélèvements de lait, ii) comparer différentes méthodes d'extraction et d'extraire des quantités d'ADN suffisantes pour mener un protocole d'amplification.
- 4-détection de *Brucella* à partir de prélèvements contaminés naturellement dans une ou plusieurs zones endémiques dont la Chine, issus de plusieurs espèces de ruminants (prélèvements de lait, ganglions rétro-mammaires) à l'aide de l'outil développé, puis isolement et caractérisation phénotypique des souches de *Brucella*.

Pour ce dernier volet, il sera possible de s'appuyer sur le China Animal Health and Epidemiology Center (CAHEC, Qingdao, Chine). Le Laboratoire de Santé Animale a initié un jumelage avec cette équipe depuis 2012, afin de permettre à ce laboratoire d'acquérir les techniques de diagnostic reconnues par l'OIE. En 2016 et 2017, il est prévu avec ce laboratoire de procéder à une caractérisation phénotypique et génétique d'un panel de souches de *Brucella* circulant sur le territoire chinois dans le cadre d'un projet labellisé « CAI YUANPEI », qui soutient l'accueil pendant 4 mois de la doctorante encadrée par le LSA. Les souches les plus intéressantes de ce panel, ainsi qu'un panel complémentaire de souches de la collection du laboratoire ANSES seront caractérisées sur le plan moléculaire.

### 3.3 Approches phylogéographiques et diversité génétique des agents bactériens zoonotiques

*Collaborations : LRUE Brucellose ; CNR des Francisella, CHU Grenoble Alpes, Pr Max Maurin*

*Financements : LRUE Brucellose ; ANR Astrid 2016-2018*

Dès le mois de juillet 2014, j'ai favorisé le développement des approches Next Generation Sequencing (NGS) dans le cadre des activités de recherche et de référence de l'Unité : le programme prévisionnel de travail du LRUE Brucellose et les budgets associés ont été remaniés avec les scientifiques de l'équipe afin d'intégrer dans le budget le poste d'un scientifique junior en charge de travailler les approches génomiques appliquées à *Brucella*. Ces approches sont en plein essor, avec de nombreux génomes publiés au cours de l'année 2015.

Récemment, Yang et al (2016) ont appliqué une approche pan-génome à 42 génomes de *Brucella* : ils ont ainsi identifié 1710 gènes appartenant au core-genome, et 1252 gènes essentiels pour la survie. L'analyse fonctionnelle du core-genome a montré que les gènes du métabolisme énergétique et du métabolisme des acides aminés jouent un rôle important chez *Brucella*. Il est intéressant de noter la variabilité observée entre les génomes étudiés : *B. melitensis* M5-90 regroupe le plus grand nombre de gènes spécifiques (97), alors que *B. suis* S2 n'en compte que 6. Ces gènes spécifiques pourraient correspondre à de nouveaux gènes issus de transfert horizontal de gènes (Gogarten and Townsend 2005; Lawrence 2005) si l'on considère que ce transfert a contribué de façon majoritaire à l'évolution de ce genre bactérien (Jain et al. 2002; Urbanczyk et al. 2008). Une étude comparative a montré que 340 gènes essentiels sont également retrouvés dans les génomes d'autres pathogènes intracellulaires, *M.*

*tuberculosis*, *S. enterica*, *F. novicida* and *Burkholderia* spp. Cette approche comparative multi-pathogènes pourrait être une perspective intéressante pour notre unité, qui possède des collections conséquentes de *Brucella* spp., *Chlamydia* spp., *Bacillus anthracis*, *Francisella tularensis*, *M. bovis* et quelques génomes de *Burkholderia* spp.

Depuis janvier 2015, les travaux de génomique comparative sont renforcés au sein de l'équipe Brucellose, encadrée par ma collègue Virginie Mick : les premiers résultats obtenus ont été présentés par G Girault, chargé de ce projet, lors du Workshop du LRUE Brucellose (15-16 octobre 2015). Cet axe de développement a été conforté dans le programme de travail 2016-2017. L'application des méthodes NGS à un panel représentatif de souches de la collection du laboratoire devrait conduire à identifier des signatures spécifiques de biovars et espèces du genre *Brucella*, nécessaires à la conception de nouveaux outils de typage.

Cet axe de développement a également été privilégié pour la tularémie, zoonose provoquée par *Francisella tularensis*, agent de la menace biologique classé A. Depuis août 2002, la déclaration des infections humaines est redevenue obligatoire en France dans le cadre de la réactivation du plan Biotox (Dennis et al., 2001), ainsi que celle des infections animales depuis le décret n°2006-179 du 17 février 2006. En France, la surveillance de la tularémie repose sur deux réseaux de surveillance épidémiologique, l'Institut de Veille Sanitaire (InVS) qui assure la surveillance des cas apparaissant dans la population humaine, et le réseau SAGIR (« Surveiller pour Agir ») qui surveille les cas survenant dans la faune sauvage. La surveillance accrue de la tularémie a permis de détecter une recrudescence du nombre de cas au cours de la dernière décennie, confirmant que l'incidence de cette maladie est probablement sous-estimée (Mailles et Vaillant, 2014). Ainsi, 433 cas de tularémie ont été identifiés entre le 1er Octobre 2002 et le 31 Décembre 2012, représentant une incidence moyenne de 0,7 cas pour 100,000 habitants (range 0,01–0,16). Parmi ces cas, 395 (91 %) sont apparus de façon sporadique, alors que 39 (9 %) ont été regroupés en 10 “foyers” (Mailles et Vaillant, 2014). En outre, un pic de notifications a été observé pendant l'hiver 2007/2008, avec une épizootie concomitante chez le lièvre (Mailles et al., 2010).

Le séquençage du génome complet est la méthode la plus précise pour identifier et différencier des souches entre elles au sein d'une même espèce, et encore plus au sein d'une espèce à haut degré d'homogénéité génétique, comme c'est le cas pour *F. tularensis*, *Bacillus anthracis*, et *Mycobacterium tuberculosis*... (Blouin et al., 2012 ; Girault et al., 2014a et b). Aux Etats-Unis, la recherche intensive de SNP sur l'ensemble du génome a été entreprise chez *Francisella* depuis quelques années (Vogler et al., 2009). Ainsi, près de 30000 SNP ont été identifiés au sein de 13 génomes complets représentatifs d'une diversité mondiale (Vogler et al., 2009). Sur ce large panel de marqueurs identifiés, 23 SNP canoniques ont été utilisés pour identifier 11 sous-clades au sein de la sous-espèce *F. tularensis* subsp. *holarctica* (Vogler et al., 2009). Par ailleurs, la comparaison des séquences de génomes complets a mis en évidence des variations génétiques de 0.08 % et de 0.11 % entre la souche vaccinale LVS de type B et deux autres souches de type B (FSC 200 et OSU 18 respectivement) (Pandya et al., 2009).

L'analyse de souches françaises par MLVA et par SNP canoniques a mis en évidence deux sous-lignées, B.Br.013 / 014 lignée retrouvée en Eurasie (Vogler et al., 2009 et 2011) et B.Br.FTNF002- 00, décrite précédemment comme étant un « clone » trouvé en France, dans la Péninsule Ibérique (Dempsey et al., 2007; Vogler et al., 2009) et plus récemment en Suisse (Pilo et al., 2009). Très peu de génomes de souches françaises de *F. tularensis* sont actuellement disponibles. La variabilité génétique retrouvée actuellement au sein de ces souches est trop faible pour pouvoir définir des marqueurs génotypiques spécifiques de souches. Le seul marqueur permettant de différencier les souches de type B d'Europe de l'Ouest par rapport aux souches d'autres pays ou continents est actuellement la présence d'une délétion

dans la région ADN variable nommée RD23 (Dempsey et al., 2007). Il n'est donc pas possible de différencier les souches d'origine française avec certitude, ni de préciser parmi ces souches leur origine géographique précise (régionale par exemple). Ceci représente une limite majeure à la réalisation d'études épidémiologiques fines concernant la tularémie en France. D'autre part, dans un contexte de bio-défense, il n'est pas possible actuellement de préciser rapidement l'origine autochtone d'une souche de *F. tularensis* isolée sur le territoire français.

Le séquençage du génome complet d'un grand nombre de souches animales et humaines de *F. tularensis* subsp. *holarctica* isolées en France permettra certainement de trouver de nouvelles signatures génétiques spécifiques. Ces marqueurs seront évalués pour leur capacité à différencier les souches de type B françaises, de celles présentes dans d'autres pays et continents. Un projet rédigé avec mes collègues Nora Madani (porteur du projet) et Guillaume Girault a été déposé en collaboration avec le CNR des *Francisella* (Max Maurin) afin d'acquérir, par des approches de séquençage génomique global, une meilleure connaissance de la diversité génétique existant parmi les souches de *F. tularensis* subsp. *holarctica* isolées en France, afin de développer un savoir-faire et des outils de typage moléculaire de haute résolution capables d'identifier l'origine précise (source, zone géographique, etc.) d'une souche dans notre pays et ainsi reconnaître toute souche importée.

Ce projet labellisé en 2015 par l'appel d'offre ANR Astrid permettra à l'Unité d'établir de nouvelles collaborations (CNR des *Francisella*, CHU Grenoble Alpes, Pr Max Maurin), de séquencer 400 souches d'origine humaine et animale d'ici fin 2018 et de réaliser une analyse des données de séquençage par bio-informatique comparative pour identifier des marqueurs génétiques, comme les Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) ou les séquences d'insertion ou de délétion (INDELs) discriminant les souches entre elles. Après validation des outils de typage, les génotypes obtenus seront associés aux données épidémiologiques (géographiques notamment) des cas humains ou animaux de tularémie correspondants. Les relations phylogénétiques au sein des deux sous-lignées majoritaires en France, B.BR.013 / 014 et B.BR.FTNF002- 00A, seront étudiées en lien avec les informations spatio-temporelles. Il sera réalisé une analyse fine de quelques foyers particuliers de tularémie (zone géographique, caractères épidémiologiques et cliniques, etc.) associés à une mortalité très élevée et/ou ayant impliqué quelques souches humaines de *F. tularensis* isolées dans un contexte de mini-épidémies, soit familiale (source alimentaire commune) soit environnementale (exposition à un même aérosol infectieux).

Enfin, les données génétiques seront croisées avec les profils de résistance aux antibiotiques, avec l'objectif d'identifier des gènes ou mutations potentiellement responsables de résistances acquises aux antibiotiques d'intérêt clinique (aminosides, fluoroquinolones et tétracyclines) et aux autres familles d'antibiotiques.

### 3.4 Etudes des interactions hôtes-pathogènes

L'évolution des interactions entre un pathogène et son hôte est modulée par des événements qui présentent un impact critique sur la transmission entre espèces et l'adaptation à l'hôte (Shi et al., 2014). Par exemple, si la plupart des virus influenza aviaires sont exclusivement retrouvés chez les oiseaux, les virus H5N1 et H7N9 peuvent causer des maladies sévères chez l'homme (De Graaf et al., 2014). La capacité des virus influenza à passer des barrières d'espèces est déterminée par la séquence des acides aminés de la lectine, qui reconnaît les récepteurs glycanes sialylés sur la surface apicale des cellules hôtes (De Graaf et al., 2014 ; Shi et al., 2014). Les changements de quelques petits acides aminés sont suffisants pour convertir la spécificité d'hôtes des oiseaux à l'homme. Les mécanismes exacts pour le tropisme et l'adaptation des bactéries pathogènes comme *Salmonella* restent à décortiquer, mais les

éléments ont été principalement révélés par des enquêtes fonctionnelles (Chaudhuri et al., 2013 ; Deng et al., 2014) ou par études génomiques (Mather et al., 2013 ; McClelland et al., 2004). Par ailleurs, la pertinence biologique de la plupart des évolutions de séquences associées à une spécificité d'hôtes et identifiées dans les études pangénomiques reste à tester (Langridge et al., 2015 ; Viana et al., 2015).

Les modèles biologiques sont de précieux outils indispensables notamment pour étudier la pathogénicité ou encore la virulence des micro-organismes d'intérêt. Plusieurs modèles, incluant des lignées cellulaires (différents types de lignées à différents stades de différenciation) ainsi que plusieurs espèces d'amibes, sont actuellement disponibles pour l'étude des interactions hôte-pathogènes (entrée, survie et multiplication). A l'image des cellules, les amibes, micro-organismes eucaryotes unicellulaires et ubiquitaires, offrent des conditions privilégiant la survie, voire la multiplication, des bactéries intracellulaires (pour revue Tosetti et al., 2014). Les contacts étroits facilitent le flux génétique, fondamental pour la dynamique des génomes bactériens, favorisant ainsi l'adaptation rapide des populations bactériennes aux changements environnementaux.

Cependant, ces outils disponibles pour l'étude des pathogènes humains sont très rarement appliqués aux pathogènes d'intérêt vétérinaire. Or, la pathogénicité des souches animales est probablement corrélée à la spécificité d'hôte et aux caractéristiques intrinsèques des souches bactériennes sauvages. Face aux problématiques de terrain soulevées pour tous les pathogènes ciblés, le développement de modèles cellulaires permettront d'étudier 1/ les déterminants de la virulence/pathogénicité de nos souches, 2/ l'adaptation au stress intracellulaire (acidité, privation de nutriments, oxydation....) 3/ la persistance pouvant jouer un rôle sur la chronicité des infections 4/ l'impact des co-infections virales et/ou bactériennes ou encore 5/ les différents inhibiteurs potentiels du développement bactérien, dont les antibiotiques.

La démarche scientifique pour l'étude de l'interactome inclut des approches *in vivo*, *in vitro* et *in silico* (de Figueiredo et al., 2015) et peut se résumer comme suit :

- 1) Approche *in vivo* : collecte de phénotypes (données de transcriptomique, protéomique, métabolomique) chez l'hôte et les micro-organismes, identification de protéines candidates,
- 2) Approche *in silico* : intégration des données issues de l'hôte et de l'agent pathogène dans un modèle bioinformatique, afin de prédire des domaines possibles d'interactions et comparaison des séquences
- 3) Approches mécanistiques (*in vivo* / *in vitro*) : les fonctions des protéines candidates sont étudiées à l'aide de modèles cellulaires, impliquant des bactéries mutantes (incluant des délétions spécifiques pour les gènes ciblés) ou des ARN interférents, bloquant la synthèse des protéines cibles.

Dans notre unité, cet axe de travail est initié pour deux familles d'agents pathogènes intra-cellulaires :

- Les Chlamydiaceae, pathogènes intracellulaires obligatoires, infectent de nombreuses espèces animales sauvages ou domestiques, allant des oiseaux jusqu'au mammifère, dont l'Homme. Les répercussions économiques et sanitaires de ces infections sont importantes. Bien que des modèles biologiques soient décrits dans la littérature pour les Chlamydiae humaines (*C. trachomatis*, *C. pneumoniae*), ces modèles restent à être transposés aux Chlamydiae d'intérêt vétérinaires responsables d'infections humaines avérées (*C. psittaci*) ou suspectées (*C. gallinacea* et *C. avium*). Plusieurs projets sont prévus par ma collègue Karine Laroucau, afin d'approfondir les connaissances des mécanismes de pénétration, ou encore de réplication des Chlamydiaceae, tout particulièrement les espèces aviaires.

-Le genre *Brucella*, pathogènes intracellulaires facultatifs présente également un large spectre d'espèces sensibles, allant des ruminants aux mammifères marins, en passant par les espèces porcines. Les fondements biologiques pour cette « préférence » d'hôtes restent peu décrits (Kim et al., 2011), même si il pourrait y avoir des pseudogènes impliqués dans l'adaptation d'hôtes (Lavin et al., 2010 ; von Bargen et al., 2012). Certaines espèces comme *B ovis* sont associées à une préférence d'hôtes plus marquée, alors que d'autres espèces comme *B melitensis* sont retrouvées chez une large gamme d'espèces hôtes (bovins, ovins, caprins, humains, ...). Cette thématique est initiée dans le cadre de la thèse de Marion Holzapfel, avec la méthodologie suivante : i) recherche *in silico* de déterminants génétiques associés à la préférence d'hôte à partir de souches de *Brucella* isolées chez des hôtes différents, ii) infections cellulaires *in vitro*, pour investiguer l'entrée, la survie et la multiplication bactérienne des différents variants génétiques caractérisés.

### 3.5 Perspectives mécanistiques : développement de modèles cellulaires originaux pour l'étude des maladies abortives, au travers de l'exemple de *Brucella*

En cas d'infection, les *Brucella* passent à travers les cellules de l'épithélium et subissent une endocytose par les macrophages des muqueuses (Rossetti et al., 2013). *Brucella* survit et se réplique dans les cellules phagocytaires, module la réponse immunitaire et se dissémine vers les tissus par tropisme cellulaire, par exemple, les cellules du trophoblastiques chez des femelles gestantes, le poumon des fœtus, le système réticuloendothélial et le tractus génital (Adams, 2002). Les études *in vitro* ont utilisé des modèles cellulaires macrophagiques pour comprendre l'adhésion, l'internalisation, le trafic intracellulaire et la réplication de *Brucella* chez des hôtes sensibles, ainsi que les mécanismes moléculaires de virulence.

#### Adhésion cellulaire

L'adhésion cellulaire est la première étape dans le processus de virulence pour beaucoup de pathogènes : les adhésines sont largement répandues dans le monde microbien, et elles se lient avec un grand groupe de molécules de surface dépendant du type cellulaire et des cibles cellulaires lors du cycle infectieux. Chez *Brucella*, plusieurs adhésines ont été décrites : SP41, la première adhésine identifiée chez *Brucella* est impliquée dans l'adhésion et l'invasion de cellules HeLA (Castaneda-Roldan et al., 2006). Le gène codant pour SP41 est *ugpB*, présent chez différentes bactéries, pathogènes ou non. Récemment, d'autres adhésines ont été identifiées (Posadas et al., 2012; Ruiz-Ranwez et al., 2013a; Ruiz-Ranwez et al., 2013b). Dans une série de publications, les auteurs ont identifié 3 auto-transporteurs (*BmaC*, *BtaE* and *BtaF*), démontrant que ces 3 protéines sont très importantes pour la liaison de *Brucella* aux cellules HeLa et A549, ainsi qu'à d'autres protéines de la matrice extracellulaires de type fibronectine ou acide hyaluronique.

#### Niches de réplication : modèles cellulaires de macrophages et de cellules trophoblastiques

Après adhésion à la surface des cellules épithéliales, *Brucella* induit un système de « fermeture » pour l'internalisation (Rossetti et al., 2012). Les cellules phagocytaires, et notamment les macrophages sont un site important pour la réplication intracellulaire de *Brucella*. Bien que 90 % des *Brucella* internalisées par les macrophages soient tuées après phagocytose, quelques bactéries échappent au système immunitaire et établissent une niche de réplication, sans affecter la survie des cellules phagocytaires. Les macrophages activés sont plus efficaces pour tuer les *Brucella* (Jiang & Baldwin, 1993; Eze et al., 2000; Sathiyaseelan et al., 2000). Néanmoins, les souches non atténuées maintiennent cette réplication, une longue période après infection (Baldwin & Goenka, 2006). La comparaison de différentes espèces de

*Brucella* a montré cette répllication dans des lignées de macrophages humains et murins pour *B. abortus*, *B. suis* et *B. melitensis*. Il est important de noter qu'un aspect majeur de la pathogénèse pour *Brucella* est lié aux interactions avec les macrophages. Les études menées à partir de modèles de culture cellulaire de macrophages *in vitro* ont permis de mieux comprendre comment *B. abortus* survit dans la cellule (Gorvel & Moreno, 2002 ; Atluri et al., 2011). Toutefois, plusieurs facteurs nécessaires à la persistance *in vivo* ne sont pas impliqués *in vitro* dans la répllication au sein des lignées de macrophages, ce qui suggère qu'il existerait différentes populations de macrophages ou différents statuts métaboliques qui seraient déterminants pour la persistance *in vivo* de *Brucella* (Hong et al., 2000 ; Fretin et al., 2005).

Chez l'animal, les avortements ont été associés à une prolifération rapide de *Brucella* dans le placenta. La présence de quantités importantes de bactéries au niveau du trophoblaste conduit à une perturbation du fonctionnement du placenta et à l'infection du fœtus (Anderson & Cheville, 1986; Meador & Deyoe, 1989). Le trophoblaste est un tissu cible primaire de *Brucella* chez ses hôtes préférentiels. Chez les ruminants, le trophoblaste produit une quantité conséquente d'érythritol en fin de gestation, utilisée *in vitro* comme source d'énergie par *Brucella*, qui peut expliquer l'affinité des *Brucella*. Néanmoins, quelques isolats de la souche *B. abortus* 19, inhibés *in vitro* par l'érythritol induisent des inflammations placentaires (Sperry & Robertson, 1975 ; Bosseray, 1987). De plus, le rat, le lapin et le cochon d'Inde qui ne produisent pas d'érythritol peuvent présenter des placentites induites par une infection brucellique. Par conséquent, la présence d'érythritol n'explique pas totalement le tropisme de *Brucella* pour l'appareil génital (Salcedo et al., 2013).

D'autres mécanismes sont impliqués : il est intéressant de noter que les avortements chez la femme sont observés principalement au cours du 1<sup>er</sup> tiers de la gestation, alors que chez les bovins, ils surviennent en général en fin de gestation. Des différences entre lignées de cellules trophoblastiques humaines ont été rapportées (Salcedo et al., 2013). Une étude a démontré que *B. abortus* était capable de se répliquer dans les cellules trophoblastiques prélevées au milieu (5<sup>ème</sup> mois) et en fin de gestation (8<sup>ème</sup> mois), alors que très peu de cellules issues du trophoblaste embryonnaire étaient infectées (Samartino et al., 1994). Afin d'identifier des interactions spécifiques d'hôtes, plusieurs modèles cellulaires pourraient donc être envisagés en lien avec les différences de placentation observées entre différentes espèces sensibles de *Brucella* : i) placenta indécidué (Cétacés, Suidés, Ruminants) vs décidué (Carnivores, Primates, Rongeurs), ii) placenta épithéiochorial (Cétacés, Suidés) versus conjonctivochorial (syndesmochorial ou mésochorial) retrouvé chez les ruminants, iii) chez les ruminants, production ou non d'érythritol.

### **Utilisation de lignées épithéliales**

La plupart des équipes a travaillé sur la réponse inflammatoire et pas sur les déterminants moléculaires qui expliquent les mécanismes d'attachement et d'invasion cellulaire (pour revue, de Figueiredo et al., 2015). Les interactions entre *Brucella* et les épithéliums ont été investiguées le plus fréquemment à partir de lignées HeLa (Rossetti et al., 2012). Les autres lignées épithéliales ont été moins étudiées (Chantret et al., 1988 ; Tsolis et al., 2008 ; Gorvel et al., 2009 ; Ferrero et al. 2009 ; Lee et al., 2014). Néanmoins, il est possible d'envisager de développer des modèles de cellules épithéliales, appliqués à différentes souches de *Brucella* (mutantes ou non) afin d'investiguer les différences de sensibilité de ces souches (Tableau 21).

**Tableau 21 : Modèles d'études *in vitro* des interactions hôtes –*Brucella* utilisant des lignées épithéliales**

Référence	Lignées cellulaires épithéliales	Souches de <i>Brucella</i>	Principaux résultats
Castañeda-Roldán et al., 2006	Cellules HeLa	Smooth : <i>B abortus</i> AO1, <i>B. melitensis</i> 16M, <i>B. suis</i> 1330, <i>B. suis</i> mutant <i>ugpB</i> (gène codant pour SP41), complété avec le plasmide JD41	Identification d'une protéine de surface, SP41, impliquée dans l'adhésion
Ferrero et al., 2009	A549 (lignée humaine alvéolaire type II) ; Calu-8 (lignée bronchiolaire) ; 16HBE14o- (lignée humaine bronchiolaire, transfectée avec génome SV40 défectif à l'origine de la réplication)	rough ( <i>Brucella canis</i> and <i>Brucella abortus</i> RB51) et smooth ( <i>B. abortus</i> 2308 et <i>Brucella suis</i> 1330)	Interactions <i>Brucella</i> avec le tissu pulmonaire : réplication intracellulaire, uniquement pour souches « smooth », sans induire de cytotoxicité
Rossetti et al., 2012	Cellules HeLa	Souche <i>B melitensis</i> 16M	Comparaison du transcriptome des cellules non phagocytaires (4 et 12 h post infection) ; étude de la voie de signalisation MAPK
Lee et al., 2014	Lignée HeLa, croissance sous conditions de stress (osmolarité 0, 250 et 500 mM de KCl et degré d'acidité, pH de 4.0, 5.0 et 7.0)	"smooth" <i>B abortus</i> 544 (ATCC 23448), "rough" <i>B abortus</i> RB51 et <i>B abortus</i> mutant <i>betB</i> (mutagénèse ; souche candidate pour vaccin)	Rôle de <i>betB</i> : -sensibilité supérieure du mutant <i>betB</i> aux conditions hyperosmotiques ; -adhésion renforcée aux cellules de l'hôte, internalisation plus efficace
Czibener et al., 2015	Lignées HeLa, Caco-2 (lignée épithéliale issue d'adénocarcinome colorectal) et lignée MDCK	"smooth" <i>B abortus</i> B. abortus 2308 et <i>B abortus</i> mutant <i>Bab1-2009</i>	Identification d'une nouvelle adhésine, BigA et approche fonctionnelle (adhésion, invasion et survie intracellulaire)
Larsen et al., 2016	Lignée primaire de cellules endothéliales, à partir de prélèvements d'œsophage issu du phoque à capuchon	<i>B pinnipedialis</i> (2 souches de référence NCTC 12890, BCCN 94-73 et 2 isolats issus de phoque à capuchon)	Entrée de <i>B pinnipedialis</i> dans les cellules, mais absence de réplication et diminution du taux de survie en 48 h

## Propositions de modèles cellulaires pour l'étude du tropisme génital des bactéries abortives

Suite à ces observations, je propose de développer plusieurs modèles cellulaires originaux pour l'étude du tropisme génital et de la préférence d'hôtes chez *Brucella* et *Chlamydia*. Ces approches pourront être une opportunité de développer des collaborations avec les équipes du département PHASE (Physiologie Animale et systèmes d'élevage) et Santé Animale de l'INRA et de renforcer les interactions de l'unité avec le réseau SAPS (Santé Animale Paris-Saclay).

Ces modèles peuvent concerner la caractérisation *in vitro* de phénotypes de culture cellulaire à partir d'un génotype bactérien d'intérêt. Dans ce cas, l'entrée, la survie et la multiplication d'une population de bactéries présentant un même génotype peuvent être étudiées dans différentes lignées cellulaires : il peut s'agir d'investiguer différents types cellulaires (cellules épithéliales endométriales, cellules trophoblastiques, macrophages) ou de comparer des lignées cellulaires issues de différentes espèces (par exemple lignée trophoblastique humaine versus bovine). Ce modèle pourrait être développé pour comprendre les différences observées entre espèces pour la pathogénèse des avortements brucelliques.

Un autre axe de travail pourrait préciser le rôle des cellules épithéliales endométriales dans des infections brucelliques chez différentes espèces (Gärtner et al., 2015). Combiner des modèles d'infection *in vivo* et *in vitro* pourrait conduire à valider un nouveau modèle permettant d'améliorer la compréhension des mécanismes moléculaires physiopathologiques à l'interface des tissus maternels et embryonnaires (Sandra et al., 2015). L'utilisation de lignées cellulaires endométriales pourrait être un modèle particulièrement intéressant : en effet, ces cellules polarisées constituent la première ligne de défense contre les micro-organismes pathogènes infectant l'utérus. La réponse immunitaire innée de ces cellules est caractérisée par la sécrétion de chémotoxines pour attirer les cellules immunitaires au site d'infection, où elles sont régulées par l'interleukine 6 (Healy et al., 2015). Ces modèles pourraient être utilisés afin d'investiguer l'entrée, la survie et la multiplication bactérienne au sein de ces lignées, après infection par différents génotypes de *Brucella*.

Dans le massif du Bargy, l'apparition d'un réservoir de *Brucella* dans la faune sauvage en 2012 soulève la question des interactions spécifiques entre l'espèce de bouquetin impliquée (*Capra ibex*) et les souches de *Brucella* isolées dans cette zone (Mick et al., 2014). Investiguer des phénotypes de reproduction (marqueurs de fonctionnement placentaire, hormones de la gestation...) pourrait permettre de mieux comprendre les facteurs associés à l'hôte (bouquetin) et ceux associés aux génotypes bactériens impliqués dans cette situation épidémiologique inédite. Des tissus utérins (caronculaires / intercaronculaires) et des tissus fœtaux pourraient être prélevés à partir de bouquetins gestants, capturés en fin de gestation puis abattus (animaux séropositifs et témoins) dans le massif du Bargy. Dans ce cas, il pourrait être envisagé de comparer l'expression de gènes chez les femelles séropositives et celles séronégatives. Enfin, si les conditions de prélèvements le permettent, il pourrait s'agir d'établir une lignée primaire de cellules épithéliales de bouquetins, ce qui permettrait de comparer cette espèce à d'autres modèles (notamment chèvres, ovins).

## Conclusion

Rédiger un mémoire d'habilitation à diriger les recherches, c'est un peu comme rejouer une partition de musique que l'on a déjà travaillée, en prenant le temps d'accorder les différents instruments, d'être attentif aux nuances, pour mettre en valeur la ligne mélodique, les harmoniques. Ce travail de synthèse m'a amenée à comparer la démarche scientifique à la musique, qui accompagne mon quotidien depuis toujours. Un parcours de recherche ressemble en de nombreux points à une composition musicale : dans les deux cas, il faut trouver l'idée qui permettra de tester une hypothèse ou d'écrire une pièce. Puis, viennent rapidement les options structurantes : i) choix des partenaires d'un côté et choix des instruments qui constitueront l'orchestre, ii) définition des objectifs du projet ou choix de l'univers musical, iii) structure du projet avec ses tâches ou structure de la composition, avec ses mouvements. Le projet ou la partition qui en résulte devra être joué, de concert, en rythme pour obtenir les meilleurs résultats. Les projets multi-partenariaux sont particulièrement enrichissants et porteurs, grâce à la synergie qu'il est possible de développer entre les équipes.

De tout temps, de nombreux scientifiques ont cherché les fondements mathématiques ou physiques de la musique. Par exemple, John William Strutt (plus connu sous le nom de Lord Rayleigh) a obtenu le prix Nobel en 1904 pour son ouvrage « *Theory of Sound* », qui fonde la théorie mathématique de l'acoustique. Plus récemment, plusieurs artistes et compositeurs ont transcrit la structure de l'ADN et celle de gènes en musique, en attribuant une note à chaque base azotée. D'autres ont étendu le système aux protéines en associant des notes aux acides aminés. Les collaborations entre scientifiques et musiciens sont nombreuses : c'est le cas d'une pièce récente pour quatuor à cordes « *OPUS 23 – Music for a gene* », projet de l'Institut Suisse de Bioinformatique mené avec le compositeur français Olivier Calmel sur le thème de la complexité du génome humain. Avec le développement de la génomique, des équipes ont étudié les gènes associés à la créativité musicale, démontrant qu'il existe une zone d'aptitude musicale située sur le chromosome 4 (Oikkonen et al., 2016). Kanduri et al. (2015) ont investigué l'effet de la musique sur le transcriptome humain à partir de prélèvements de sang réalisés chez 48 personnes, caractérisées en fonction de leur éducation musicale, et soumises ou non à l'écoute d'un concerto de Mozart : ces auteurs ont rapporté que cet environnement musical influence notamment l'expression de gènes associés à la sécrétion, à la régulation et au transport de la dopamine. Ceci nous ramène directement à la ligne directrice de mon parcours de recherche : relations entre génotypes et phénotypes, régulation de l'expression des gènes et interactions avec des facteurs environnementaux.

J'ai pu mesurer au cours de ces quinze années que l'observation puis la caractérisation de phénotypes originaux est une étape cruciale pour l'étude fonctionnelle des gènes. Des mammifères aux bactéries, les approches phénotypiques permettent de comprendre, pas à pas, le fonctionnement du génome et ses mécanismes complexes de régulation. J'ai pu, grâce à plusieurs projets réalisés en station, apprécier la richesse des modèles expérimentaux *in vivo* et la complémentarité des approches *in vitro* développées en laboratoire. J'espère dans les prochaines années pouvoir développer d'autres modèles originaux d'infections expérimentales, afin d'investiguer les relations entre agents pathogènes et espèces hôtes. Je souhaite travailler en partenariat avec des équipes de physiologistes, de bio-informaticiens afin d'initier des approches permettant d'étudier l'impact de génotypes bactériens d'intérêt sur la santé des espèces hôtes, d'intégrer les interactions moléculaires avec les tissus cibles permettant la réplication bactérienne et d'investiguer leur survie dans l'environnement. Tout un programme qu'il reste à mettre en musique !



## Références bibliographiques



## Références bibliographiques

- Adams HA, Sonstegard T, VanRaden PM, Null DJ, Van Tassell C, Lewin H, 2012. Identification of a nonsense mutation in APAF1 that is causal for a decrease in reproductive efficiency in dairy cattle. In: Proc. Plant Anim. Genome XX Conf., San Diego, CA. Abstr. P0555.
- Adams LG, 2002. The pathology of brucellosis reflects the outcome of the battle between the host genome and the *Brucella* genome. *Vet Microbiol*, 90:553e561
- Agerholm JS, McEvoy F, Arnbjerg J, 2006. Brachyspina syndrome in a Holstein calf. *J. Vet. Diagn. Invest* 18, 418–422
- Akasaka E, Ozawa A, Mori H, Mizobe Y, Yoshida M, Miyoshi K, Sato M, 2011. Whole –genome amplification-based GenomiPhi for multiple genomic analysis of individual early porcine embryos. *Theriogenology* 75, 1543-1549
- Alton GG, Jones LM, Angus RD, Verger JM, 1988. Techniques for the brucellosis laboratory. Paris: Institut National de la Recherche Agronomique. 190 p
- Anderson TD, Cheville NF., 1986. Ultrastructural morphometric analysis of *Brucella abortus*-infected trophoblasts in experimental placentitis. Bacterial replication occurs in rough endoplasmic reticulum. *Am. J. Pathol.* 124(2), 226-237.
- Armstrong DG, McEvoy TG, Baxter G, Robinson JJ, Hogg CO, Woad KJ, Webb R, Sinclair KD, 2001. Effect of dietary energy and protein on bovine follicular dynamics and embryo production in vitro: associations with the ovarian insulin-like growth factor system. *Biology of Reproduction* 64, 1624–1632
- Arrêté du 23 janvier 2013 relatif aux règles de bonnes pratiques tendant à garantir la sécurité et la sûreté biologiques mentionnées à l'article R. 5139-18 du code de la santé publique, 2013. JORF n°0034 du 9 février 2013 page 2320  
texte n° 7. ELI : <https://www.legifrance.gouv.fr/eli/arrete/2013/1/23/AFSP1228322A/jo/texte>
- Arrêté du 29 juillet 2013 relatif à la définition des dangers sanitaires de première et deuxième catégorie pour les espèces animales, 2013. JORF n°0187 du 13 août 2013 page 13832, texte n° 112. ELI: <https://www.legifrance.gouv.fr/eli/arrete/2013/7/29/AGRG1320208A/jo/texte>.
- Atluri VL, Xavier MN, de Jong MF, den Hartigh AB, Tsolis RM, 2011. Interactions of the human pathogenic *Brucella* species with their hosts. *Annu. Rev. Microbiol.* 65, 523–541
- Backx A., Heutink, R., van Rooij, E., van Rijn, P 2009. Transplacental and oral transmission of wild-type bluetongue virus serotype 8 in cattle after experimental infection. *Vet Microbiol* 138, 235–43.
- Baldwin CL, Goenka R, 2006. Host immune responses to the intracellular bacteria *Brucella*: does the bacteria instruct the host to facilitate chronic infection? *Crit Rev Immunol.* 26(5), 407-442. Review.
- Balseiro A, Royo LJ, Gómez Antona A, García Marín JF, 2013. First Confirmation of Schmallenberg Virus in Cattle in Spain: Tissue Distribution and Pathology. *Transbound Emerg Dis.* 62(5), e62-5. doi: 10.1111/tbed.12185.
- Barrangou R, 2014. RNA events. Cas9 targeting and the CRISPR revolution. *Science* 344, 707–708.
- Basso B, Fritz S, Druet T, Guillaume F, Rossignol MN, Amigues Y, Gabriel R, Sellem E, Salas-Cortes L, Humblot P, Druart X, 2005. Estimation de paramètres génétiques et détection de QTL liés à des caractères de fertilité mâle, de production de semence et de qualité de la semence chez le taureau laitier. *Renc. Rech. Rum*, 12, 145-148.
- Berry DP, Wall E, Pryce JE, 2014. Genetics and genomics of reproductive performance in dairy and beef cattle. *Animal* 8 (suppl. 1), 115–121.
- Bilk S, Schulze C, Fischer M, Beer M, Hlinak A, Hoffmann B, 2012. Organ distribution of Schmallenberg virus RNA in malformed newborns. *Vet Microbiol* 14, 159(1-2), 236-238.
- Blouin Y, Hauck Y, Soler C, Fabre M, Vong R, Dehan C, Cazajous G, Massoure PL, Kraemer P, Jenkins A, Garnotel E, Pourcel C, Vergnaud G, 2012. Significance of the identification in the Horn of Africa of an exceptionally deep branching *Mycobacterium tuberculosis* clade. *PLoS ONE* 7 : e52841.
- Boediono A, Suzuki T, Godke RA, 2003. Comparison of hybrid and purebred in vitro-derived cattle embryos during in vitro culture. *Anim. Reprod. Sci.* 78(1–2), 1–11. doi:10.1016/S0378-4320(03)00065-4
- Boichard D, Barbat A, Briend M, 1998. Evaluation génétique des caractères de fertilité chez les bovins laitiers. *Rencontres Recherches Ruminants* 5, 103–106.
- Boichard D, Brochard M., 2012. New phenotypes for new breeding goals in dairy cattle. *Animal.* 6(4), 544-550. doi: 10.1017/S1751731112000018.
- Boichard D, Chung H, Dassonneville R, Sonstegard TS, Van Tassell CP, VanRaden PM, Viaud-Martinez KA, Wiggans GR, 2012. Design of a bovine low-density SNP array optimized for imputation. *Plos One* 7 (3), 1-10.

- Boichard D, Guillaume F, Baur A, Colleau JJ, Croiseau P, Boscher MY, Ducrocq V, Fritz S, 2010. Principes de l'évaluation génomique chez les bovins laitiers. *Le nouveau praticien Vétérinaire* 4(16), 327-334.
- Bondioli KR, 1992. Embryo Sexing: A Review of Current Techniques and Their Potential for Commercial Application in Livestock Production. *J. Anim. Sci.* 70, 19-29. [http://jas.fass.org/content/70/suppl\\_2/19.full.pdf](http://jas.fass.org/content/70/suppl_2/19.full.pdf)
- Bonneau KR, Mullens BA, MacLachlan NJ, 2001. Occurrence of genetic drift and founder effect during quasispecies evolution of the VP2 and NS3/3A genes of bluetongue virus upon passage between sheep and cattle. *Journal of Virology* 75, 8298-8305.
- Bonneau KR, Zhang N, Zhu J, Zhang F, Li Z, Zhang K, Xiao L, Xing W, MacLachlan NJ, 1999. Sequence comparison of the L2 and S10 genes of bluetongue viruses from the United States and the People's Republic of China. *Virus Research* 61,153-160.
- Bosseray N, 1987. *Brucella* infection and immunity in placenta. *Ann. Ins. Pasteur Microbiol* 138A, 110-112.
- Bounaadja L, Albert D, Chénais B, Hénault S, Zygmunt MS, Poliak S, Garin-Bastuji B, 2009. Real-time PCR for identification of *Brucella* spp.: a comparative study of IS711, bcs31 and per target genes. *Vet Microbiol.* 137(1-2), 156-164. doi: 10.1016/j.vetmic.2008.12.023.
- Bouwstra RJ, Kooi EA, de Kluijver EP, Verstraten ER, Bongers JH, van Maanen C, Wellenberg GJ, van der Spek AN, van der Poel WH, 2013. Schmallenberg virus outbreak in the Netherlands: routine diagnostics and test results. *Vet Microbiol.* 26, 165(1-2), 102-108
- Brisard D, Desmarchais A, Touzé JL, Lardic L, Freret S, Elis S, Nuttinck F, Camous S, Dupont J, Uzbekova S, 2014. Alteration of energy metabolism gene expression in cumulus cells affects oocyte maturation via MOS-mitogen-activated protein kinase pathway in dairy cows with an unfavorable "Fertil-" haplotype of one female fertility quantitative trait locus. *Theriogenology* 81, 599–612.
- Brun-Lafleur L, Cutullic E, Faverdin P, Delaby L, Disenhaus C, 2013. An individual reproduction model sensitive to milk yield and body condition in Holstein dairy cows. *Animal.* 7(8), 1332-1343. doi: 10.1017/S1751731113000335.
- Butler JE, Hamilton WC, Sasser RG, Ruder CA, Hass GM, Williams JJ, 1982. Detection and partial characterization of two bovine pregnancy specific proteins. *Biol Reprod* 26, 925-933.
- Castaneda-Roldán EI, Avelino-Flores F, Dall'Agnol M, Freer E, Cedillo L, Dornand J, Girón JA, 2004. Adherence of *Brucella* to human epithelial cells and macrophages is mediated by sialic acid residues. *Cell Microbiol.* 6:435e445
- Cenariu M, Pall E, Cernea C, Groza I, 2012. Evaluation of bovine embryo biopsy techniques according to their ability to preserve embryo viability. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, Article ID 541384, 5 p.
- Chantret I, Barbat A, Dussaulx E, Brattain MG & Zweibaum A, 1988. Epithelial polarity, villin expression, and enterocytic differentiation of cultured human colon carcinoma cells: a survey of twenty cell lines. *Cancer Res* 48, 1936–1942.
- Charlier C, Montfort J, Chabrol O, Brisard D, Nguyen T, Le Cam A, Richard-Parpaillon L, Moreews F, Pontarotti P, Uzbekova S, Chesnel F, Bobe J, 2012b. Oocyte-somatic cells interactions, lessons from evolution. *BMC Genomics* 13:560.
- Charlier C, Agerholm JS, Coppieters W, Karlskov-Mortensen P, Li W, de Jong G, Fasquelle C, Karim L, Cirera S, Cambisano N, Ahariz N, Mullaart E, Georges M, Fredholm M, 2012a. A deletion in the bovine FANCI gene compromises fertility by causing fetal death and brachyspina. *PLoS ONE* 7:E43085.
- Chaudhuri RR, Morgan E, Peters SE, Pleasance SJ, Hudson DL, Davies HM, Wang J, van Diemen PM, Buckley AM, Bowen AJ, Pullinger GD, Turner DJ, Langridge GC, Turner AK, Parkhill J, Charles IG, Maskell DJ, Stevens MP, 2013. Comprehensive assignment of roles for *Salmonella typhimurium* genes in intestinal colonization of food-producing animals. *PLoS Genet.* 9(4), e1003456. doi: 10.1371/journal.pgen.1003456.
- Chebel RC, Santos JE, Reynolds JP, Cerri RL, Juchem SO, Overton M, 2004. Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science* 84, 239–255.
- Christensen JO, Grummer RR, Rasmussen FE, Bertics SJ, 1997. Effect of method of delivery of propylene glycol on plasma metabolites of feed-restricted cattle. *J. Dairy Sci.* 80, 563-568.
- Chu, T., Dufort, I., and Sirard, M. A. (2012). Effect of ovarian stimulation on oocyte gene expression in cattle. *Theriogenology* 77, 1928–1938. doi:10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2012.01.015
- Clay JS, 2012. Aiding selection decisions for dairy females using genomics and sexed semen. In "Proceedings of the 38th ICAR session, Cork". 28 Mai - 01 Juin 2012. Disponible sur : [http://www.icar.org/Cork\\_2012/Manuscripts/Published/Clay.pdf](http://www.icar.org/Cork_2012/Manuscripts/Published/Clay.pdf) (consulté le 28/11/2013).
- Cochran SD, Cole JB, Null DJ, Hansen PJ, 2013a. Discovery of single nucleotide polymorphisms in candidate genes associated with fertility and production traits in Holstein cattle. *BMC Genet.* 14, 49.

- Cochran SD, Cole JB, Null DJ, Hansen PJ, 2013b. Single nucleotide polymorphisms in candidate genes associated with fertilizing ability of sperm and subsequent embryonic development in cattle. *Biol. Reprod.* 89, 69.
- Colleau JJ, Fritz S, Guillaume F, Baur A, Dupassieux D, Boscher MY, Journaux L, Eggen A, Boichard D, 2009. Simulation des potentialités de la sélection génomique chez les bovins laitiers. *Renc.Rech.Ruminants* 16, 419.
- Constant F, Camous S, Chavatte-Palmer P, Heyman Y, de Sousa N, Richard C, Beckers JF, Guillomot M, 2011. Altered secretion of pregnancy-associated glycoproteins during gestation in bovine somatic clones. *Theriogenology* 76, 1006–1021. (doi:10.1016/j.theriogenology.2011.04.029)
- Cooper TA, Wiggans GR, Null DJ, Hutchison JL, Cole JB, 2014. Genomic evaluation, breed identification, and discovery of a haplotype affecting fertility for Ayrshire dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 97(6), 3878–3882.
- Coyral-Castel S, Brisard D, Touzé JL, Dupont M, Ramé C, Uzbekova S, Dupont J, 2012. Analysis of in vivo oocyte maturation, in vitro embryo development and gene expression in cumulus cells of dairy cows and heifers selected for one fertility quantitative trait loci (QTL) located on BTA3. *Theriogenology* 77, 1822–1833.e1.
- Crowe MA, Diskin MG, Williams EJ., 2014. Parturition to resumption of ovarian cyclicity: comparative aspects of beef and dairy cows. *Animal. Suppl* 1, 40-53. doi: 10.1017/S1751731114000251.
- Cummins SB, Lonergan P, Evans AC, Butler ST, 2012a. Genetic merit for fertility traits in Holstein cows: ii. ovarian follicular and corpus luteum dynamics, reproductive hormones, and estrus behavior. *Journal of Dairy Science* 95, 3698–3710.
- Cummins SB, Lonergan P, Evans AC, Berry DP, Evans RD, Butler ST, 2012b. Genetic merit for fertility traits in Holstein cows: i. production characteristics and reproductive efficiency in a pasture-based system. *Journal of Dairy Science* 95, 1310–1322.
- Cutullic E, Delaby L, Gallard Y, Disenhaus C, 2012a. Towards a better understanding of the respective effects of milk yield and body condition dynamics on reproduction in Holstein dairy cows. *Animal* 6, 476–487.
- Cutullic E, Delaby L, Gallard Y, Disenhaus C, 2012b. Intérêt du dosage de la progestérone dans le lait lors des premiers contrôles laitiers pour prédire la cyclicité des vaches laitières après vêlage. *Rencontres Recherches Ruminants* 19, 341–344.
- Cutullic E, Delaby L, Causeur D, Michel G, Disenhaus C, 2009. Hierarchy of factors affecting behavioural signs used for oestrus detection of holstein and normande dairy cows in a seasonal calving system. *Anim. Reprod. Sci.* 113, 22–37.
- Czibener C, Merwaiss F, Guaimas F, Del Giudice MG, Serantes DA, Spera JM, Ugalde JE, 2015. BigA is a novel adhesin of *Brucella* that mediates adhesion to epithelial cells. *Cell Microbiol.* 2015 Sep 24. doi: 10.1111/cmi.12526.
- Daetwyler HD, Capitan A, Pausch H, Stothard P, van Binsbergen R, Brøndum RF, Liao X, Djari A, 2014. Whole-genome sequencing of 234 bulls facilitates mapping of monogenic and complex traits in cattle. *Nat. Genet.* 46, 858–865.
- Dassonneville R, Fritz S, Mattalia S, Ducrocq V, Boichard D. Quel est l'intérêt du génotypage des femelles pour l'éleveur ? Salon international de l'Agriculture, Paris, 29 février 2012. Disponible sur : [http://idele.fr/fileadmin/medias/Documents/Dassonneville\\_interet\\_SG\\_femelles\\_SIA\\_29fe\\_v2012.pdf](http://idele.fr/fileadmin/medias/Documents/Dassonneville_interet_SG_femelles_SIA_29fe_v2012.pdf) (consulté le 28/11/2013)
- Dassonneville R, 2012. Genomic selection of dairy cows. Thèse pour l'obtention du grade de docteur délivré par l'institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement, Paris, 135-156.
- De Clercq K, De Leeuw I, Verheyden B, Vandemeulebroucke E, Vanbinst T, Herr C, Meroc E, Bertels G, Steurbaut N, Miry C, De Bleecker K, Maquet G, Bughin J, Saulmont M, Lebrun M, Sustronck B, De Deken R, Hooyberghs J, Houdart P, Raemaekers M, Mintiens K, Kerkhofs P, Goris N, Vandebussche F, 2008. Transplacental infection and apparently immunotolerance induced by a wild-type bluetongue virus serotype 8 natural infection. *Transbound Emerg Dis.* 55, 352–359.
- de Graaf M, Fouchier RA., 2014. Role of receptor binding specificity in influenza A virus transmission and pathogenesis. *EMBO J.* 16, 33(8):823-841. doi: 10.1002/embj.201387442.
- De Regge N, van den Berg T, Georges L, Cay B, 2013. Diagnosis of Schmallenberg virus infection in malformed lambs and calves and first indications for virus clearance in the fetus. *Vet Microbiol* 23, 162(2-4); 595-600.
- Dean FB, Hosono S, Fang L, Wu X, Faruqi AF, Brayward P, Sun Z, Zong Q, Du Y, Du J, Driscoll M, 2002. Comprehensive human genome amplification using multiple displacement amplification. *Proc Natl Acad. Sci. USA* 99, 5261–5266.
- Dempsey MP, Dobson M, Zhang C, Zhang M, Lion C, Gutierrez-Martin CB, Iwen PC, Fey PD, Olson ME, Niemeyer D, Francesconi S, Crawford R, Stanley M, Rhodes J, agner DM, Vogler AJ, Birdsell D, Keim P, Johansson A, Hinrichs

- SH, Benson AK, 2007. Genomic Deletion Marking an Emerging Subclone of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* in France and the Iberian Peninsula. *Appl. Environ Microbiol* 73, 7465–7470.
- Deng L, Song J, Gao X, Wang J, Yu H, Chen X, Varki N, Naito-Matsui Y, Galán JE, Varki A, 2014. Host adaptation of a bacterial toxin from the human pathogen *Salmonella Typhi*. *Cell*. 159(6), 1290-1299. doi: 10.1016/j.cell.2014.10.057.
- Dennis DT, Inglesby TV, Henderson DA, Bartlett JG, Ascher MS, Eitzen E, Fine AD, Friedlander AM, Hauer J, Layton M, Lillibridge SR, McDade JE, Osterholm MT, O'Toole T, Parker G, Perl TM, Russell PK, Tonat K; Working Group on Civilian Biodefense, 2001. Tularemia as a biological weapon: medical and public health management. *JAMA* 285(21), 2763-2773.
- Desmecht D, Bergh RV, Sartelet A, Leclerc M, Mignot C, Misse F, Sudraud C, Berthemin S, Jolly S, Mousset B, Linden A, Coignoul F, Cassart D, 2008. Evidence for transplacental transmission of the current wild-type strain of bluetongue virus serotype 8 in cattle. *Vet Rec* 163, 50–52.
- Dessie SW, Rings F, Holker M, Gilles M, Jennen D, Tholen E, Havlicek V, Besenfelder U, Sukhorukov VL, Zimmermann U, Endter JM, Sirard MA, Schellander K, Tesfaye D, 2007. Dielectrophoretic behavior of in vitro-derived bovine metaphase II oocytes and zygotes and its relation to in vitro embryonic developmental competence and mRNA expression pattern. *Reproduction* 133, 931–946. doi:10.1530/REP-06-0277
- Dieleman SJ, Bevers MM, Van Tol HTM, Willemse AH, 1986. Peripheral plasma concentrations of oestradiol, progesterone, cortisol, LH and prolactin during the oestrous cycle in the cow, with emphasis on the perioestrous period. *Anim. Reprod. Sci.* 10, 275-292.
- Disenhaus C, Cutullic E, Blanc F, Agabriel J, 2009. Breed comparison of postpartum ovarian activity in cows. *J. Dairy Sci.* 92, 498 (abstract).
- Disenhaus C, Grimard B, Trou G, Delaby L, 2005. De la vache au système : s'adapter aux différents objectifs de reproduction en élevage laitier ? *Renc. Rech. Ruminants* 12, 125-135.
- Diskin MG & Morris DG, 2008. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. *Reproduction in Domestic Animals* 43 (suppl. 2), 260–267.
- Doceul V, Lara E, Sailleau C, Belbis G, Richardson J, Breard E, Viarouge C, Dominguez M, Hendriks P, Calavas D, Desprat A, Languille J, Comtet L, Pourquier P, Eleouët JF, Delmas B, Marianneau P, Vitour D, Zientara S, 2013. Epidemiology, molecular virology and diagnostics of Schmallenberg virus. *Vet Research* 15, 44(1), 31. doi: 10.1186/1297-9716-44-31
- Dorji Ohkubo Y, Miyoshi K, Yoshida M, 2012. Gene expression differences in oocytes derived from adult and prepubertal Japanese black cattle during in vitro maturation. *Reprod. Domest. Anim.* 47, 392–402. doi:10.1111/J.1439-0531.2011.01887.X
- Druet T, Fritz S, Boussaha M, Ben-Jemaa S, Guillaume F, Derbala D, Zelenika D, Lechner D, Charon C, Boichard D, Gut IG, Eggen A, Gautier M, 2008. Fine mapping of quantitative trait loci affecting female fertility in dairy cattle on BTA03 using a dense single-nucleotide polymorphism map. *Genetics*. 178(4), 2227-2235. doi: 10.1534/genetics.107.085035.
- Dupas G, Dockes A-C, Journaux L, Brun T, 2010. Quelle place pour le génotypage des femelles laitières à des fins d'évaluation génomique ? *Collection résultats. Idele, UNCEIA, FGE*, 48 p.
- EFSA (European Food Safety Authority), 2014. Schmallenberg virus: State of Art. *EFSA Journal* 2014; 12(5):3681, 54 pp. doi:10.2903/j.efsa.2014.3681.
- Egger-Danner C, Cole JB, Pryce JE, Gengler N, Heringstad B, Bradley A, Stock KF, 2015. Invited review: overview of new traits and phenotyping strategies in dairy cattle with a focus on functional traits. *Animal*. 9(2), 191-207. doi: 10.1017/S1751731114002614. Review.
- El-sayed A, Hoelker M, Rings F, Sahliw D, Jennen D, Tholen E, Sirard M-A, 2006. Large-scale transcriptional analysis of bovine embryo biopsies in relation to pregnancy success after transfer to recipients. *Physiol Genomics* 28, 84-96
- Eze MO, Yuan L, Crawford RM, Paronavitana CM, Hadfield TL, Bhattacharjee AK, Warren RL, Hoover DL, 2000. Effects of opsonization and gamma interferon on growth of *Brucella melitensis* 16M in mouse peritoneal macrophages *in vitro*. *Infect Immun*. 68(1), 257-263.
- Ferrero MC, Fossati CA, Baldi P, 2009. Smooth *Brucella* strains invade and replicate in human lung epithelial cells without inducing cell death. *Microbes Infect* 11, 476–483.
- Ferrero MC, Fossati CA, Rumbo M, Baldi PC, 2012. *Brucella* invasion of human intestinal epithelial cells elicits a weak proinflammatory response but a significant CCL20 secretion. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 66(1), 45-57. doi: 10.1111/j.1574-695X.2012.00985.x.

- Fisher PJ, Hyndman DL, Bixley MJ, Oback FC, Popovic L, McGowan LT, Berg MC, Wells DN, 2012. Brief communication: potential for genomic selection of bovine embryos. *Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod.* 72, 156–158.
- Fortes MR, DeAtley KL, Lehnert SA, Burns BM, Reverter A, Hawken RJ, Boe-Hansen G, Moore SS, Thomas MG, 2013. Genomic regions associated with fertility traits in male and female cattle: Advances from microsatellites to high-density chips and beyond. *Anim. Reprod. Sci.* 141, 1–19.
- Fouladi-Nashta AA, Gutierrez CG, Garnsworthy PC, Webb R, 2005. Effects of dietary carbohydrate source on oocyte/embryo quality and development in highyielding, lactating dairy cattle. *Biology of Reproduction, Special issue*, 135–136.
- Fretin D, Fauconnier A, Köhler S, Halling S, Léonard S, 2005. The sheathed flagellum of *Brucella melitensis* is involved in persistence in a murine model of infection. *Cell. Microbiol.* 7, 687–698
- Fritz S, Capitan A, Djari A, Rodriguez SC, Barbat A, Baur A, Grohs C, Weiss B, Boussaha M, Esquerré D, Klopp C, Rocha D, Boichard D, 2013. Detection of haplotypes associated with prenatal death in dairy cattle and identification of deleterious mutations in GART, SHBG and SLC37A2. *PLoS ONE* 8:E65550.
- Gaj T, Gersbach CA, Barbas CF, 2013. ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. *Trends Biotechnol.*, 31, 397–405
- Galli C, Crotti G, Notari C, Turini P, Duchi R, Lazzari G, 2001. Embryo production by ovum pick-up from live donors. *Theriogenology* 55, 1341–1357
- Garcia-Yoldi D, Marin CM, de Miguel MJ, Munoz PM, Vizmanos JL, Lopez-Goni I, 2006. Multiplex PCR assay for the identification and differentiation of all *Brucella* species and the vaccine strains *Brucella abortus* S19 and RB51 and *Brucella melitensis* Rev1. *Clin Chem.* 52, 779-81. Medline:16595839 doi:10.1373/clinchem.2005.062596
- Garigliany MM, Hoffmann B, Dive M, Sartelet A, Bayrou C, Cassart D, Beer M, Desmecht D, 2012. Schmallenberg virus in calf born at term with porencephaly, Belgium. *Emerging infectious diseases* 18(6), 1005-1006
- Garnsworthy PC, Lock A, Mann GE, Sinclair KD, Webb R, 2008. Nutrition, metabolism and fertility in dairy cows: 1. Dietary energy source and ovarian function. *Journal of Dairy Science* 91, 3814–3823.
- Garnsworthy PC, Fouladi-Nashta AA, Mann GE, Sinclair KD, Webb R, 2009. Effect of dietary-induced changes in plasma insulin concentrations during the early post partum period on pregnancy rate in dairy cows. *Reproduction* 137, 759–768
- Gärtner MA, Bondzio A, Braun N, Jung M, Einspanier R, Gabler C, 2015. Detection and characterisation of *Lactobacillus* spp. in the bovine uterus and their influence on bovine endometrial epithelial cells in vitro. *PLoS One.* 10(3), e0119793. doi: 10.1371/journal.pone.0119793.
- Ghanem N, Salilew-Wondim D, Gad A, Tesfaye D, Phatsara C, Tholen E, Looft C, Schellander K, Hoelker M, 2011. Bovine blastocysts with developmental competence to term share similar expression of developmentally important genes although derived from different culture environments. *Reproduction* 142 (4), 551-564.
- Gibbs EP, Greiner EC 1994. The epidemiology of bluetongue. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 17, 197-206.
- Girault G, Blouin Y, Vergnaud G, Derzelle S, 2014a. High-throughput sequencing of *Bacillus anthracis* in France: investigating genome diversity and population structure using whole- genome SNP discovery. *BMC genomics* 15, 288. doi: 10.1186/1471-2164-15-288.
- Girault G, Thierry S, Cherchame E, Derzelle S, 2014b. Application of High-Throughput Sequencing: Discovery of Informative SNPs to Subtype *Bacillus anthracis*. *Adv Biosci Biotechnol* 5, 669-677.
- Godfroid J, Nielsen K, Saegerman C, 2010. Diagnosis of brucellosis in livestock and wildlife. *Croat Med J.* 51, 296–305. <http://dx.doi.org/10.3325/cmj.2010.51.296>
- Gogarten JP, Townsend JP, 2005. Horizontal gene transfer, genome innovation and evolution. *Nat Rev Microbiol* 3, 679–687.
- Gong JG, Lee WJ, Garnsworthy PC, Webb R, 2002. Effect of dietary-induced increases in circulating insulin concentrations during the early postpartum period on reproductive function in dairy cows. *Reproduction* 123, 419-427.
- Gonzalez C, Le Bourhis D, Guyader Joly C, Moulin B, Heyman Y, Humblot P, 2008.. Pregnancy rates after single direct transfer of biopsed frozen-thawed bovine embryos according to quality. *Proceedings 24th AETE*, 158.
- Gopaul KK, Sells J, Lee R, Beckstrom-Sternberg SM, Foster JT, Whatmore AM., 2014. Development and assessment of multiplex high resolution melting assay as a tool for rapid single-tube identification of five *Brucella* species. *BMC Res Notes.* 7, 903. doi: 10.1186/1756-0500-7-903.
- Gorvel JP, Moreno E, Moriyón I, 2009. Is *Brucella* an enteric pathogen? *Nat Rev Microbiol.* 7(3), 250; author reply 250. doi: 10.1038/nrmicro2012-c1.

- Gorvel JP, Moreno E, 2002. *Brucella* intracellular life: from invasion to intracellular replication. *Vet. Microbiol.* 90, 281–297
- Graindorge A, Thuret R, Pollet N, Osborne HB, Audic Y, 2006. Identification of post-transcriptionally regulated *Xenopus tropicalis* maternal mRNAs by microarray. *Nucleic Acids Res.* 34, 986–995. doi:10.1093/NAR/GKJ492
- Green JA, Xie S, Roberts RM, 1998. Pepsin-related molecules secreted by trophoblast. *Reviews of Reproduction* 3, 62–69. (doi:10.1530/ror.0.0030062)
- Green JA, Xie S, Quan X, Bao B, Gan X, Mathialagan N, Beckers JF & Roberts RM, 2000. Pregnancy-associated bovine and ovine glycoproteins exhibit spatially and temporally distinct expression patterns during pregnancy. *Biology of Reproduction* 62, 1624–1631. (doi:10.1095/biolreprod62.6.1624)
- Grilló MJ, Barberán M, Blasco JM, 1997. Transmission of *Brucella melitensis* from sheep to lambs. *Vet Rec*, 140, 602–605.
- Grimard B, Touze JL, Laigre P, Thomeret F, 2005. Abnormal patterns of resumption of ovarian postpartum cyclicity in Prim' Holstein dairy cows: risk factors and consequences on reproductive efficiency. *Reproduction in Domestic Animals* 40, 342.
- Grimard B, Disenhaus C, 2005. Les anomalies de reprise de la cyclicité après vêlage. *Le Point Vétérinaire. Reproduction des ruminants : maîtrise des cycles et pathologie.* Pages 16-21.
- Grummer RR, Winkler JC, Bertics SJ, Studer VA, 1994. Effect of propylene glycol dosage during feed restriction on metabolites in blood of prepartum Holstein heifers. *J. Dairy Sci.* 77, 3618-3623
- Guan Y, Shao Y, Li D, Liu M, 2014. Generation of site-specific mutations in the rat genome via CRISPR/Cas9. *Methods Enzymol.* 546, 297-317. doi: 10.1016/B978-0-12-801185-0.00014-3.
- Guignot F, Perreau G, Cavarroc C, Touzé J L, Pougard JL, Dupont F, Beckers JF, Remy B, Babilot JM, Bed'Hom B, Lamorinière JM, Mermillod P, Baril G, 2011. Sex and PRPN genotype determination in preimplantation caprine embryos *Reprod. Domest. Anim.* 46(4), 656-663.
- Guillaume F, Gautier M, Ben Jemaa S, Fritz S, Eggen A, Boichard D, Druet T, 2007. Refinement of two female fertility QTL using alternative phenotypes in French Holstein dairy cattle. *Animal Genetics* 38, 72–74.
- Guillaume F, Le Mezec P, Mattalia S, Regaldo D, Barbier S, Journaux L et Verrier E, 2009. La révolution génomique, une nouveauté pour la sélection des bovins laitier : la SAM. *FGE*, 2009; Paris, 18p.
- Gunderson KL, Steemers FJ, Lee G, Mendoza LG, Chee MS, 2005. A genomic wide scalabe SNP genotyping assay using microarray technology *Nat Genet* 37(5), 549-54.
- Gutierrez CG, Oldham J, Bramley TA, Gong JG, Campbell BK, Webb R, 1997. The recruitment of ovarian follicles is enhanced by increased dietary intake in heifers. *Journal of Animal Science* 75, 1876–1884.
- Gutiérrez JP, Álvarez I, Fernández I, Royo LJ, Díez J, Goyache F, 2002. Genetic relationships between calving date, calving interval, age at first calving and type traits in beef cattle. *Livestock Production Science* 78, 215–222.
- Guyader Joly C, Ponchon S, Thuard JM, Durand M, Nibart M, Marquant-Le Guienne B, Humblot P, 1997. Effects of superovulation on repeated ultrasound guided oocyte collection and in vitro embryo production in pregnant heifers. *Theriogenology* 47, 157. doi:10.1016/S0093-691X(97)82284-4.
- Guyader-Joly C, Ponchon S, Durand M, Heyman Y, Renard JP, Menezo Y, 1999. Effect of lecithin on in vitro and in vivo survival of in vitro produced bovine blastocysts after cryopreservation. *Theriogenology* 52, 1193–1202. doi:10.1016/S0093-691X(99)00211-3.
- Hahn K, Habierski A, Herder V, Wohlsein P, Peters M, Hansmann F, Baumgartner W, 2012. Schmallenberg virus in central nervous system of ruminants. *Emerging infectious diseases* 19(1), 154-155.
- Hamdy MR, Amin AS, 2002. Detection of *Brucella* species in the milk of infected cattle, sheep, goats and camels by PCR. *Vet J*, 163, 299-305.
- Hasler JF, 2014. Forty years of embryo transfer in cattle: a review focusing on the journal *Theriogenology*, the growth of the industry in North America, and personal reminiscences. *Theriogenology* 81(1), 152-169. doi: 10.1016/j.theriogenology.2013.09.010. Review.
- Healy LL, Cronin JG, Sheldon IM, 2015. Polarized Epithelial Cells Secrete Interleukin 6 Apically in the Bovine Endometrium. *Biol Reprod.* 92(6):151. doi: 10.1095/biolreprod.115.127936.
- Heuer C, Schukken YH, Dobbelaar P, 1999. Postpartum body condition score and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield, and culling in commercial dairy herds. *Journal of Dairy Science* 82, 295–304.
- Hoffmann B, Scheuch M, Höper D, Jungblut R, Holsteg M, Schirrmeier H, Eschbaumer M, Goller KV, Wernicke K, Fischer M, Breithaupt A, Mettenleiter TC, Beer M, 2012. Novel orthobunyavirus in cattle Europe, 2011. *Emerg. Infect. Dis.* 18 (3), 469–472.

- Hoffmann B, Schulz C, Beer M, 2013. First detection of Schmallenberg virus RNA in bovine semen, Germany, 2012. *Vet Microbiol.* 167(3-4), 289-295. (Erratum in *Vet Microbiol.* 2014 ;170(1-2), 179.)
- Hoglund JK, Sahana G, Guldbandsen B, Lund MS, 2014. Validation of associations for female fertility traits in Nordic Holstein, Nordic Red and Jersey dairy cattle. *BMC Genet.* 15:8.
- Hong PC, Tsois RM, Ficht TA, 2000. Identification of genes required for chronic persistence of *Brucella abortus* in mice. *Infect. Immun.* 68, 4102–4107.
- Horan B, Mee JF, O'Connor P, Rath M, Dillon P, 2005. The effect of strain of holstein-friesian cow and feeding system on postpartum ovarian function, animal production and conception rate to first service. *Theriogenology* 63, 950-971
- Hue I, Degrelle SA, Champion E, Renard JP, 2007. Gene expression in elongating and gastrulating embryos from ruminants. *Soc. Reprod. Fertil. Suppl.* 64, 365–377.
- Hughes AL, Green JA, Garbayo JM, Roberts RM, 2000. Adaptive diversification within a large family of recently duplicated, placentally expressed genes. *PNAS* 97, 3319–3323. (doi:10.1073/pnas.97.7.3319)
- Humblot P, 2001. Use of pregnancy specific proteins and progesterone assays to monitor pregnancy and determine the timing, frequencies and sources of embryonic mortality in ruminants. *Theriogenology* 56, 1417–1433.
- Humblot P, Camous S, Martal J, Charleroy J, Jeanguyot N, Thibier M, Sasser RG, 1988. Diagnosis of pregnancy by radioimmunoassay of a pregnancy specific protein in the plasma of dairy cows. *Theriogenology* 30, 257-269.
- Jain R, Rivera MC, Moore JE, Lake JA, 2002. Horizontal gene transfer in microbial genome evolution. *Theor Popul Biol* 61, 489–495
- Jiang X, Baldwin CL, 1993. Iron augments macrophage-mediated killing of *Brucella abortus* alone and in conjunction with interferon-gamma. *Cell Immunol.* 148(2), 397-407.
- Kadri NK, Sahana G, Charlier C, Iso-Touru T, Guldbandsen B, Karim L, Sander Nielsen U, 2014. A 660-Kb deletion with antagonistic effects on fertility and milk production segregates at high frequency in Nordic Red cattle: Additional evidence for the common occurrence of balancing selection in livestock. *PLoS Genet.* 10, E1004049.
- Kerbrat S, Disenhaus C, 2000. Profils d'activité lutéale et performances de reproduction du vèlage à la première insémination. *Renc. Rech. Ruminant* 7, 227-230.
- Kerbrat S, Disenhaus C, 2004. A proposition for an updated behavioural characterisation of the oestrus period in dairy cows. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 87, 223-238.
- Kessel S, Stroehl M, Meyer HH, Hiss S, Sauerwein H, Schwarz FJ, Bruckmaier RM, 2008. Individual variability in physiological adaptation to metabolic stress during early lactation in dairy cows kept under equal conditions. *Journal of Animal Science* 86, 2903–2912.
- Kanduri C, Rajas P, Ahvenainen M, Philips AK, Ukkola-Vuoti L, Lähdesmäki H, Järvelä I, 2015. The effect of listening to music on human transcriptome. *PeerJ.* 12, 3:e830. doi: 10.7717/peerj.830.
- Khatib H, Maltecca C, Monson RL, Schutzkus V, Rutledge JJ, 2009. Monoallelic maternal expression of STAT5A affects embryonic survival in cattle. *BMC Genet.* 10, 13. doi:10.1186/1471-2156-10-13
- Khatib H, Maltecca C, Monson RL, Schutzkus V, Wang X, Rutledge JJ, 2008a. The fibroblast growth factor 2 gene is associated with embryonic mortality in cattle. *J Anim Sci.* 86(9), 2063-2067. doi: 10.2527/jas.2007-0791.
- Khatib H, Monson RL, Schutzkus V, Kohl DM, Rosa GJ, Rutledge JJ, 2008b. Mutations in the STAT5A gene are associated with embryonic survival and milk composition in cattle. *J Dairy Sci.* 91(2), 784-793. doi: 10.3168/jds.2007-0669.
- Kiddy CA, Mitchell DS, Hawk HW, 1984. Estrus-related odors in body fluids of dairy cows. *J Dairy Sci* 67, 388-391.
- Kim KM, Kim KW, Sung S, Kim H, 2011. A genome-wide identification of genes potentially associated with host specificity of *Brucella* species. *J Microbiol.* 49(5):768-75. doi: 10.1007/s12275-011-1084-3.
- Kirkland PD, Barry RD, Harper PA, Zelski RZ, 1988. The development of Akabane virus-induced congenital abnormalities in cattle. *The Veterinary record* 122(24), 582-586.
- Knijn. 2012. Oocyte Collection; What is New? WORKSHOP I December 2012. A.E.T.E. Newsletter N°38.
- Kölle S, Reese S, Kummer W, 2010. New aspects of gamete transport, fertilization, and embryonic development in the oviduct gained by means of live cell imaging *Theriogenology* 73, 786–795
- Kurimoto K, Saitou M, 2015. Mechanism and Reconstitution In Vitro of Germ Cell Development in Mammals. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* pii: 027425.
- Labrecque R, Vigneault C, Blondin P, Sirard MA, 2013. Gene expression analysis of bovine oocytes with high developmental competence obtained from FSH-stimulated animals. *Mol. Reprod. Dev.* 80, 428–440.

- Langridge GC, Fookes M, Connor TR, Feltwell T, Feasey N, Parsons BN, Seth-Smith HM, Barquist L, Stedman A, Humphrey T, Wigley P, Peters SE, Maskell DJ, Corander J, Chabalgoity JA, Barrow P, Parkhill J, Dougan G, Thomson NR, 2015. Patterns of genome evolution that have accompanied host adaptation in *Salmonella*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 112(3), 863-868. doi: 10.1073/pnas.1416707112.
- Larsen AK, Godfroid J, Nymo IH, 2016. *Brucella pinnipedialis* in hooded seal (*Cystophora cristata*) primary epithelial cells. *Acta Vet Scand*. 58(1), 9. doi: 10.1186/s13028-016-0188-5.
- Lauri A, Lazzari G, Galli C, Lagutina I, Genzini E, Braga F, Mariani P, Williams J, 2012. Assessment of MDA efficiency for genotyping using cloned embryo biopsies. *Genomics* 101(1), 24–29. doi:10.1016/j.ygeno.2012.09.002
- Lavín JL, Binnewies TT, Pisabarro AG, Ussery DW, García-Lobo JM, Oguiza JA, 2010. Differences in two-component signal transduction proteins among the genus *Brucella*: implications for host preference and pathogenesis. *Vet Microbiol*. 144(3-4), 478-483. doi: 10.1016/j.vetmic.2010.01.007.
- Lawrence JG, 2005. Horizontal and vertical gene transfer: the life history of pathogens. *Contrib Microbiol* 12, 255–271
- Lazzari G, Colleoni S, Duchi R, Galli A, Houghton FD, Galli C, 2011. Embryonic genotype and inbreeding affect preimplantation development in cattle. *Reproduction* 141, 625–632. doi:10.1530/REP-10-0282.
- Le Mezec P, Barbier S, Journaux L, 2013. Du mouvement dans l'insémination : le paysage se redessine, les nouvelles techniques changent les pratiques. *BTIA, bulletin technique de l'insémination animale*, 149, 16-20.
- Le Bourhis D, Chesne P, Nibart, M Marchal J, Humblot P, Renard JP, Heyman Y, 1998. Nuclear transfer from sexed parent embryos in cattle: efficiency and birth of offspring. *J Reprod Fertil* 113(2), 343-348.
- Le Mezec P, 2010. Fertilité des principales races laitières: bilan 1999-2008. *Compte rendu n° 001072030*, Institut de l'élevage, Paris.
- Lee JJ, Kim JH, Kim DG, Kim DH, Simborio HL, Min WG, Rhee MH, Lim JH, Chang HH, Kim S, 2014. Characterization of betaine aldehyde dehydrogenase (BetB) as an essential virulence factor of *Brucella abortus*. *Vet Microbiol*. 168(1), 131-140. doi: 10.1016/j.vetmic.2013.10.007.
- Lien S, Kantanen J, Olsaker I, 1999. Comparison of milk protein allele frequencies in Nordic cattle breeds. *Anim Genet* 30(2), 85-91.
- Ling J, Zhuang G, Tazon-Vega B, Zhang C, Cao B, Rozenwaks Z, Xu K, 2009. Evaluation of genome coverage and fidelity of multiple displacement amplification from single cells by SNP array. *Mol. Hum. Reprod*. 15, 739–747. doi:10.1093/molehr/gap066
- Loeffen W, Quak S, de Boer-Luijtz E, Hulst M, van der Poel W, Bouwstra R, Maas R, 2012. Development of a virus neutralisation test to detect antibodies against Schmallenberg virus and serological results in suspect and infected herds. *Acta Vet Scand* 7, 54:44.
- Lonergan P, Khatir H, Piumi F, Rieger D, Humblot P, Boland MP, 1999. Effect of time interval from insemination to first cleavage on the developmental characteristics, sex ratio and pregnancy rate after transfer of bovine embryos. *J. Reprod. Fertil*. 117, 159–167.
- Lopes RF, Forell F, Oliveira AT, Rodrigues JL, 2001. Splitting and biopsy for bovine embryo sexing under field conditions. *Theriogenology*. 56(9), 1383-1392.
- Lopez-Gatius F, Santolaria P, Yaniz J, Rutllant J and Lopez-Bejar M 2002. Factors affecting pregnancy loss from gestation day 38 to 90 in lactating dairy cows from a single herd. *Theriogenology* 57, 1251–1261.
- López-Goñi I, García-Yoldi D, Marín CM, de Miguel MJ, Barquero-Calvo E, Guzmán-Verri C, Albert D, Garin-Bastuji B, 2011. New Bruce-ladder multiplex PCR assay for the biovar typing of *Brucella suis* and the discrimination of *Brucella suis* and *Brucella canis*. *Vet Microbiol*, 154, 152–155.
- Lovmar L, Syvanen AC, 2006. Multiple displacement amplification to create along-lasting source of DNA for genetic studies. *Hum Mutat* 27, 603–614
- Lucy MC, 2007. The bovine dominant ovarian follicle. *J. Anim. Sci*. 85, E89-E99.
- Lucy MC, Butler ST, Garverick HA, 2014. Endocrine and metabolic mechanisms linking postpartum glucose with early embryonic and foetal development in dairy cows. *Animal. Suppl* 1:82-90. doi: 10.1017/S1751731114000482.
- Machado SA, Reichenbach HD, Weppert M, Wolf E, Goncalves PB, 2006. The variability of ovum pick-up response and in vitro embryo production from monozygotic twin cows. *Theriogenology* 65, 573–583. doi:10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2005.04.032
- MacLachlan AJ, Conley PC, Kennedy 2000. Bluetongue and equine viral arteritis viruses as models of virus-induced fetal injury and abortion. *Anim Repro Sci* 60-61, 643-651.

- Mahmoudi, N, Slater GF, Fulthorpe RR, 2011. Comparison of commercial DNA extraction kits for isolation and purification of bacterial and eukaryotic DNA from PAH-contaminated soils. *Can. J. Microbiol.* 57 (8), 623e628.
- Mailles A, Madani N, Maurin M, Garin-Bastuji B, Vaillant V, 2010. Unexpected increase of human and animal tularemia cases during winter 2007/2008 in France: Emergence or short-lasting episode? *Med Mal Infect* 40(5), 279-284.
- Mailles A, Vaillant V, 2014. 10 years of surveillance of human tularaemia in France. *Euro Surveill.* 19(45), 20956. <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20956>.
- Maltz, 2010. Novel Technologies: Sensors, Data and Precision Dairy Farming. The First North American Conference on Precision Dairy Management, Toronto, 2010. Disponible sur : <http://www.precisiondairy2010.com/proceedings/s9maltz.pdf> (consulté le 28/11/2013)
- Mamo S, Carter F, Lonergan P, Leal CL, Al Naib A, McGettigan P, Mehta JP, Evans AC, Fair T, 2011. Sequential analysis of global gene expression profiles in immature and in vitro matured bovine oocytes: potential molecular markers of oocyte maturation. *BMC Genomics* 12, 151. doi:10.1186/1471-2164-12-151
- Mann GE, Mann SJ, Blache D, Webb R, 2005. Metabolic variables and plasma leptin concentrations in dairy cows exhibiting reproductive cycle abnormalities identified through milk progesterone monitoring during the post partum period. *Anim. Reprod. Sci.* 88, 191-202.
- Mansouri-Attia, N, Sandra O, Aubert J, Degrelle S, Everts RE, Giraud-Delville C, Heyman Y, Galio L, Hue I, Yang X, Tian XC, Lewin HA, Renard JP, 2009a. Endometrium as an early sensor of in vitro embryo manipulation technologies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106, 5687–5692.
- Mather AE, Reid SW, Maskell DJ, Parkhill J, Fookes MC, Harris SR, Brown DJ, Coia JE, Mulvey MR, Gilmour MW, Petrovska L, de Pinna E, Kuroda M, Akiba M, Izumiya H, Connor TR, Suchard MA, Lemey P, Mellor DJ, Haydon DT, Thomson NR, 2013. Distinguishable epidemics of multidrug-resistant *Salmonella* Typhimurium DT104 in different hosts. *Science.* 341(6153), 1514-1517. doi: 10.1126/science.1240578.
- Matoba S, Bender K, Fahey AG, Mamo S, Brennan L, Lonergan P, Fair T, 2014. Predictive value of bovine follicular components as markers of oocyte developmental potential. *Reprod Fertil Dev.* 26(2), 337-345
- McClelland M, Sanderson KE, Clifton SW, Latreille P, Porwollik S, Sabo A, Meyer R, Bieri T, Ozersky P, McLellan M, Harkins CR, Wang C, Nguyen C, Berghoff A, Elliott G, Kohlberg S, Strong C, Du F, Carter J, Kremizki C, Layman D, Leonard S, Sun H, Fulton L, Nash W, Miner T, Minx P, Delehaunty K, Fronick C, Magrini V, Nhan M, Warren W, Florea L, Spieth J, Wilson RK, 2004. Comparison of genome degradation in *Paratyphi A* and *Typhi*, human-restricted serovars of *Salmonella enterica* that cause typhoid. *Nat Genet.* 36(12):1268-1274.
- McCoy MA, Lennox SD, Mayne CS, McCaughey WJ, Edgar HWJ, Catney DC, Verner M, Mackey DR, Gordon AW, 2006. Milk progesterone profiles and their relationship with fertility, production and disease in dairy cows in northern Ireland. *Anim. Sci.* 82, 213-222.
- Meador VP, Deyoe BL, 1989. Intracellular localization of *Brucella abortus* in bovine placenta. *Vet Pathol.* 26(6):513-515.
- Mertens PP, Diprose J, Maan S, Singh KP, Attoui H, Samuel AR, 2004. Bluetongue virus replication, molecular and structural biology. *Veterinaria Italiana* 40, 426-437.
- Merton JS, Knijn HM, Flapper H, Dotinga F, Roelen BAJ, Vos PLAM, Mullaart E, 2013. Cysteamine supplementation during in vitro maturation of slaughterhouse- and opu-derived bovine oocytes improves embryonic development without affecting cryotolerance, pregnancy rate, and calf characteristics. *Theriogenology* 80, 365–371.
- Merton JS, Ask B, Onkundi DC, Mullaart E, Colenbrander B, Nielen M, 2009. Genetic parameters for oocyte number and embryo production within a bovine ovum pick-up in vitro production embryo-production program. *Theriogenology* 72, 885–893. doi:10.1016/j.theriogenology.2009.06.003
- Merton JS, de Roos AP, Mullaart E, de Ruigh L, Kaal L, Vos PL, Dieleman SJ, 2003. Factors affecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry. *Theriogenology.* 59(2), 651-674.
- Mick V, 2014. Plasticité des génomes bactériens : une recherche en constante évolution. Habilitation à diriger les recherches, Université Paris-Est, 137 pages.
- Mick V, Le Carrou G, Corde Y, Game Y, Jay M, Garin-Bastuji B, 2014. *Brucella melitensis* in France: persistence in wildlife and probable spillover from Alpine ibex to domestic animals. *PLoS One.* 9(4), e94168. doi: 10.1371/journal.pone.0094168
- Miyoshi S, Pate JL, Palmquist DL, 2001. Effects of propylene glycol drenching on energy balance, plasma glucose, plasma insulin, ovarian function and conception in dairy cows. *Animal reproduction Science* 68 (1-2), 29-43.

- Mollo MR, Rumpf R, Martins AC, Carrijo LHD, Saueressig MG, Sartori R, 2007. Embryo production in superovulated Nelore heifers under low or high feed intake (abstract). *Acta Sci Vet* 35(Suppl 3), 1241.
- Monniaux D, Drouilhet L, Rico C, Estienne A, Jarrier P, Touzé JL, Sapa J, Phocas F, Dupont J, Dalbiès-Tran R, Fabre S., 2012. Regulation of anti-Müllerian hormone production in domestic animals. *Reprod Fertil Dev.* 25(1), 1-16. doi: 10.1071/RD12270. Review.
- Moore SG, Fair T, Lonergan P, Butler ST, 2014. Genetic merit for fertility traits in Holstein cows: IV. Transition period, uterine health and resumption of cyclicity. *Journal of Dairy Science* 97, doi:10.3168/jds.2013-7278.
- Mulligan FJ, O'Grady L, Rice DA and Doherty MA 2006. A herd health approach to dairy cow nutrition and production diseases of the transition cow. *Animal Reproduction Science* 96, 331–353.
- Nivet AL, Bunel A, Labrecque R, Belanger J, Vigneault C, Blondin P, Sirard MA, 2012. FSH, withdrawal improves developmental competence of oocytes in the bovine model. *Reproduction* 143, 165–171.
- Oikkonen J, Kuusi T, Peltonen P, Raijas P, Ukkola-Vuoti L, Karma K, Onkamo P, Järvelä I., 2015. Creative Activities in Music - A Genome-Wide Linkage Analysis. *PLoS One.* 24, 11(2), e0148679. doi: 10.1371/journal.pone.0148679
- O'Leary S, Sheahan M, Sweeney T, 2006. *Brucella abortus* detection by PCR assay in blood, milk and lymph tissue of serologically positive cows. *Res Vet Sci.*, 81(2), 170-176.
- Opsomer G, Grohn YT, Hertl J, Coryn M, Deluyker H, de Kruif A, 2000. Risk factors for postpartum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study. *Theriogenology* 53, 841-857.
- Overton TR, Waldron MR, 2004. Nutritional management of transition dairy cows: Strategies to optimize metabolic health. *J. Dairy Sci.* 87(E Suppl.), E105–E119.
- Paez JG, Lin M, Beroukhim R, Lee JC, Zhao X, Richter DJ, Gabriel S, Herman P, Sasaki H, Altshuler D, Li C, Meyerson M, Sellers WR, 2004. Genome coverage and sequence fidelity of phi29 polymerase-based multiple strand displacement whole genome amplification. *Nucleic Acids Res* 32, 71.
- Paula-Lopes FF, Lima RS, Strapa RA, Barros CM, 2013. Influence of cattle genotype (*Bos indicus* vs *Bos Taurus*) on oocyte and preimplantation embryo resistance to elevated temperature. *J. Anim. Sci.* 91(3), 1143–1153. doi:10.2527/jas.2012-5802
- Pedernera M, Garcia SC, Horagadoga A, Barchia I, Fulkerson WJ, 2008. Energy balance and reproduction on dairy cows fed to achieve low or high milk production on a pasture-based system. *J. Dairy Sci.* 91, 3896-3907.
- Pedersen LD, Kargo M, Berg P, Voergaard J, Buch LH, Sorensen AC, 2012. Genomic selection strategies in dairy cattle breeding programmes: sexed semen cannot replace multiple ovulation and embryo transfer as superior reproductive technology. *J. Anim. Breed. Genet.* 129, 152–163. doi:10.1111/j.1439-0388.2011.00958.x
- Peippo J, Viitala S, Virta J, 2007. Birth of correctly genotyped calves after multiplex marker detection from bovine embryo microblade biopsies. *Mol Reprod Dev* 74(11), 1373-1378.
- Penagaricano F, Weigel Ka Khatib H, 2012. Genome-wide association study identifies candidate markers for bull fertility in Holstein dairy cattle. *Anim Genet.* 2012 Jul;43 Suppl 1:65-71. doi: 10.1111/j.1365-2052.2012.02350.x.
- Puglisi R, Cambuli C, Capoferri R, Giannino L, Lukaj A, Duchi R, Lazzari G, Galli C, Feligini M, Galli A, Bongioni G. 2013. Differential gene expression in cumulus oocyte complexes collected by ovum pick up from repeat breeder and normally fertile Holstein Friesian heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 141, 26–33.
- Perdrix J & Chirol C, 1975. Les vaches excrétrices de *Brucella* dans le lait. *Bull. Soc. Sci. Vét. Et Méd. Comparée, Lyon*, 1975, 77, n°6, 371-376.
- Perret O, 2012. Le renouvellement en élevage laitier, enjeux économiques et optimisation. *Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires*, 65, 17-22.
- Petersen E, Rajashekara G, Sanakkayala N, Eskra L, Harms J, Splitter G., 2013. Erythritol triggers expression of virulence traits in *Brucella melitensis*. *Microbes Infect.* 15(6-7), 440-449. doi: 10.1016/j.micinf.2013.02.002.
- Petersson KJ, Gustafsson H, Strandberg E, Berglund B, 2006a. Atypical progesterone profiles and fertility in Swedish dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89, 2529-2538.
- Petersson KJ, Strandberg E, Gustafsson H, Berglund B, 2006b. Environmental effects on progesterone profile measures of dairy cow fertility. *Anim. Reprod. Sci.* 91, 201-214.
- Pimentel ECG, Bauersachs S, Tietze M, Simianer H, Tetens J, Thaller G, Reinhardt F, Wolf E, König S, 2011. Exploration of relationships between production and fertility traits in dairy cattle via association studies of SNP within candidate genes derived by expression profiling. *Anim. Genet.* (3), 251–262. doi:10.1111/j.1365-2052.2010.02148.x
- Pinto A, Bouca P, Chevallier A, Freret S, Grimard B, Humblot P, 2000. Sources de variation de la fertilité et des fréquences de mortalité embryonnaire chez la vache laitière. *Renc. Rech. Rum.*, 7, 213-216.

- Polisseni JS, Guerra Mde O, Machado, MA, Serapiao RV, Carvalho BC, Camargo LS, Peters VM, 2010. Post-biopsy bovine embryo viability and whole genome amplification in preimplantation genetic diagnosis. *Fertil. Steril.* 93(3), 783–788. doi:10.1016/j.fertnstert.2008.10.023</jr
- Pollott GE, Coffey MP, 2008. The effect of genetic merit and production system on dairy cow fertility, measured using progesterone profiles and on-farm recording. *J. Dairy Sci.* 91, 3649-3660.
- Pontes JHF, Silvaa KCF, Basso AC, Rigob AG, Ferreirab CR, Santosa GMG, Sanches BV, Porcionato JPF, Vieira PHS, Faifer FS, Sterzaa FAM, Schenk JL, Seneda MM, 2010. Large-scale in vitro embryo production and pregnancy rates from *Bos taurus*, *Bos indicus*, and *indicus-taurus* dairy cows using sexed sperm *Theriogenology* 74, 1349–1355.
- Pontes JHF, Melo Sterza FA, Basso AC, Ferreira CR, Sanches BV, Rubin KCP, Seneda MM, 2011. Ovum pick up, in vitro embryo production, and pregnancy rates from a large-scale commercial program using Nelore cattle (*Bos indicus*) donors *Theriogenology* 75, 1640–1646
- Pontiroli A, Travis ER, Sweeney FP, Porter D, Gaze WH, Mason S, Hibberd V, Holden J, Courtenay O, Wellington EM, 2011. Pathogen quantitation in complex matrices: a multi-operator comparison of DNA extraction methods with a novel assessment of PCR inhibition. *PLoS ONE* 6 (3), e17916.
- Posadas DM, Ruiz-Ranwez V, Bonomi HR, Martín FA, Zorreguieta A, 2012. BmaC, a novel autotransporter of *Brucella suis*, is involved in bacterial adhesion to host cells. *Cell Microbiol.* 14(6), 965-982. doi: 10.1111/j.1462-5822.2012.01771.x.
- Pryce J & Daetwyler H, 2012. Designing dairy cattle breeding schemes under genomic selection: a review of international research. *Anim. Prod. Sci.* 52, 107-114.
- Pryce J, Hayes B, 2012. A review of how dairy farmers can use and profit from genomic technologies. *Anim. Prod. Sci.* 52, 180-184
- Pryce JE, Hayes BJ, Goddard ME, 2012. Genotyping dairy females can improve the reliability of genomic selection for young bulls and heifers and provide farmers with new management tools. In “Proceedings of the 38th ICAR session, Cork”, 28 Mai - 01 Juin 2012. [http://www.icar.org/Cork\\_2012/Manuscripts/Published/Pryce%202.pdf](http://www.icar.org/Cork_2012/Manuscripts/Published/Pryce%202.pdf)
- Psifidi A, Dovas CI, Banos G, 2010. A comparison of six methods for genomic DNA extraction suitable for PCR-based genotyping applications using ovine milk samples. *Mol Cell Probes.* 24(2), 93-98. doi: 10.1016/j.mcp.2009.11.001.
- Pulvery P, 2012. Dossier FGE/UNCEIA. BTIA, la Revue Française de Génétique et de Reproduction, 143, 30 p.
- Rajananarayanan S, Archunan G, 2011. Identification of urinary sex pheromones in female buffaloes and their influence on bull reproductive behaviour. *Res Vet Sci* 91, 301-305.
- Ranasinghe RM, Nakao T, Yamada K, Koike K, 2010. Silent ovulation, based on walking activity and milk progesterone concentrations, in Holstein cows housed in a free-stall barn. *Theriogenology.*73(7), 942-949. doi: 10.1016/j.theriogenology.2009.11.021.
- Regassa, A., F. Rings, M. Hoelker, U. Cinar, E. Tholen, C. Looft, K. Schellander, and D. Tesfaye. 2011. Transcriptome dynamics and molecular cross-talk between bovine oocyte and its companion cumulus cells. *BMC Genomics* 12:57
- Rekwot PI, Ogwu D, Oyedipe EO, Sekoni VO, 2001. The role of pheromones and biostimulation in animal reproduction. *Anim Reprod Sci* 65, 157-170.
- Ren Z, Zeng H, Xu Y, Zhuang G, Deng J, Zhang C, Zhou C, 2009. Preimplantation genetic diagnosis for Duchenne muscular dystrophy by multiple displacement amplification. *Fertil. Steril.* 91(2), 359–364. doi:10.1016/j.fertnstert.2007.11.044
- Rivard G, Klemm R, 1989. Two body fluids containing bovine estrous pheromones. *Chem Senses* 14, 273-279.
- Roelofs JB, Graat EAM, Mullaart E, Soede NM, Voskamp-Harkema W, Kemp B, 2006. Effects of insemination-ovulation interval on fertilization rates and embryo characteristics in dairy cattle. *Theriogenology* 66, 2173-2181.
- Roelofs JB, Van Eerdenburg FJCM, Soede NM, Kemp B, 2005a. Various behavioral signs of estrous and their relationship with time of ovulation in dairy cattle. *Theriogenology* 63, 1366-1377.
- Roelofs JB, Van Eerdenburg FJCM, Soede NM, Kemp B, 2005b. Pedometer readings for estrous detection and as predictor for time of ovulation in dairy cattle. *Theriogenology* 64, 1690-1703.
- Romar R, De Santis T, Papillier P, Perreau C, Thelie A, Dell’Aquila ME, Mermillod P, Dalbies-Tran R, 2011. Expression of maternal transcripts during bovine oocyte in vitro maturation is affected by donor age. *Reprod. Domest. Anim.* 46, e23–e30. doi:10.1111/J.1439-0531.2010.01617.X

- Rossetti CA, Drake KL, Adams LG, 2012. Transcriptome analysis of HeLa cells response to *Brucella melitensis* infection: a molecular approach to understand the role of the mucosal epithelium in the onset of the *Brucella* pathogenesis. *Microbes Infect*, 14:756e767
- Rossetti CA, Drake KL, Adams LG, 2012. Transcriptome analysis of HeLa cells response to *Brucella melitensis* infection: a molecular approach to understand the role of the mucosal epithelium in the onset of the *Brucella* pathogenesis. *Microbes Infect*. 14(9), 756-767. doi: 10.1016/j.micinf.2012.03.003.
- Rossetti CA, Drake KL, Siddavatam P, Lawhon SD, Nunes JE, Gull T, Khare S, Everts RE, Lewin HA, Adams LG, 2013. Systems biology analysis of *Brucella* infected Peyer's patch reveals rapid invasion with modest transient perturbations of the host transcriptome. *PLoS One*, 8:e81719.
- Royal MD, Darwash AO, Flint APF, Webb R, Woolliams JA, Lamming GE, 2000a. Declining fertility in dairy cattle: changes in traditional and endocrine parameters of fertility. *Anim. Sci.* 70, 487-501.
- Royal MD, Flint APF, Woolliams JA, 2002a. Genetic and phenotypic relationships among endocrine and traditional fertility traits and production traits in holstein-friesian dairy cows. *J.Dairy Sci.* 85, 958-967.
- Royal MD, Mann GE, Flint APF, 2000b. Strategies for reversing the trend towards subfertility in dairy cattle. *Vet. J.* 160, 53-60.
- Royal MD, Pryce JE, Woolliams JA, Flint APF, 2002b. The genetic relationship between commencement of luteal activity and calving interval, body condition score, production, and linear type traits in holstein-friesian dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 85, 3071-3080.
- Ruiz-Ranwez V, Posadas DM, Estein SM, Abdian PL, Martin FA, Zorreguieta A, 2013a. The BtaF trimeric autotransporter of *Brucella suis* is involved in attachment to various surfaces, resistance to serum and virulence. *PLoS One*. 8(11), e79770. doi: 10.1371/journal.pone.0079770.
- Ruiz-Ranwez V, Posadas DM, Van der Henst C, Estein SM, Arocena GM, Abdian PL, Martín FA, Sieira R, De Bolle X, Zorreguieta A, 2013b. BtaE, an adhesin that belongs to the trimeric autotransporter family, is required for full virulence and defines a specific adhesive pole of *Brucella suis*. *Infect Immun*. 81(3), 996-1007. doi: 10.1128/IAI.01241-12.
- Rutten CJ, Velthuis AG, Steeneveld W, Hogeveen H. 2013. Invited review: sensors to support health management on dairy farms. *J Dairy Sci.* 96(4), 1928-1952. doi: 10.3168/jds.2012-6107.
- Ryan DP, Prichard JF, Kopel E, Godke RA, 1993: Comparing early embryo mortality in dairy cows during hot and cool seasons of the year. *Theriogenology* 39, 719-737.
- Saegerman C, Berkvens D, Godfroid J, Walravens K, 2010. Bovine brucellosis. In *Infectious and parasitic diseases of livestock*. C. Lefèvre, J. Blancou, R. Chermette, G. Uilenberg, Editors, Edition Tec et Doc Lavoisier Eminter (Paris), p. 991-1021.
- Saegerman C, Martinelle L, Dal Pozzo F, Kirschvink N, 2013. Preliminary Survey on the Impact of Schmallenberg Virus on Sheep Flocks in South of Belgium. *Transbound Emerg Dis*. doi: 10.1111/tbed.12047.
- Sahana G, Nielsen US, Aamand GP, Lund MS, GuldbRANDTSEN B, 2013. Novel harmful recessive haplotypes identified for fertility traits in nordic Holstein cattle. *PLoS ONE* 8:E82909.
- Sailleau C, Breard E, Viarouge C, Desprat A, Doceul V, Lara E, Languille J, Vitour D, Attoui H, Zientara S, 2013. Acute Schmallenberg Virus Infections, France, 2012. *Emerging Infect. Diseases*, 19, n°2, (2), 321-322.
- Saint-Dizier M, Chastant-Maillard S, 2012. Towards an Automated Detection of Oestrus in Dairy Cattle. *Reprod Dom Anim* doi: 10.1111/j.1439-0531.2011.01971.x
- Sakaguchi M, Sasamoto Y, Suzuki T, Takahashi Y, Yamada Y, 2004. Postpartum ovarian follicular dynamics and estrous activity in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87, 2114-2121.
- Salcedo SP, Chevrier N, Lacerda TL, Ben Amara A, Gerart S, Gorvel VA, de Chastellier C, Blasco JM, Mege JL, Gorvel JP, 2013. Pathogenic brucellae replicate in human trophoblasts. *J Infect Dis.* 207(7), 1075-1083. doi: 10.1093/infdis/jit007.
- Salilew-Wondim D, Hölker M, Rings F, Ghanem N, Ulas-Cinar M, Peippo J, Tholen E, Looft C, Schellander K, Tesfaye D, 2010. Bovine pretransfer endometrium and embryo transcriptome fingerprints as predictors of pregnancy success after embryo transfer. *Physiol Genomics*. 42(2), 201-218. doi: 10.1152/physiolgenomics.00047.2010.
- Salilew-Wondim D, Tesfaye D, Hoelker M, Schellander K, 2014. Embryo transcriptome response to environmental factors: Implication for its survival under suboptimal conditions. *Anim. Reprod. Sci.* 149:30-38.
- Samartino LE, Traux RE, Enright FM, 1994. Invasion and replication of *Brucella abortus* in three different trophoblastic cell lines. *Zentralbl Veterinarmed B.* 41(4), 229-236.

- Sandra O, Constant F, Vitorino Carvalho A, Eozéno C, Valour D, Mauffré V, Hue I, Charpigny G., 2015. Maternal organism and embryo biosensing: insights from ruminants. *J Reprod Immunol.* 108:105-13. doi: 10.1016/j.jri.2014.12.005. Review.
- Sankar R, Archunan G, 2004. Flehmen response in bull: role of vaginal mucus and other body fluids of bovine with special reference to estrus. *Behav Processes* 67, 81-86.
- Santos JE, Rutigliano HM and Sa Filho MF 2009. Risk factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science* 110, 207–221.
- Santos JE, Thatcher WW, Chebel RC, Cerri RL, Galvao KN, 2004. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Animal Reproduction Science* 82–83, 513–535.
- Sargolzaei M, Vigneault C, Blondin P, Schenkel F, Chesnais J, 2012. Results from the Boviteq embryo genotyping research project. *Dairy Cattle Breeding and Genetics Committee Meeting*, September 18, 2012; 6 p.
- Sartori R, Sartori-Bergfelt R, Mertens SA, Guenther JN, Parish JJ, Wiltbank MC, 2002. Fertilization and embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. *J Dairy Sci* 85, 2803–2812.
- Sartori, R., Haughian, J.M., Shaver, R.D., Rosa, G.J.M., Wiltbank, M.C., 2004. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of holstein heifers and lactating cows. *J. Dairy Sci.* 87, 905-920.
- Sasser RG, Ruder CA, Ivani KA, Butler JE, Hamilton WC, 1986. Detection of pregnancy by radioimmunoassay of a novel pregnancy specific protein in serum of cows and a profile of serum concentrations during gestation. *Biol Reprod* 35, 936-942.
- Sathiyaseelan J, Jiang X, Baldwin CL, 2000. Growth of *Brucella abortus* in macrophages from resistant and susceptible mouse strains. *Clin Exp Immunol.* 121(2), 289-94.
- Schwarzenbacher H, Fuerst C, Fuerst-Waltl B, Dolezal M, 2012. A genomewide search for harmful recessive haplotypes in Brown Swiss and Fleckvieh cattle In: 63rd EAAP Meeting Book of Abstracts, Bratislava, Slovakia.
- Seegers H, Malher X, Fouchet M, Quillet JM, 2003. Décrire les performances de reproduction des troupeaux laitiers et projeter leur évolution. *Renc. Rech. Rum.* 10, 135-138
- Shi Y, Wu Y, Zhang W, Qi J, Gao GF, 2014. Enabling the 'host jump': structural determinants of receptor-binding specificity in influenza A viruses. *Nat Rev Microbiol.* 12(12), 822-831. doi: 10.1038/nrmicro3362. Review.
- Shrestha H, Nakao T, Higaki T, Suzuki T, Akita M, 2004. Resumption of postpartum ovarian cyclicity in high-producing holstein cows. *Theriogenology* 61, 637-649.
- Silke V, Diskin MG, Kenny DA, Boland MP, Dillon P, Mee JF, Sreenan JM, 2002. Extent, pattern and factors associated with late embryonic loss in dairy cows. *Animal Reproduction Science* 71, 1–12.
- Sirard MA, 2014. Toward building the cow folliculome. *Anim. Reprod. Sci.* 149 (1-2), 90-97.
- Smith MCA, Wallace JM, 1998. Influence of early post partum ovulation on the re-establishment of pregnancy in multiparous and primiparous dairy cattle. *Reprod. Fertil. Dev.* 10, 207-216
- Sonstegard TS, Cole JB, VanRaden PM, Van Tassell CP, Null DJ, Schroeder SG, Bickhart D, McClure MC, 2013. Identification of a nonsense mutation in CWC15 associated with decreased reproductive efficiency in Jersey cattle. *PLoS ONE* 8, E54872.
- Sørensen MK, Voergaard J, Pedersen LD, Berg P, Sørensen AC, 2011. Genetic gain in dairy cattle populations is increased using sexed semen in commercial herds. *J. Anim. Breed. Genet.* 128, 267–275. doi:10.1111/j.1439-0388.2011.00924.x
- Spano S & Galan JE A, 2012. Rab32-dependent pathway contributes to *Salmonella typhi* host restriction. *Science* 338, 960–963.
- Sperry JF, Robertson DC, 1975. Inhibition of growth by erythritol catabolism in *Brucella abortus*. *J Bacteriol.* 124(1), 391-397.
- Steinrigl A, Hoffmann B, Wodak E, Schmoll F, 2013. Detection of Schmallenberg virus genome in semen of Austrian bulls. 7th annual meeting EPIZONE, 1-4 october 2013, Brussel, p 173 (abstract).
- Stockhofe N, Hulst M, Hakze R, Vellema P, Poel van der W, 2013. Transplacental infection of Schmallenberg Virus in the first trimester of gestation is highly efficient in sheep. 7th annual meeting EPIZONE, 1-4 october 2013, Brussel, p 77 (abstract).
- Tabachnick WJ, 2004. Culicoides and the global epidemiology of bluetongue virus infection. *Veterinaria Italiana*, 40, 145-150.
- Tamassia M, Heyman Y, Lavergne Y, Richard C, Gelin V, Renard JP, Chastant-Maillard S., 2003. Evidence of oocyte donor cow effect over oocyte production and embryo development in vitro. *Reproduction* 126, 629–637. doi:10.1530/REP.0.1260629

- Thélie A, Papillier P, Pannetier S, Perreau C, Traverso JM, Uzbekova S, Mermillod P, Joly C, Humblot P, Dalbies-Tran R, 2007. Differential regulation of abundance and deadenylation of maternal transcripts during bovine oocyte maturation in vitro and in vivo. *BMC Dev. Biol.* 7, 125. doi:10.1186/1471-213X-7-125
- Thélie A, Papillier P, Perreau C, Uzbekova S, Hennequet-Antier C, Dalbies-Tran R, 2009. Regulation of bovine oocyte-specific transcripts during in vitro oocyte maturation and after maternal–embryonic transition analyzed using a transcriptomic approach. *Mol. Reprod. Dev.* 76, 773–782. doi:10.1002/MRD.21031
- Thibier M, Nibart M, 1995. The sexing of bovine embryos in the field. In : Annual conference of the International Embryo Transfer Society (IETS), Calgary Convention Centre (Canada), 8-10 janvier 1995. *Theriogenology.* 43(1), 71-80.
- Thimonier J, 2000. Détermination de l'état physiologique des femelles par analyse des niveaux de progesterone. *INRA Prod. Anim.*, 13(3), 177-183.
- Tittarelli M, Di Ventura M, De Massis F, Scacchia M, Giovannini A, Nannini D, Caporale V, 2005. The persistence of *Brucella melitensis* in experimentally infected ewes through three reproductive cycles. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*, 52, 403-409.
- Tominaga K., Iwaki F, Hoshi S, 2007. Conventional freezing of in vitro-produced and biopsied bovine blastocysts in the presence of a low concentration of glycerol and sucrose. *J Reprod Dev.* 53(2), 443-447.
- Torner H, Ghanem N, Ambros C, Holker M, Tomek W, Phatsara C, Alm H, Sirard MA, Kanitz W, Schellander K, Tesfaye D, 2008. Molecular and subcellular characterisation of oocytes screened for their developmental competence based on glucose-6-phosphate dehydrogenase activity. *Reproduction* 135, 197–212. doi:10.1530/REP-07-0348
- Tosetti N, Croxatto A, Greub G, 2014. Amoebae as a tool to isolate new bacterial species, to discover new virulence factors and to study the host-pathogen interactions. *Microb Pathog.* 77, 125-130. doi: 10.1016/j.micpath.2014.07.009. Review.
- Touzé JL, Laigre P, Thomeret F, Bosc M, Grimard B, 2004. Anomalies des profils de rétablissement de la cyclicité postpartum chez les vaches laitières Prim'Holstein : relations avec les caractéristiques zootechniques. *Renc. Rech. Ruminants* 11, 400.
- Treff NR, Jing S, Tao X Northrop LE, Scott RT, 2001. Single cell genome amplification technique impacts the accuracy of SNP based genotyping and copy number analyses *Mol. Hum. Reprod* 17(6), 335-343.
- Tsolis RM, Young GM, Solnick JV, Bäumlér AJ, 2008. From bench to bedside: stealth of enteroinvasive pathogens. *Nat Rev Microbiol.* 6(12), 883-892. doi: 10.1038/nrmicro2012. Epub 2008 Oct 28. Review.
- Urbanczyk H, Ast JC, Kaeding AJ, Oliver JD, Dunlap PV, 2008. Phylogenetic analysis of the incidence of lux gene horizontal transfer in Vibrionaceae. *J Bacteriol* 190, 3494–3504
- Valas S, Baudry C, Ehrhardt N, LeVen A, Thirion M, Aubert C, Vialard J, 2015. Serosurvey of Schmallenberg Virus Infection in the Highest Goat-Specialized Region of France. *Transbound Emerg Dis.* 62(5), e85-8. doi: 10.1111/tbed.12205.
- Van den Brom R, Luttikholt SJ, Lievaart-Peterson K, Peperkamp NH, Mars MH, van der Poel WH, Vellema P, 2012. Epizootic of ovine congenital malformations associated with Schmallenberg virus infection. *Tijdschrift voor diergeneeskunde* 137(2), 106-111.
- Van Der Poel WHM, Parlevliet JM, Everstraten RAM, Kooi EA, Hakze-Van Der Honing R, Stockhofe N, 2013. Schmallenberg virus detection in bovine semen after experimental infection of bulls. *Epidemiol. Infect.* p 1-6. doi:10.1017/S0950268813002574
- Van Eerdenburg FJ, Loeffler HS, Van Vliet JH, 1996. Detection of oestrus in dairy cows: a new approach to an old problem. *Vet. Quart.* 18, 52-54.
- Van Maanen C, van der Heijden H, Wellenberg GJ, Witteveen G, Luttikholt S, Bouwstra R, Kooi B, Vellema P, Peperkamp K, Mars J, 2012. Schmallenberg virus antibodies in bovine and ovine fetuses. *Vet Rec* ; 22;171(12):299.
- VanRaden, P.M., K.M. Olson, D.J. Null, and J.L. Hutchison. 2011. Harmful recessive effects on fertility detected by absence of homozygous haplotypes. *J. Dairy Sci.* 94:6153–6161.
- Verwoerd D, Erasmus BJ, 2004. Bluetongue. In: Coetzer J.A., Tustin R.C. (Eds). *Infectious Diseases of Livestock*, 2nd ed. Oxford University Press, Cape Town 1201-1220
- Viana D, Comos M, McAdam PR, Ward MJ, Selva L, Guinane CM, González-Muñoz BM, Tristan A, Foster SJ, Fitzgerald JR, Penadés JR, 2015. A single natural nucleotide mutation alters bacterial pathogen host tropism. *Nat Genet.* 47(4), 361-366. doi: 10.1038/ng.3219. Epub 2015 Feb 16.

- Vieira LM, Rodrigues CA, Castro Netto A, Guerreiro BM, Silveira CR, Moreira RJ, Sá Filho MF, Bó GA, Mapletoft RJ, Baruselli PS, 2014. Superstimulation prior to the ovum pick-up to improve in vitro embryo production in lactating and non-lactating Holstein cows. *Theriogenology*. 82(2), 318-324. doi: 10.1016/j.theriogenology.2014.04.013.
- Vogler AJ, Birdsell D, Price LB, Bowers JR, Beckstrom-Sternberg SM, Auerbach RK, Beckstrom-Sternberg JS, Johansson A, Clare A, Buchhagen JL, Petersen JM, Pearson T, Vaissaire J, Dempsey MP, Foxall P, Engelthaler DM, Wagner DM, Keim P, 2009. Phylogeography of *Francisella tularensis*: global expansion of a highly fit clone. *J Bacteriol* 19, 2474–2484.
- von Bargaen K, Gorvel JP, Salcedo SP, 2012. Internal affairs: investigating the *Brucella* intracellular lifestyle. *FEMS Microbiol Rev*. 36(3):533-62. doi: 10.1111/j.1574-6976.2012.00334.x. Review.
- Wall E, Brotherstone S, Woolliams JA, Banos G, Coffey MP, 2003. Genetic evaluation of fertility using direct and correlated traits. *Journal of Dairy Science* 86, 4093–4102
- Walsh RB, Walton JS, Kelton DF, LeBlanc SJ, Leslie KE and Duffield TF 2007. The effect of subclinical ketosis in early lactation on reproductive performance of postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science* 90, 2788–2796.
- Walsh SW, Williams EJ, Evans ACO, 2011. A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Animal Reproduction Science* 123 (2011) 127–138. Review.
- Web-Agri, 2011. Des tests génomiques sur des embryons donnent des résultats prometteurs ! <http://www.web-agri.fr/conduite-elevage/genetique-race/article/des-tests-genomiques-sur-des-embryons-donnent-des-resultats-prometteurs-1175-73190.html>
- Wernars K, Heuvelman CJ, Chakraborty T, Notermans SH, 1991. Use of the polymerase chain reaction for direct detection of *Listeria monocytogenes* in soft cheese. *J. Appl. Bacteriol*. 70 (2), 121e126.
- Wernike K, Holsteg M, Schirrmeyer H, Hoffmann B, Beer M, 2014. Natural infection of pregnant cows with Schmallenberg virus - a follow-up study. *PLoS One*, 9(5), p. e98223.
- Whitworth KM, Lee K, Benne JA, Beaton BP, Spate LD, Murphy SL, Samuel MS, Mao J, O'Gorman C, Walters EM, Murphy CN, Driver J, Mileham A, McLaren D, Wells KD, Prather RS, 2014. Use of the CRISPR/Cas9 system to produce genetically engineered pigs from in vitro-derived oocytes and embryos. *Biol Reprod*. 91(3), 78. doi: 10.1095/biolreprod.114.121723.
- Wiebold JL, 1988. Embryonic mortality and the uterine environment in first service lactating dairy cows. *J Reprod Fertil* 84, 393–399.
- Winchell JM, Wolff BJ, Tiller R, Bowen MD, Hoffmaster AR, 2010. Rapid identification and discrimination of *Brucella* isolates by use of real-time PCR and high-resolution melt analysis. *J Clin Microbiol* 48, 697–702.
- Windig JJ, Beerda B, Veerkamp R, 2008. Relationship between milk progesterone profiles and genetic merit for milk production, milking frequency, and feeding regimen in dairy cattle. *J. Dairy Sci*. 91, 2874–2884.
- Wisløff H, Nordvik BS, Sviland S, Tønnessen R, 2014. The first documented clinical case of Schmallenberg virus in Norway: fetal malformations in a calf. *Vet Rec*. 174(5), 120. doi: 10.1136/vr.102149.
- Wooding FB, Roberts RM & Green JA, 2005. Light and electron microscope immunocytochemical studies of the distribution of pregnancy associated glycoproteins (PAGs) throughout pregnancy in the cow: possible functional implications. *Placenta* 26, 807–827. (doi:10.1016/j.placenta. 2004.10.014)
- Wouda W, Roumen MP, Peperkamp NH, Vos JH, van Garderen E, Muskens J, 2008. Hydranencephaly in calves following the bluetongue serotype 8 epidemic in the Netherlands. *Vet Rec* 162, 422–423.
- Xie S, Low BG, Nagel RJ, Beckers JF, Roberts RM, 1994. A novel glycoprotein of the aspartic proteinase gene family expressed in bovine placental trophoctoderm. *Biology of Reproduction* 51, 1145–1153. doi:10.1095/biolreprod51.6.1145
- Xie SC, Low BG, Nagel RJ, Kramer KK, Anthony RV, Zoli AP, Beckers JF, Roberts RM, 1991. Identification of the major pregnancy-specific antigens of cattle and sheep as inactive members of the aspartic proteinase family. *PNAS* 88, 10247–10251. (doi:10.1073/pnas.88.22.10247)
- Yang X, Li Y, Zang J, Li Y, Bie P, Lu Y, Wu Q, 2016. Analysis of pan-genome to identify the core genes and essential genes of *Brucella* spp. *Mol Genet Genomics*. DOI 10.1007/s00438-015-1154-z
- Yasue A, Mitsui SN, Watanabe T, Sakuma T, Oyadomari S, Yamamoto T, Noji S, Mito T, Tanaka E, 2014. Highly efficient targeted mutagenesis in one-cell mouse embryos mediated by the TALEN and CRISPR/Cas systems. *Sci Rep*. 4:5705. doi: 10.1038/srep05705.
- Yokonishi T, Ogawa T, 2016. Cryopreservation of testis tissues and in vitro spermatogenesis. *Reprod Med Biol*. 15, 21-28.

- Zhang C, Smith C, 1992. Computer simulation of marker assisted selection utilizing linkage disequilibrium. *Theor. Appl. Genet* 83, 813-820.
- Zhang JX, Liu D, Sun L, Wei R, Zhang G, Wu H, Zhang H, Zhao C, 2008. Potential chemosignals in the anogenital gland secretion of giant pandas, *Ailuropoda melanoleuca*, associated with sex and individual identity. *J Chem Ecol* 34, 398-407.
- Zobel R, Tkalcic S, Pipal I, Buic V, 2011. Incidence and factors associated with early pregnancy losses in simmental dairy cows. *Animal Reproduction Science* 127, 121–125.
- Zoli AP, Demez P, Beckers JF, Reznik M, Beckers A, 1992 Light and electron microscopic immunolocalization of bovine pregnancy-associated glycoprotein in the bovine placentome. *Biology of Reproduction* 46, 623–629. (doi:10.1095/biolreprod46.4.623)

# Annexes



## Annexe 1 : Activités d'enseignement assurées entre 1995 et 2014

### Annexe 1.1 : Activités d'enseignement en formation initiale entre 1995 et 2014

Activités d'enseignement 128 h cours = 192 h TD-TP	Etablissement	Niveau licence	Niveau master	Niveau doctorat	TOTAL (274 h TD)
24 h de TD, 1996	ENV Alfort	1ères année			<b>24</b>
2 h de cours, 2 h de TD, 1996	ENV Nantes	1ères année			<b>5</b>
TD informatique, 1997, 50 h	ENV Alfort	1ères année			<b>50</b>
TD informatique, 1998, 28 h (1 <sup>er</sup> semestre)	ENV Alfort	1ère année			<b>28</b>
TD informatique, 1998, 48 h (dernier trimestre)	ENV Alfort	1ère année			<b>48</b>
12 h de cours + 8 h de TD +1,5 h de réunion (Epidémiologie)	ESITPA, Val de Reuil	Ingénieurs 3 <sup>ème</sup> année			<b>27,5</b>
3 h de cours + 4 h de TD + correction 90 copies 02/1998	ESITPA, Val de Reuil	Ingénieurs 3 <sup>ème</sup> année	Epidémiologie		<b>8,5</b>
TD informatique, 1999, 12 h (janvier)	Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort	1ère année			<b>12</b>
8 h de cours, 2001, Reproduction	Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort		T1 PRO Reproduction		<b>12</b>
3 h de cours, 03/2003, reproduction	ISA Beauvais		4 <sup>ème</sup> année (25 étudiants)		<b>4,5</b>
3 h de cours, 01/2003, reproduction	ENSA Rennes		4 <sup>ème</sup> année		<b>4,5</b>
1 h de cours, 3 h de TP, 2004 (Biotechnologies appliquées)	Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort		T1 PRO Reproduction		<b>4,5</b>
2 h de cours, janvier 2004, reproduction	ISA Beauvais		4 <sup>ème</sup> année (25 étudiants)		<b>3</b>
1 h de cours, 18/7/2005 (Biotechnologies appliquées)	Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort		T1 PRO Reproduction		<b>1,5</b>
3 h de cours, 19/12/2006 (Reproduction bovine)	ESITPA Val de Reuil	ingénieurs 4 <sup>ème</sup> année			<b>4,5</b>
3 h de cours, 2006 (Biotechnologies appliquées)	Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort		T1 PRO Reproduction		<b>4,5</b>
3 h de cours, 01/2007 (Reproduction bovine)	Lasalle Beauvaix		4 <sup>ème</sup> année (25 étudiants)		<b>4,5</b>
3 h de cours, 19/11/2007 (Reproduction bovine)	Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes		T1 PRO MAE 2007-2008		<b>4,5</b>
2 Mémoires 5 <sup>ème</sup> année, 2007	ESITPA Val de Reuil				
3 h de cours, 27/11/2008 (Reproduction bovine)	Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes		T1 PRO MAE 2008-2009		<b>4,5</b>
2 h de cours, 02/2009 (Reproduction bovine)	Lasalle Beauvaix		4 <sup>ème</sup> année (25 étudiants)		<b>3</b>
2,5 h de cours, 02/2010 (Reproduction bovine)	Lasalle Beauvaix		4 <sup>ème</sup> année (25 étudiants)		<b>3,75</b>
4 h de cours, 18 septembre 2014 (Génotypage embryon)	Estonian University of Life Sciences, Estonie			PhD students	<b>6</b>
4 h de cours, 31/1/2014 (Biotechnologies)	Institut Lasalle, Beauvais (A. Chango)		ingénieurs 4 <sup>ème</sup> année		<b>6</b>

## Annexe 1.2 : Activités d'enseignement en formation continue rémunérée (FCR) assurée entre 1995 et 2014

Activités d'enseignement en FCR (dates)	Etablissement (lieu)	Public formé	TOTAL (50 j)
3 sessions de formation à la ponction ovocytaire par OPU (Ovum Pick Up) chez les Bovins (sept/1999 ; 18-20/12/2000; 25-27/09/2001)	ANFEIA-UNCEIA (Chateaufvillain, 38)	3-4 techniciens d'équipes TE/session	<b>6</b>
Stage de perfectionnement en maîtrise sanitaire des opérations de transfert embryonnaire (TE, 14-16 juin 1999)	ANFEIA-LNCR (L'Aigle, 61)	6 techniciens d'équipes de TE	<b>3</b>
Biotechnologies de la reproduction : présentation du TE, sexage et OPU (24-28/09/2001)	ANFEIA-UNCEIA (Chateaufvillain, 38)	2 stagiaires étrangers	<b>4</b>
Bases théoriques du transfert embryonnaire (30/9 et 1/10/2002)	ANFEIA-UNCEIA (Maisons-Alfort, 94)	1 technicien	<b>2</b>
Session de 2 semaines de formation : Transfert embryonnaire et sexage, du 19/3 au 3/4/2001	UNCEIA (Maisons-Alfort, 94)	4 stagiaires (Mr Manoharan, Zoo de Coimbatore, Inde)	<b>10</b>
Programme de formation à la biopsie et au sexage (14 -18/06/2004)	ANFEIA-UNCEIA (Chateaufvillain, 38)	2 techniciens d'équipes TE	<b>0,5</b>
Méthodes de synchronisation des chaleurs, 2004	IMV, la Sapaie	Techniciens (Indiens)	<b>0,5</b>
Enquête sur les pratiques d'insémination (25 avril 2006)	ANFEIA (CIA de l'AIN, 01)	~10 techniciens d'IA	<b>1</b>
« Les mardis de la reproduction » (13 février 2007) : les maladies de la reproduction	CAIAC-CECNA (89)	10 éleveurs	<b>2</b>
Réussir l'IA ensemble, formation participative « pilote » (5 et 12 avril 2007, 2 jours)	UNCEIA (COOPELSO, 81)	10 éleveurs	<b>2</b>
Réussir l'IA ensemble, formation de formateurs de coopératives d'IA (13-14 novembre 2007)	ANFEIA (CECNA, 89)	11 ingénieurs ou techniciens de CIA	<b>2</b>
Production et transfert d'embryons, 12/2/2008	IMV (L'Aigle, 61)	Techniciens TE	<b>1</b>
Réussir l'IA ensemble, formation de formateurs de coopératives d'IA (3-4/07/2008)	ANFEIA (AGS, Cézériat, 11)	4 techniciens de CIA	<b>2</b>
Maîtrise des risques sanitaires dans les Centres de Collecte, 29/09/2011	ANFEIA (IMV, L'aigle, 61)	20-25 chefs de centre, inséminateurs	<b>1</b>
Reproduction animale : contrôle des centres agréés, 3 sessions de 4 j (22-26/11/2010 ; 20-24/6/2011 ; 18-22/6/2012)	INFOMA (Lyon, 69)	15-20 vétérinaires inspecteurs et techniciens	<b>12</b>
Pathologies rencontrées dans les Centres de Collecte – Précautions Sanitaires recommandées, 27/09/2012	ANFEIA (IMV, L'aigle)	20-25 chefs de centre, inséminateurs	<b>1</b>

## Annexe 1.3 : Principales actions de conseil et de formation proposées par le groupe Fertilité femelle de l'UNCEIA entre 2006 et 2011

(références détaillées dans les annexes 3.4 (T-), 3.5 (M-), 6.7 (L-) et 6.10 (AU-))

Type	Année [références]	Actions proposées
Conseil individuel  (Cible différente selon action)	2006 [T-3, 5, 6] ; [L-1]	<b>REPRO Action laitier et allaitant</b> → Méthode formalisée d'intervention en élevage, en 6 étapes, aboutissant à un plan d'action personnalisé avec une visite d'évaluation → logiciel EER (fichier EXCEL) : Estimation Economique de Non Atteinte de l'objectif de reproduction Cible : Troupeaux avec problèmes de reproduction
	2009 [T-9, 10, 11, 12]	<b>REPRO Pilote Laitier et allaitant</b> → Méthode prospective, visant à accompagner l'éleveur pour un suivi personnalisé de la reproduction du troupeau, adapté selon ses objectifs de production → mode d'emploi et tableaux de bord pour le recueil de données Cible : tous troupeaux
	2011 [T-13, 14] ; [L-2, 3]	<b>DETOESTRUS Laitier et allaitant</b> → Méthode permettant de distinguer les problèmes liés à la vache (défaut de cyclicité postpartum, de niveau d'expression des chaleurs) de ceux liés aux pratiques de l'éleveur (défaut de sensibilité, de spécificité de la détection), → solutions adaptées aux contraintes et objectifs de l'éleveur. Cible : Troupeaux avec problèmes de détection de chaleurs
Conseil de petit groupe  (Cible : tous éleveurs)	2007 [T-8]	<b>Réussir l'IA ensemble (cf paragraphe 2.3)</b> → 2 journées d'échanges de pratiques sur la conduite de la reproduction, avec des outils pédagogiques dédiés :
	2008 [M-1]	<b>REPRODIA</b> : 37 diaporamas pour illustrer le REPRO GUIDE,
	depuis 2006 [AU-5, 6, 7, 8]	<b>REPRO POSTERS</b> : gamme de 13 posters avec les principaux repères sur la reproduction, l'évaluation de l'état corporel. A utiliser pendant les séances pratiques.
Actions de masse  (Cible : étudiants, techniciens, Eleveurs)	2005, 2007, 2010 [T-4, T-7, T-15], 2013 [T-16]	<b>REPRO Guide</b> → Référentiel sur la reproduction, constitué de 37 fiches recto-verso ; environ 7000 exemplaires vendus entre 2006 et 2010 → Version anglaise disponible depuis 2013
	2008 [AU-9]	<b>REPRO POSTERS</b> → gamme de 13 posters avec les principaux repères sur la reproduction, l'évaluation de l'état corporel. → environ 15 000 posters vendus entre 2007 et 2008
	depuis 2006 [AU-5, 6, 7, 8]	<b>REPRO QUIZZ</b> → quizz illustrés de 10 questions pour tester ses connaissances sur la reproduction, publiés dans le BTIA depuis fin 2006

## Annexe 2 : Encadrement d'élèves, tutorat, stagiaires entre 1998 et 2012 (hors thèses, mémoires de fin d'études)

Année	Diplôme	Nom	Description du stage	Encadrement
2011-2012	Master Sciences de la Vie et de la Santé, université de Tours	Sehnine Mohammed	Modulation des taux plasmatiques d'insuline par un apport alimentaire de propylène glycol sur la quantité, la qualité des ovocytes et des embryons produits par OPU-FIV chez des génisses laitières (Stage en collaboration avec MIDATEST)	Ponsart Claire, (Responsable de stage)
2009-2011	BTS Productions Animales, Fontaine (71) ; Contrat d'apprentissage en alternance	Laderrière Amélie	Participation aux programmes de recherche visant à mettre au point des techniques innovantes de détection des chaleurs et de constat de gestation Stage du 02.11.2009 au 02.11.2011, en hormonologie, et à Chateaufvillain du 31 mai au 4 juin 2010	Ponsart Claire, Joly Catherine (Responsables de stage)
2010	Stage découverte Entreprise, ISARA (4ème année)	Gullon Aurore	Participation à la réalisation des programmes expérimentaux : Ovogena SF2/Pheroestrus FF1311 Du 25 mai au 18 juin 2010, à la station expérimentale UNCEIA (Chateaufvillain)	Ponsart Claire, Joly Catherine (Responsables de stage)
2010	BTS Productions Animales	Conscience Guillaume	Participation au programme DETOESTRUS (CASDAR) Du 8 au 12/02/2010 et du 1 <sup>er</sup> juin au 23 juillet 2010	Ponsart Claire, Gatien Julie (Responsables de stage)
2008	BTS Productions animales	Garrelou Romain	Conduite et suivi de la reproduction des grands travaux de vaches laitières de l'Ain. BTS Productions animales. (stage du 1 <sup>er</sup> juin au 27 juillet 2008)	Ponsart Claire et Gatien Julie (Maître de stage)
2007	BTS Productions animales	Grand Anne- Cécile	Evaluation qualitative d'une action de conseil en élevage bovin reposant sur l'outil « ReproGuide ». 45 p (stage : 04 juin-27 juillet 2007)	Ponsart Claire (Maître de stage)
2005	Maîtrise ès sciences vétérinaires (ENVA) (Centrafrique)	Kelembho Joseph	Influence du temps de séjour « in vitro » des embryons bovins produits in vivo sur le taux de gestation. Maisons-Alfort : ENVA, 2005. 138 p. Mémoire de maîtrise ès-Sciences Vétérinaires : Maisons-Alfort : ENVA : 2005. Collaboration avec URCEO	Claire Ponsart (Maître de stage) Soutenu le 27.10.2005.
2005	BTS Productions animales	Morel Antony	Analyse de l'enquête Fertilia	Ponsart Claire (Responsable de stage)
2005	Stage 3 mois, ESITPA	Riotte Julie	Analyses de l'enquête Fertilia	Ponsart Claire, Fréret Sandrine (Responsable de stage)
2005	Stage 3 mois, ESITPA	Senser Delphine	Analyses de l'enquête Fertilia	(Fertilia)

Année	Diplôme	Nom	Description du stage	Encadrement
2005	Thèse doctorat vétérinaire : ENVL	Congnard Virginie	Reprise de la cyclicité et profils de progestérone en postpartum chez la vache laitière, relations avec la note d'état corporel et la fertilité. Maisons-Alfort : ENVL, 2005. – 160 p. (Collaboration avec ELIACOOP, dans le cadre de l'enquête NEC+REPRO)	Ponsart Claire (Maître de stage)
2004	BTS Productions animales	Tanty Charlotte	Influence du niveau génétique des donneuses de race Normande sur les résultats de collecte d'embryons. 42 p. + 5 p. d'annexes. (Stage de Juin à Juillet 2003)	Ponsart Claire (Maître de stage)
2003	Licence d'Ingénieur Zootechnique : Université des Açores	Aires Da Silva Almeida Bruno (Açores)	Influence des paramètres génétiques sur les collectes réalisées en race Prim'Holstein. Université des Açores : Licence d'Ingénieur Zootechnique, 2003. 78 p.	Ponsart Claire et Humblot Patrice (Maîtres de stage)
2003	BTS Productions animales	Gonon Vincent	Effets du moment d'insémination et de la méthode de détection des chaleurs sur la production d'embryons bovins après superovulation. (Stage réalisé à la station de Chateauvillain)	Ponsart Claire (Responsable de stage).
2002	BTS Productions animales	Dufaure sandrine	Effet du kétoprofène, AINS sur les taux de gestation de génisses laitières après transfert d'embryons. (Collaboration avec Franche Comté Embryons et le laboratoire INTERVET)	Ponsart Claire (Maître de stage)
2002	Rapport de stage ESAA	Bourgoin Gildas	Etude rétrospective des résultats des collectes réalisées par embryo Top sur des animaux Prim'Holstein du 01 juin 2001 au 31 mai 2002. (Stage = Juillet/août 2002)	Ponsart Claire (Maître de stage)
2002	Rapport de stage ESITPA	Mariani Emmanuelle	L'influence des paramètres de production laitière avant collecte sur les résultats de production d'embryons chez des donneuses de race montbéliarde en lactation. – Val-de-Reuil ESITPA, 2002. – 35 P	Ponsart Claire (Maître de stage). Stage d'initiation
2001	Contrat apprentissage ESA Angers	Govignon Armelle	Essai en station sur les effets d'une supplémentation en acides gras Oméga 3 sur l'implantation d'embryons à l'état congelé sur des génisses laitières. Angers : Groupe ESA ; Rennes : URCEO-EMBRYO TOP, 2001. – 29 p.	
1999	Mémoire de fin d'études DESS (CIRAD-EMVT)	Boubekeur Nada	Effet de l'injection de LH en fin de traitement de superovulation sur la production d'embryons bovins et les profils hormonaux. Maisons-Alfort: UNCEIA, 1999. Montpellier : CIRAD-EMVT, 1999. 56 p. <i>Mémoire de stage : DESS : Productions animales en régions chaudes: 1999.</i>	Co-encadrement : Claire Ponsart, Patrice Humblot
1999	Mémoire de fin d'études : BTS	Jupin Linda	Les différents facteurs de variation du taux de gestation chez les vaches receveuses après transfert d'embryons.	Claire Ponsart (maître de stage)
1999	Stage 1 <sup>ère</sup> année, ENVA	Jegou Loïc	Traitement de superovulation et production d'embryons (Durée de stage : 3 semaines)	Ponsart Claire (maître de stage)



## Annexe 3 : Publications d'enseignement et de vulgarisation (formation initiale, formation continue et à caractère professionnel ou technique)

### 3.1 Publications à visée de vulgarisation (V)

#### 1996

- V-1 Grimard B, Ponter AA, **Ponsart C**, Mialot JP, 1996. Nutrition énergétique et fécondité chez la vache allaitante au cours du postpartum. Numéro spécial "Reproduction des Ruminants". Point Vétérinaire, 28:943-50.
- V-2 Mialot JP, Deletang F, Roux ME, Ponsart C, Gipoulou C, Bihoreau JL, 1996. Efficacité de l'association PRID + Hormo P2alpha pour la synchronisation des chaleurs chez les vaches allaitantes lors de vêlage d'automne. Numéro spécial "Reproduction des Ruminants". Point Vétérinaire, 28:1027-1028.

#### 1997

- V-3 Grimard B, Leroy CF, **Ponsart C**, Bendali F, Khireddine B, Humblot P, 1997. Effets d'un traitement de maîtrise des cycles sur la date de vêlage, l'intervalle vêlage-vêlage et la répartition des vêlages chez la vache allaitante de race charolaise. Elevage et Insémination 278:12-23.

#### 1998

- V-4 Grimard B, Humblot P, **Ponsart C**, Ponter AA, Khireddine B, Mialot JP, 1998. Synchronisation des chaleurs : méthodes et facteurs de réussite en élevage allaitant. Bulletin des G.T.V., p 113-120.
- V-5 Nibart M, **Ponsart C**, 1998. Compte-rendu du 14ème colloque Scientifique de l'Association Européenne de Transfert Embryonnaire (A.E.T.E) (11-12 Septembre 1998) (Venise, Italie). Elevage et Insémination 287:10-12.

#### 1999

- V-6 Dumont P, **Ponsart C**, Humblot P, Guérin B, 1999. Etude de la réaction au test de Schalm au cours du contrôle de la fonction sexuelle chez le jeune taureau Normand. Elevage et Insémination, 292:3-16.
- V-7 Grimard B, Bonnet A, **Ponsart C**, Rosso V, Humblot P, 1999. Effet du nombre d'inséminations à l'oestrus induit sur la fertilité de vaches allaitantes Charolaises synchronisées. Elevage et Insémination ; 286:3-10.
- V-8 **Ponsart C**, 1999. Compte-rendu du 15ème colloque scientifique de l'association européenne de transfert embryonnaire (A.E.T.E). Elevage et Insémination 293:11-13.
- V-9 **Ponsart C**, 1999. Compte-rendu du congrès annuel IETS (9-11 janvier 1999). Elevage et Insémination ;291(291):17-20.
- V-10 **Ponsart C**, 1999. Epidémiologie de l'infécondité en élevage laitier : outils statistiques. Elevage et Insémination, 289 :10-22.

#### 2000

- V-11 Mialot JP, Laumonier G, **Ponsart C**, Fauxpoint H, Barassin E, Ponter AA, Deletang F, 2000. Suboestrus postpartum chez la vache laitière : comparaison de traitements (prostaglandine F2 alpha + GnRH). Elevage et Insémination, 298:27.
- V-12 **Ponsart C**, 2000. Compte-rendu du congrès annuel de l'IETS (9-11 janvier 2000). Elevage et Insémination ;296:16-19.
- V-13 **Ponsart C**, 2000. Evolution de l'activité de transfert embryonnaire et d'Ovum Pick Up en France et en Europe depuis 1995. Elevage et Insémination ; 298:18-24.
- V-14 **Ponsart C**, 2000. Compte-rendu du 16ème colloque scientifique de l'Association Européenne de Transfert Embryonnaire (A.E.T.E) 8 et 9 septembre 2000, Santander. Elevage et Insémination, 298: 15-17 (août 2000). Elevage et Insémination ; 298(298):15-7.

#### 2001

- V-15 Grimard B, Ponter AA, Humblot P, **Ponsart C**, Mialot JP, 2001. Alimentation hivernale des vaches allaitantes et performances de reproduction. Elevage et Insémination, 309:3-18.

V-16 **Ponsart C**, 2001. Compte-rendu de la conférence annuelle de l'IETS, International Embryo Transfer Society, 13-16 janvier 2001, Omaha, Nebraska, Canada. Elevage et Insémination, 302:16-19.

## 2002

V-17 **Ponsart C**, 2002. Bibliographie analytique - fertilité femelle. Elevage et Insémination, 309:21-24.

V-18 **Ponsart C**, 2002. Biographie. AETE Newsletter, 16:-10.

V-19 **Ponsart C**, 2002. Compte-rendu du 18ème colloque scientifique de l'association européenne de transfert embryonnaire (A.E.T.E, Rolduc, 6-7 sept 2002). Elevage et Insémination, 308:27-32.

V-20 **Ponsart C**, Guérin B, Humblot P, 2002. Optimiser la production et le transfert d'embryons bovins : choix et préparation des donneuses et des receveuses. Elevage et Insémination, 308:3-26.

## 2003

V-21 **Ponsart C**, 2003. 90 jours pour faire un ovule. BTIA, 110:26-8.

V-22 **Ponsart C**, 2003. Bibliographie analytique "Reproduction et canicule". Elevage et Insémination, 312:19-24.

V-23 **Ponsart C**, 2003. Le cycle fait des vagues. BTIA, 110:23-5.

V-24 **Ponsart C**, 2003. Le cycle oestral. BTIA, 110:20-22.

V-25 **Ponsart C**, 2003. Les hormones : mécanisme d'action et mode d'emploi. BTIA, 110:30-4.

V-26 **Ponsart C**, Frappat B, 2003. Les propositions du groupe fertilité femelle de l'UNCEIA pour améliorer la fertilité. BTIA, 110:72-74.

V-27 **Ponsart C**, Humblot P, 2003. Mortalité embryonnaire et retours décalés: que peut apporter le suivi de gestation? BTIA, 110:35-40.

V-28 **Ponsart C**, Ponter AA, Humblot P, 2003. Canicule, sécheresse et reproduction chez les bovins: relations avec l'alimentation. Elevage et Insémination, 312:3-18.

## 2004

V-29 Michel A, **Ponsart C**, Humblot P, 2004. Effet des pratiques d'élevage sur le résultat à l'insémination des vaches Normande et Prim'Holstein au pâturage. Elevage et Insémination, 322:4-17.

V-30 **Ponsart C**, 2004. Noter et observer: 2 mots clés pour détecter les chaleurs. In N° spécial «La fécondité en élevage laitier: stratégies pour une urgence». Revue Inter Regionale.

V-31 **Ponsart C**, 2004. Transplantation embryonnaire, congélation de l'embryon, ovum pick up. Elevage et Insémination ;323:3-9.

V-32 **Ponsart C**, Ponter AA, Humblot P, 2004. Canicule, sécheresse et reproduction chez les bovins. Bulletin des GTV ;26:40-5.

V-33 Ponter AA, **Ponsart C**, Duvaux-Ponter C, 2004. Sécheresse et nutrition : conséquences sur les performances des ruminants. Bulletin des GTV;26:46-49.

## 2005

V-34 Aymar F, Marquant-Le Guienne B, Ponsart C, Humblot P, 2005. Etude des facteurs de variation des résultats d'OPU-FIV. Elevage et Insémination, 328:2-12.

V-35 Gonzalez C, **Ponsart C**, Humblot P, 2005. Transplantation embryonnaire. Compte-Rendu de la 31ème conférence annuelle de l'IETS (International Embryo Transfer Society) du 9 au 11 janvier 2005 (Copenhague, Danemark). Elevage et Insémination ;328 :14-16.

V-36 **Ponsart C**, Fréret S, Grimard B, Humblot P, Deletang F, Driancourt MA, 2005. Du nouveau sur l'utilisation des progestagènes. BTIA, 117:20-25.

V-37 **Ponsart C**, Marquant-Le Guienne B, Humblot P, 2005. Les biotechnologies de l'embryon bovin, évolution et perspectives. (Présenté aux 11èmes Rencontres Recherches Ruminants (3R), Paris, 8-9 décembre 2004). Elevage et Insémination, 326 (avril 2005). pp. 2-13.

V-38 **Ponsart C**, Ponter AA, Humblot P, 2005. Influence of heat stress on in vivo embryo production. AETE Newsletter, 23:6-8.

## 2006

- V-39 Grimard B, **Ponsart C**, Fréret S, Delise F, Chambon G, Driancourt M, Fournier R, Rosso V, 2006. Effet du moment de l'IA (48 h après retrait vs 36 h) après traitement de maîtrise des cycles à l'aide de la méthode Crestar SO sur la fertilité de l'oestrus induit de génisses charolaises. BTIA, 121:23.
- V-40 **Ponsart C**, Chevallier A, 2006. L'utilité des chélates mise à l'étude. BTIA,119:28-9.
- V-41 **Ponsart C**, Freret S, Humblot P, Charbonnier G, Dubois P, 2006. Nec + Repro: de nouvelles références à valoriser au quotidien. BTIA, 120:28-32.
- V-42 **Ponsart C**, Fréret S, Humblot P, Charbonnier G, Dubois P, 2006. Nec + Repro: signes de chaleurs, profils de cyclicité, état sanitaire du début de lactation, état corporel et production laitière = 5 effets conjugués sur la reproduction. BTIA, 120:33-39.
- V-43 **Ponsart C**, Grimard B, Fréret S, Dewaele M, Driancourt MA, Fournier R, Rosso V, 2006. Effet du nombre d'inséminations (1 vs 2 IA) sur la fertilité à l'oestrus induit de femelles charolaises synchronisées à l'aide du protocole CRESTAR SO®. BTIA, 121:33-39.
- V-44 **Ponsart C**, Le Guienne B, Gérard O, Guyader Joly C, Fréret S, Humblot P, 2006. Reproduction assistée chez les bovins. Insémination et transfert d'embryons: perspectives. Le Point Vétérinaire 37 [Numéro spécial (Reproduction des ruminants: gestation, néonatalogie et postpartum)], 26-31.

## 2007

- V-45 Frappat B, Chevallier A, Pulvéry P, Fréret S, **Ponsart C**, 2007. REPRO Action : des résultats encourageants sur le terrain. BTIA, 124:10-8.
- V-46 Grimard B, Freret S, Gipoulou C, Delize F, Chambon G, Dewaele M, Driancourt MA, Rosso V, Fournier R, Humblot P, **Ponsart C**, 2007. Fertilité à l'oestrus induit chez des génisses viande et des vaches allaitantes traitées à l'aide du nouveau protocole Crestar SO®. Bulletin des GTV, 40:75-82.
- V-47 Humblot P, **Ponsart C**, Fritz S, Le Guienne B, 2007. La fertilité: quelles pistes innovantes de maîtrise? BTIA, 126:27-31.
- V-48 Le Guienne B, **Ponsart C**, Guyader Joly C, Fréret S, Gérard O, Humblot P, 2007. Biotechnologies de la reproduction chez les bovins, Embryons in vitro : évolution et perspectives. Le Point Vétérinaire, 273, 40-45.
- V-49 Ouvry AS, Fréret S, **Ponsart C**, 2007. Journées nationales des GTV 2007 à Nantes. BTIA,126:36-8.
- V-50 **Ponsart C**, Frappat B, 2007. ReproAction: une méthode efficace pour déterminer les causes des problèmes de reproduction dans les troupeaux bovins. BTIA, 123.
- V-51 **Ponsart C**, Humblot P, 2007. Congrès de l'IETS à Kyoto. BTIA, 123, 28-29.

## 2008

- V-52 Guyader-Joly C, **Ponsart C**, Humblot P, 2008. Les nouveautés en transfert embryonnaire. BTIA, 129:42.
- V-53 Le Bourhis D, **Ponsart C**, Humblot P, 2008. Le typage de l'embryon. BTIA, 129:41.
- V-54 Picard-Hagen N, Saint-Blancat M, Gipoulou C, **Ponsart C**, Ennuyer M, Defachelles J, DesCôteaux L, 2008. Comment utiliser les programmes de synchronisation de la reproduction en France chez les vaches laitières. Le Nouveau Praticien Vétérinaire, 2(10):21-25.
- V-55 **Ponsart C**, Fréret S, 2008. Contention et reproduction avec et FERTILIA. BTIA, 128:27.
- V-56 **Ponsart C**, Fréret S, 2008. Détection des chaleurs et FERTILIA. BTIA, 128:27.
- V-57 **Ponsart C**, Salas-Cortes L, Jeanguyot N, Humblot P, 2008. Le sexage des embryons a le vent en poupe! BTIA, 129:30-31.
- V-58 Seegers H, **Ponsart C**, 2008. Conduite de la période tarie et reprise de cyclicité. BTIA, 128:43-46.

## 2009

- V-59 Gatien J, **Ponsart C**, 2009. CIDR: peut-on inséminer systématiquement 56 heures après le retrait? BTIA, 133:41-42.
- V-60 **Ponsart C**, 2009. Repro Pilote prend son envol: premiers tests élevage cet automne. BTIA, 133, 40.
- V-61 **Ponsart C**, Gatien J, Pozzi N, Humblot P, Guérin B, 2009. FCO et reproduction chez la femelle : de l'infection des gamètes au nouveau-né. Repro Mag, 4:8-13.
- V-62 **Ponsart C**, Gatien J, Pozzi N, Humblot P, Guérin B, 2009. Influence de la FCO sur la reproduction des femelles bovines et ovines. BTIA, 131:40-3.

- V-63 **Ponsart C**, Heyman Y, Thibier M, 2009. Celebrating 25 years: History of AETE. A.E.T.E. newsletter N° 32 (décembre 2009). AETE Newsletter, 32:4-6.
- V-64 **Ponsart C**, Joly C, Humblot P, 2009. IETS 2009, San Diego: un congrès sexy ! BTIA, 132:V-34.
- V-65 **Ponsart C**, Joly C, Humblot P, 2009. IETS 2009: Presymposium, San Diego: a sexy meeting ! Embryo production and use of sexed semen. A.E.T.E Newsletters, 31, 12-15.
- V-66 **Ponsart C**, Joly C, Le Guienne B, Gonzalez C, Humblot P, 2009. L'OPU-FIV en Europe. Zoom sur 2 équipes qui produisent 80 % des embryons européens. BTIA, 133:19-23.

## 2010

- V-67 Gatien J, Chanvallon A, Blanc F, Seegers H, **Ponsart C**, Disenhaus C, Constant F, Agabriel J, Frappat B, Grimard B, Paccard P, Salvetti P, 2010. Déteostrous: vers une amélioration de la détection des chaleurs. BTIA, 138:13-21.
- V-68 Humblot P, Gatien J, **Ponsart C**, Freret S, 2010. La mortalité embryonnaire chez les bovins. BTIA, 135:V-36.
- V-69 Le Mezec P, Barbat-Leterrier A, Babier S, de Cremoux R, Gion A, **Ponsart C**, 2010. Fertilité et génétique : la réconciliation. BTIA, 137:29-32.
- V-70 Le Mezec P, Barbat-Leterrier A, Gion A, Barbier S, Ponsart C. La fertilité des vaches laitières en 2008. Des perturbations mais des espoirs côté génétique. *Repro Mag* 2010(6):8-17.
- V-71 Le Mezec P, Paccard P, Schwob S, Fréret S, **Ponsart C**, 2010. Fertilité des vaches laitières: quelles valorisations pour les constats de gestation ? Paris : Institut de l'Elevage, plaquette.
- V-72 **Ponsart C**, 2010. Retour vers le futur à Toronto: vers l'automatisation dans les troupeaux laitiers. BTIA, 136:22-4.
- V-73 Salvetti P, **Ponsart C**, Guerin B. Fièvre Catarrhale Ovine, 2010. Les actualités sur l'épidémiologie, la reproduction et la vaccination (lettre du 24.03.2010). *Repro News (UNCEIA)*, numéro 4.

## 2011

- V-74 Chanvallon, A., Agabriel, J., Blanc, F., Constant, F., Grimard, B., Disenhaus, C., Frappat, B., Paccard, P., Gatien, J., Salvetti, P., **Ponsart, C.**, SEEGER, H., 2011. Détecter les chaleurs en troupeaux bovins avec la méthode DetOestrus Lait. *Bulletin des GTV* (62), 43-46.
- V-75 Chanvallon, A., Agabriel, J., Blanc, F., Constant, F., Grimard, B., Disenhaus, C., Frappat, B., Paccard, P., Gatien, J., Salvetti, P., **Ponsart, C.**, Seegers, H., 2011. Un outil pour améliorer le diagnostic et le conseil autour de la détection des chaleurs en troupeau bovin allaitant. *Nouveau Praticien Vétérinaire Elevages et Santé*, 4 (17), 56-59.
- V-76 Joly C, **Ponsart C**, 2011. Les nouveautés en transfert embryonnaire. BTIA, 140:34-35.
- V-77 **Ponsart C**, 2011. Bibliographie analytique sur la production et le transfert d'embryons. *Elevage et Insémination*, 302:20-27.
- V-78 **Ponsart C**, 2011. Editio. L'embryon au cœur des enjeux actuels. BTIA, 140 : 3.
- V-79 **Ponsart C**, 2011. President's letter. AETE Newsletter, 35:1.
- V-80 **Ponsart C**, Le Guienne B. Congrès IETS 2010: les avancées en OPU-FIV. BTIA, 136:-40.
- V-81 Pulvéry P, Le Bourhis D, Fritz S, Joly C, **Ponsart C**, 2011. GASTON, le premier veau indexé au stade embryon. BTIA, 141:28-29.
- V-82 Salvetti P, Frappat B, Gatien J, Chanvallon A, Blanc F, Agabriel J, Constant F, Grimard B, Disenhaus C, Paccard P, Seegers H, **Ponsart C**, 2011. La détection des chaleurs en troupeaux laitiers et allaitants. Quelle perception des éleveurs et des techniciens? *Le Nouveau Praticien Vétérinaire*, 4(17):42-6.
- V-83 Salvetti P, Fréret S, Gatien J, Humblot P, **Ponsart C**, 2011. FERTILIA : les clés de la réussite en première insémination chez les vaches Prim'Holstein. BTIA, 141:34-42.
- V-84 Salvetti P, Gatien J, Blanc F, Chanvallon A, Agabriel J, Constant F, Grimard B, Disenhaus C, Frappat B, Paccard P, Seegers H, **Ponsart C**, 2011. L'expression des chaleurs en troupeau bovin allaitant. *Le Nouveau Praticien Vétérinaire*, 4(17):41-4.

## 2012

- V-85 Chanvallon, A., Gatien, J., Salvetti, P., Blanc, F., **Ponsart, C.**, Agabriel, J., Frappat, B., Disenhaus, C., Constant, F., Grimard, B., Seegers, H., 2012. Améliorer la détection des chaleurs dans les troupeaux bovins. *Innovations Agronomiques*, 25, 283-297.

V-86 Gatien J, Chanvallon A, Blanc F, Seegers H, **Ponsart C**, Disenhaus C, Constant F, Agabriel J, Frappat B, Grimard B, Paccard P, Salvetti P., 2012. DetOestrus: nouvelle méthode de diagnostic-conseil pour la détection des chaleurs. BTIA, 143:51-57.

### **2013**

V-87 **Ponsart C**, 2013. L'alliance BOVITEQ. BTIA, 147 : 20-22.

V-88 **Ponsart C**, Pozzi N, 2013. Essais SBV. BTIA, 148 : 19.

### **2014**

V-89 **Ponsart C**, Lacaze S, 2014. Les biotechnologies, la TE et l'OPU-FIV. BTIA, 150 :35-57.

## **3.2 Ouvrages (ou chapitres d'ouvrages) professionnels (OP)**

OP-1 **Ponsart C**, Humblot P, 2003. Les traitements de superovulation. In : "Le grand livre des prostaglandines". Levallois-Perret : Schering-Plough Vétérinaire, p. 54-65.

### 3.3 Conférences et communications à congrès professionnels (CP)

#### 1996

CP-1 Cuisenier C, Pietremont JL, Pirot G, **Ponsart C**, Mialot JP, 1996. Examen de la semence des taureaux de monte naturelle en France en 1994. Journée A.E.R.A., 26 janvier 1996, Maisons-Alfort, poster (Compte rendu de la Journée A.E.R.A., p. 147-148) et Congrès SNGTV Angers, mai 1996 (poster).

#### 1998

CP-2 Grimard B, Humblot P, **Ponsart C**, Ponter AA, Khireddine B, Mialot JP, 1998. Synchronisation des chaleurs : méthodes et facteurs de réussite en élevage allaitant. In : Journées Nationales des GTV, Tours (France), Le Vinci, 27-29 mai 1998, p 113-120.

CP-3 Mialot JP, Grobois E, **Ponsart C**, Gipoulou C, Grimard B, Deletang F, 1998. Synchronisation des chaleurs chez les vaches limousines et blondes d'Aquitaine après vèlage d'automne grâce à l'association PRID + PGF2 + PMSG : effet de la durée du traitement de progestérone. Bulletin des GTV, 2:17-26.

CP-4 Mialot JP, Grosbois E, Ponsart C, Roux ME, Gipoulou C, Bihoreau JL, Deletang F, 1998. Amélioration de la fertilité à l'oestrus induit chez les vaches allaitantes lors de vèlage d'automne par l'association PRID+PGF2. In : Journées Nationales des GTV, Tours (France), mai 1998. p 517 (poster).

CP-5 Mialot JP, Paris H, **Ponsart C**, Laumonnier G, Ponter AA, Deletang F, 1998. Traitement du suboestrus de la vache laitière : comparaison de traitements avec la PGF2 alpha ou l'association GnRH - PGF2alpha-GnRH. In : Journées Nationales des GTV, Tours (France), mai 1998. p. 518 (poster).

CP-6 Mialot JP, **Ponsart C**, Ponter AA, Grimard B, 1998. L'anoestrus postpartum chez les bovins : thérapeutique raisonnée. In : Journées Nationales des GTV, Tours (France), mai 1998. p. 71-77.

#### 2002

CP-7 Grimard B, Ponter AA, Humblot P, **Ponsart C**, Mialot JP, 2002. Alimentation hivernale des vaches allaitantes et performances de reproduction. In : Journée bovine nantaise (JBN), 10 octobre 2002. p. 58-66 (oral communication).

CP-8 **Ponsart C**, 2002. Intérêt comparé des différentes biotechnologies de la reproduction. Assemblée générale de la coopérative d'insémination de Haute Savoie, 17 décembre 2002 (diaporama).

CP-9 **Ponsart C**, Guérin B, Humblot P, 2002. Optimiser la production et le transfert d'embryons bovins : choix et préparation des donneuses et des receveuses. In : Journées européennes de la Société Française de Buiatrie, " Gestation", Paris (CNIT-La Défense), 29-31 octobre 2002. p. 43-63 (invited speaker).

CP-10 **Ponsart C**, Humblot P. Détection des chaleurs chez les bovins. In : "Journées européennes de la Société Française de Buiatrie", " Gestation", Paris (CNIT-La Défense), 29-31 octobre 2002. p. 4-13 (invited speaker).

#### 2003

CP-11 **Ponsart C**, 2003. "La fertilité d'abord". Journée technique CEVA, Libourne, France, 25 juin 2003 (diaporama).

CP-12 **Ponsart C**, 2003. Evolution des techniques et des métiers en matière de fertilité femelle. Réunion ANFEIA, 19 juin 2003 (diaporama).

CP-13 **Ponsart C**, 2003. Fertilité femelle. Séminaire R&D, UNCEIA, 22 avril 2003 (diaporama).

CP-14 **Ponsart C**, 2003. Optimization of recipient management - Report on Workshop I at the 19th A.E.T.E meeting, Rostock, September 2003. AETE Newsletter, 20: 3-4, [http://www.aete.eu/pdf\\_newsletter/20.pdf](http://www.aete.eu/pdf_newsletter/20.pdf) (organisation du Workshop)

CP-15 **Ponsart C**, Humblot P, 2003. Superovulation chez les ruminants, quel progrès pour demain ? In : 7ème journée scientifique de la Physio – INRA, l'ovulation: contrôle endogène et exogène, Université François Rabelais, Tours (France), 20 mars 2003, pages 16-20.

#### 2004

CP-16 Grimard B, Fréret S, Seegers H, **Ponsart C**, Chevalier A, Pinto A, Humblot P. Qualité de la détection des chaleurs lors de la surveillance des retours à 3 semaines en troupeaux bovins laitiers à faible fertilité. In: Journée bovine nantaise (JBN), 7 octobre 2004, ENVN, Nantes. p. 144-145.

CP-17 **Ponsart C**, 2004. La Fertilité d'abord ! Assemblée générale de la coopérative d'insémination U.R.C.O. (Sarthe), 17 février 2004 (diaporama).

CP-18 **Ponsart C**, Ponter AA, Humblot P, 2004. Canicule, sécheresse et reproduction chez les bovins. Relations avec l'alimentation. In: 2ème journée d'actualités en reproduction des ruminants. «Reproduction bovine et pratique vétérinaire en productions ovines et caprines», ENVA, Maisons-Alfort, 23 septembre 2004. p. 7-21 (invited speaker).

## 2005

CP-19 Deletang F, Bernay F, Remmy D, Humblot P, Fréret S, **Ponsart C**, 2005. Oestrus and ovulations synchronization and fertility results after treatment associating progesterone (PRID) and PgF2( (without oestradiol 17beta to cycling or non cycling bovine females of dairy and beef French breeds. In : Journées européennes de la Société Française de Buiatrie (S.F.B.), 22-23 novembre 2005, Paris, Salons de l'Aveyron (Poster).

CP-20 Grimard B, **Ponsart C**, Humblot P, Gipoulou C, Rosso V, Fournier R, Driancourt MA, 2005. Efficacité dans les conditions françaises de l'association buséreline - norgestomet - prostaglandine (méthode CRESTAR SO®) pour synchroniser les chaleurs chez les bovins - In: Journées européennes de la Société Française de Buiatrie (S.F.B.), 22-23 novembre 2005, Paris, Salons de l'Aveyron (Poster).

CP-21 **Ponsart C**, Dubois P, Levert J, Fréret S, Jeanguyot N, Charbonnier G, Congnard V, Humblot P, 2005. Influence des profils de notes d'état corporel sur la reprise de cyclicité après vêlage en élevage laitier. In: Journée Bovine Nantaise (JBN), 6 Octobre 2005, Ecole Vétérinaire de Nantes, Nantes. p. 98-101 (oral communication).

CP-22 **Ponsart C**, Dubois P, Levert J, Fréret S, Jeanguyot N, Charbonnier G, Congnard V, Humblot P, 2005. Inséminations de rang 1 ou 2 dans les troupeaux prim'holstein: mêmes résultats? In: Journée Bovine Nantaise (JBN), 6 Octobre 2005, Ecole Vétérinaire de Nantes, Nantes. pp. 102-105 (oral communication).

CP-23 **Ponsart C**, Dubois P, Levert J, Fréret S, Jeanguyot N, Charbonnier G, Congnard V, Humblot P, 2005. Influence des profils de notes d'état corporel sur la reprise de cyclicité après vêlage en élevage laitier. In: Journée Bovine Nantaise (JBN), 6 Octobre 2005, Ecole Vétérinaire de Nantes, Nantes. pp. 98-101 (oral communication).

CP-24 Seegers H, Beaudeau F, Blossé A, **Ponsart C**, Humblot P, 2005. Inséminations de rang 1 ou 2 dans les troupeaux prim'Holstein: mêmes résultats? In: Journée Bovine Nantaise (JBN), 6 Octobre 2005, Ecole Vétérinaire de Nantes, Nantes. p. 102-105.

## 2006

CP-25 **Ponsart C**, 2006. La Fertilité d'abord ! Assemblée générale de la coopérative d'insémination COPELSE, 16 mars 2006.

CP-26 **Ponsart C**, 2006. La Fertilité d'abord ! Présentation du projet UNCEIA au comité de pilotage du PEP de la région Rhône Alpes, Lyon, 8 juin 2006.

CP-27 **Ponsart C**, Grimard B, Fréret S, Dewaele M, Driancourt M, Fournier R, Rosso V, 2006. Effet du nombre d'inséminations (1 vs 2 IA) sur la fertilité à l'oestrus induit de femelles charolaises synchronisées à l'aide du protocole CRESTAR SO. In : Journée Bovine Nantaise (JBN), 4 octobre 2006. p. 103.

CP-28 **Ponsart C**, Grimard B, Fréret S, Humblot P, 2006. Reproduction des vaches laitières : état des lieux et relations avec l'alimentation. Groupe d'échanges des experts en Alimentation de France Contrôle Laitier, Lyon, 8 et 9 novembre 2006.

CP-29 **Ponsart C**, Quinton H, Rohou A, Humblot P, 2006. Erfolgsbeeinflussende Zeitintervalle zwischen Spülung und Transfer bei frisch übertragenen und tiefgefrorenen Rinderembryonen. In: 33. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft Embryotransfer deutschsprachiger Länder (AET-d); Celle (Allemagne); 22-23 juin 2006, p 48. (oral communication).

## 2007

CP-30 **Ponsart C**, 2007. La Fertilité d'abord ! Présentation au groupe reproduction caprin CAPRIA, Poitiers, 18 septembre 2007 (diaporama)

CP-31 **Ponsart C**, 2007. Reproduction des bovins et des ovins : quelques repères. Laon, 29 septembre 2007 (diaporama)

CP-32 **Ponsart C**, Charbonnier G, Dubois P, Fréret S, Humblot P, 2007. Utilisation et suivi de la note d'état corporel comme outil de gestion de l'alimentation énergétique. Séminaire international sur la reproduction des vaches laitières organisé par l'Office des Elevages et des Pâturages, Tunis, Tunisie, 16-18 mai 2007 (diaporama).

CP-33 **Ponsart C**, Dubois P, Charbonnier G, Léger T, Fréret S, Humblot P. Evolution de l'état corporel entre 0 et 120 jours de lactation et reproduction des vaches laitières hautes productrices. In : Journées nationales des GTV, «

Pathologie infectieuse : actualités cliniques, diagnostiques et thérapeutiques, syndrômes émergents », Nantes, 23-25 mai 2007. p. 347-356 (conférence).

## 2008

- CP-34 Gatien J, Jeanguyot N, Hetreau T, Paccard F, Humblot P, **Ponsart C**, 2008. Description des profils de cyclicité observés après vêlage chez des vaches de races abondance et montbéliarde. In: Journée Bovine Nantaise (JBN), Nantes (France), Ecole Nationale Vétérinaire, 2 octobre 2008. p. 46-47 (poster).
- CP-35 Gatien J., Deloche MC, **Ponsart C**, 2008. Etude de l'impact de la FCO sur la reproduction des vaches laitières et allaitantes dans les départements de la Moselle et de la Meuse. Assemblée générale du GDS de l'Yonne (89), 23 janvier 2008 (conférence invitée).
- CP-36 Humblot P, Le Bourhis D, Amigues Y, Colleau JJ, Heyman Y, Fritz S, Gonzalez C, Guyader-Joly C, Malafosse A, Tissier M, **Ponsart C**, 2008. Combined use of reproductive technologies for genomic selection in the bovine. In : 20th European AI Vets Meeting, 19-20 novembre 2008, Utrecht (Pays-bas), p. 4-10 (conférence invitée).
- CP-37 **Ponsart C**, 2008. Journée Vetel, Lens, France. Communication Orale. Fichier PPT., 2008.
- CP-38 **Ponsart C**, Dewaele M, Fournier R, Rosso V, Driancourt MA, Grimard B, Humblot P, 2008. Comparaison de la fertilité à l'oestrus induit obtenue avec la méthode CRESTAR SO® après injection de busereline ou d'hCG le jour de la pose de l'implant chez des génisses Holstein. In : Journée Nationale des GTV, « La reproduction : porte d'entrée du conseil en élevage ». Nantes, 28-30 mai 2008. p. 1124 (poster).
- CP-39 **Ponsart C**, Fréret S, Frappat B, Barbat A, Le Mezec P, Seegers H, Paccard P, Humblot P, 2008. Fertility management & consultancy on farm in France. In: 20th European AI Vets Meeting, Utrecht (Pays-Bas), 17-20 novembre 2008, p. 47-56 (conférence invitée).
- CP-40 **Ponsart C**, Fréret S, Seegers H, Paccard P, Humblot P, 2008. Etude épidémiologique des facteurs associés à la fertilité des vaches laitières: tarissement et début de lactation. In : Journée Nationales des GTV, « La reproduction : porte d'entrée du conseil en élevage ». Nantes, 28-30 mai 2008. p. 187-194 (oral communication).
- CP-41 **Ponsart C**, Pozzi N, Jeantils D, Camus JM, Guérin B, Deloche MC, Bareille S, Bensmaili A, Humblot P. Relations entre l'infection par le virus de la fièvre catarrhale ovine, les caractéristiques individuelles et les taux de cyclicité et de gestation des brebis de race Texel. In: Journées Nationales des GTV, «La reproduction: porte d'entrée du conseil en élevage». Nantes, 28-30 mai 2008. p. 641-647 (oral communication).
- CP-42 Seegers H, **Ponsart C**, 2008. Eléments de conduite de la période tarie et de la transition avec le début de lactation reprise de cyclicité chez les vaches laitières: discussion. In: Journée Bovine Nantaise (JBN), Nantes (France), Ecole Nationale Vétérinaire, 2 octobre 2008. p. 48-51 (oral communication).

## 2009

- CP-43 **Ponsart C**, 2009. Bilan des actions Fertilité Femelle. Perspectives et nouvelles actions. Organisation de la diffusion dans les coopératives. Comité des Directeurs de MIDATEST, Soual, 12 octobre 2009.
- CP-44 **Ponsart C**, 2009. Wie Landwirte tatsächlich die Fruchtbarkeit verbessern können! Erfolgsstrategien aus Frankreich. 17ème Giessener Rindergesundheitstag, Giessen, Allemagne, 14 février 2009. Journée organisée par : Innovationsteam Milch Hessen, Hessisches Kuratorium für das landwirtschaftliche und gartenbauliche Beratungswesen, Landwirtschaftsverlag Hessen und die Kliniken des Fachbereichs Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen (conférence invitée, diaporama).
- CP-45 Seegers H, **Ponsart C**, Billon D, Grimard B, 2009. Peut-on évaluer la qualité de la détection des chaleurs. Discussions et nouvelles perspectives. In : Journées Bovines Nantaises, 1er octobre 2009, ENVN, Nantes (conférence invitée).

## 2010

- CP-46 Gatien J, **Ponsart C**, Salvetti P, Paccard P, Chanvallon A, Frappat B, Ribaud D, Seegers H, Billon D, Grimard B, Constant F, Disenhaus C, Blanc F, Agabriel J, 2010. Enquêtes en élevages sur les pratiques de détection des chaleurs en troupeaux bovins. Programme DETOESTUS financé par CASDAR. In: 10<sup>ème</sup> JBN (Journée Bovine Nantaise), 30 septembre 2010, Nantes (France), poster.
- CP-47 Gatien J, Remmy D, Floc'h S, Salvetti P, **Ponsart C**, 2010. A 48h vs 56h après maîtrise des cycles avec PRID® Delta chez des vaches et génisses laitières et allaitantes. In: JBN (journée Bovine Nantaise), 30 septembre 2010, Nantes (France), poster.

- CP-48 **Ponsart C**, 2010. Allaiter et reproduire : Comment aider les vaches à assurer ? Salon EUROGENETIQUE, 8 avril 2010, Epinal (France, conférence invitée).
- CP-49 **Ponsart C**, 2010. Evolution de la recherche sur la voie femelle. Assemblée générale de la coopérative GENETICA, 30 mars 2010 (conférence invitée).
- CP-50 **Ponsart C**, 2010. Reproductomique : pistes de recherche et applications. Journée technique « Reproduction des VLHP, quoi de neuf ? », INTERVET, Angers, 21 mai 2010.
- CP-51 **Ponsart C**, Gatien J, Frappat B, Philipot JM, Chanvallon A, Salvetti P, 2010. New insight of heat detection in beef cattle. In : 22nd Annual Meeting of EU-AI-Vets. Eger, Hongrie. 15-16 septembre 2010, p 10-13 (conférence invitée).
- CP-52 **Ponsart C**, Gatien J, Humblot P, 2010. Fruchtbarkeit nach terminorientierter künstlicher Besamung oder nach Brunsterkennung bei Anwendung von CIDR- Synchronisationsprotokollen bei französischen Milch- und Fleischrindern = [Fertilité après l'insémination artificielle synchronisée ou après détection des chaleurs lors de l'application des traitements de synchronisation CIDR chez les vaches de race laitière et race à viande françaises.]. In: 37. Jahrestagung der arbeitgemeinschaft embryotransfer deutschsprachiger länder (AET-d) = [37<sup>ème</sup> Congrès annuel de l'association germanique de transfert embryonnaire (AET-d)]. (Zusammenfassung = Résumé). Institut für Tierwissenschaften der Universität Bonn, 8-9 Juli 2010 [8-9 Juillet 2010], p. 18 (conférence invitée).
- CP-53 Seegers H, Billon D, Bossard-Apper E, **Ponsart C**, Paccard P, Disenhaus C, Gatien J, Salvetti P, Grimard B, Chanvallon A, Bareille N, 2010. Peut-on mieux évaluer la qualité de la détection des chaleurs dans un troupeau laitier ? Vers un nouvel outil ... Programme DETOESTUS. In : JBN (journée Bovine Nantaise), 30 septembre 2010, Nantes (France).

## 2011

- CP-54 Chanvallon A, Agabriel J, Blanc F, Constant F, Grimard B, Disenhaus C, Frappat B, Paccard, P, Gatien, J, Salvetti P, **Ponsart C**, Seegers H, 2011. « DetOEstrus Lait » : un nouvel outil de diagnostic-conseil autour de la détection des chaleurs. In: Les visites d'élevage : - gestes, outils - Réalisation et développement (p. 693-697). *Journées Nationales des GTV*. Communication présentée à Journées Nationales des Groupements Techniques Vétérinaires (JNGTV), Nantes, 11-13 mai 2011.

## 2012

- CP-55 Knijn H et **Ponsart C**, 2012. Organisation d'un séminaire intitulé "Expert meeting CRV and UNCEIA: Look into the future", Elst, Pays-Bas, 22-23 octobre 2012 (sans actes).
- CP-56 **Ponsart C**, 2012. Fine phenotyping using embryo and semen biotechnologies, as leverage research on fertility. Séminaire VIKINGGENETICS on Embryo Tech and Male Fertility, Copenhagen, Danemark, 7 février 2012 (diaporama, sans actes).
- CP-57 **Ponsart C.**, 2012. Practitioner's forum IETS. Adoption or lack of adoption of IVP in Europe, Phoenix, Arizona, on January 7-11, 2012 (diaporama, sans actes).
- CP-58 **Ponsart C.**, 2012. Progrès réalisés dans la détection des chaleurs naturelles. In : 13ème congrès Mondial Holstein-World Holstein Conference.Toronto, Ontario, Canada, 2-9 novembre 2012 (conférence invitée, diaporama).
- CP-59 **Ponsart C.**, 2012. Situation and perspectives of the Embryo Transfer industry in Europe. Progrès réalisés dans la détection des chaleurs naturelles. In : II Jornada científico-técnica de reproducción bovina, Journée HUMECO-IMV, HUESCA, Espagne, 21 novembre 2012 (conférence invitée, diaporama).

## 2013

- CP-60 **Ponsart C**, 2013. Aktueller Stand zum Übertragungsrisiko von Infektionskrankheiten im Rahmen des Embryotransfers, insbesondere beim internationalen Handel mit Embryonen. In : 40. Jahrestagung, Arbeitsgemeinschaft Embryotransfer deutschsprachiger Länder, 6-8 juin 2013, Berlin, <http://www.aet-d.de> (conférence invitée).
- CP-61 **Ponsart C**, Merton S, 2013. How can ET praxis find his feet in the age of genomics ?, Practitioner's Forum of IETS. [http://www.iets.org/pdf/Practitioners\\_Forum/Claire\\_Ponsart\\_Sybrand\\_Merton.pdf](http://www.iets.org/pdf/Practitioners_Forum/Claire_Ponsart_Sybrand_Merton.pdf)
- CP-62 **Ponsart C**, Pozzi N, 2013. Impact of the Schmallenberg virus on reproduction : an update. AI vets, Bologne, September 12<sup>th</sup>, 2013 (conférence invitée, diaporama).

## 2014

- CP-63 **Ponsart C**, 2014. Genomics and the use of sexed semen. REPRODUCTION CEVA Symposium, 26 mars 2014, Nice, France, p 23-24 (conférence invitée, diaporama).
- CP-64 **Ponsart C**, Gamarra G, Lacaze S, Ponter A, 2014. Ernährungszustand der Spenderkühe: Embryonen durch Insulin bezogenen Strategien gewinnen. In : 41. Jahrestagung, Arbeitsgemeinschaft Embryotransfer deutschsprachiger Länder, 5-6 juin 2014, Luxembourg, <http://www.aet-d.de> (conférence invitée).

## 2015

- CP-65 **Ponsart C**, Corde Y, Drapeau A, Jaÿ M. Diagnosis of animal brucellosis in cattle, sheep & goat and pigs. AQUALAB Seminario internacional brucelosis bovina y diagnostico en tanque de leche; 24/06/2015; Bogota2015.
- CP-66 **Ponsart C**, Corde Y, Drapeau A, Jaÿ M. Diagnosis of animal brucellosis in cattle, sheep & goat and pigs : focus on serological tools. IDEXX Latin American Distributor Meeting; 03/03/2015; Houston, 2015.
- CP-67 **Ponsart C**, Jaÿ M, Cherfa MA, Mick V. Brucellose porcine : une maladie toujours d'actualité? 29ème éd Salon des Productions Animales- Carrefour Européen (SPACE); 15- 18 Sept 2015; Rennes, France2015
- CP-68 **Ponsart C**. Actualités sur le transfert embryonnaire. Assemblée générale de l'AFVRATE; 19/11/2015; Paris2015.

### 3.4 Publications de transfert (T, publications d'enseignement rédigées, photocopiés)

#### 2003

T-1 Guide des bonnes pratiques de l'insémination bovine, 2003. UNCEIA Département R&D, Groupe Fertilité femelle. Edité par l'UNCEIA, mars 2003 (classeur de fiches+CD, publication de formation continue).

#### 2005

T-2 Recommandations pour le calcul des taux de non-retour en insémination, 2005. UNCEIA, Département R&D, Groupe Andrologie & Fertilité femelle, 4 pages, mars 2005 (norme technique).

T-3 Cahier du projet REPRO ACTION, 2005. Département R&D, Groupe Fertilité femelle, 29 pages, édité en novembre 2005 (publication de formation continue).

T-4 REPROGUIDE, les connaissances et les conseils indispensables pour améliorer la fertilité dans les élevages, 2005. UNCEIA Département R&D, Groupe Fertilité femelle, 1<sup>ère</sup> édition. Edité par l'UNCEIA, mai 2005 (classeur de 37 fiches, version française).

#### 2006

T-5 REPRO Action allaitant, 2006. Manuel d'intervention ciblée sur la reproduction en élevage allaitant. UNCEIA, Département R&D, Groupe Fertilité femelle, 38 pages, édité en juin et novembre 2006 (publication de formation continue).

T-6 REPRO Action laitier, 2006. Manuel d'intervention ciblée sur la reproduction en élevage allaitant. UNCEIA, Département R&D, Groupe Fertilité femelle, 40 pages, édité en mai 2005, juin et novembre 2006 (publication de formation continue).

#### 2007

T-7 REPROGUIDE, les connaissances et les conseils indispensables pour améliorer la fertilité dans les élevages, 2007. UNCEIA Département R&D, Groupe Fertilité femelle, 2<sup>ème</sup> édition. Edité par l'UNCEIA, janvier 2007 (publication spiralée 37 fiches, version française).

T-8 REUSSIR l'IA ensemble, 2007. Document pour les formateurs. UNCEIA Département R&D, Groupe Fertilité femelle. Novembre 2007, 28 pages (publication reliée).

#### 2009

T-9 REPROPILOTE Laitier, 2009. Mode d'emploi inséminateur. UNCEIA Département R&D, Groupe Fertilité femelle. Edité par l'UNCEIA en août 2009, 22 pages (publication reliée).

T-10 REPROPILOTE Laitier, 2009. Objectifs et programme de travail. UNCEIA Département R&D, Groupe Fertilité femelle. Edité par l'UNCEIA en août 2009 (publication reliée).

T-11 REPROPILOTE Laitier, 2009. Tableau de bord Génisses. UNCEIA Département R&D, Groupe Fertilité femelle. Edité par l'UNCEIA en août 2009 (publication reliée).

T-12 REPROPILOTE Laitier, 2009. Tableau de bord Vaches. UNCEIA Département R&D, Groupe Fertilité femelle. Edité par l'UNCEIA en août 2009 (publication reliée).

#### 2010

T-13 DETOESTRUS Allaitant : améliorer la détection des chaleurs dans les troupeaux bovins allaitants, 2011. Méthode de diagnostic et de conseil. Edité par l'Institut de l'Élevage, 56 pages, octobre 2011, <http://idele.fr/metiers/parteneriat-r-d/umt-sante-des-bovins/publication/idelesolr/recommends/la-methode-de-diagnostic-conseil-detoestrus.html> (publication de formation continue).

T-14 DETOESTRUS Laitier : améliorer la détection des chaleurs dans les troupeaux bovins laitiers, 2011. Méthode de diagnostic et de conseil. Edité par l'Institut de l'Élevage, 52 pages, octobre 2011, <http://idele.fr/metiers/parteneriat-r-d/umt-sante-des-bovins/publication/idelesolr/recommends/la-methode-de-diagnostic-conseil-detoestrus.html> (publication de formation continue).

T-15 REPROGUIDE, les connaissances et les conseils indispensables pour améliorer la fertilité dans les élevages, 2010. UNCEIA Département R&D, Groupe Fertilité femelle, 3<sup>ème</sup> édition. Edité par l'UNCEIA, avril 2010 (publication spiralée de 37 fiches, version française).

**2013**

T-16 REPROGUIDE, 2013. Research and development Department, Female fertility group. Edité par IMV et l'UNCEIA, juin 2013 (publication spiralée de 37 fiches, version anglaise).

### **3.5 Vidéos, audiovisuels ; CD-ROM ; montages Power Point (M)**

M-1 REPRO DIA, 2008. 37 diaporamas illustrant le REPROGUIDE, avec les connaissances et les conseils indispensables pour améliorer la fertilité dans les élevages. UNCEIA Département R&D, Groupe Fertilité femelle (37 diaporamas, 380 diapositives).

## Annexe 4 : Encadrement de la recherche : master recherche (DAA, DEA), mémoires de fin d'études ; thèses

### 4.1 Encadrement de mémoires de fin d'études et thèses vétérinaires

Année	Diplôme	Nom	Description du stage	Encadrement
2011-2012	Master Sciences de la Vie et de la Santé, université de Tours	Sehnine Mohammed	Modulation des taux plasmatiques d'insuline par un apport alimentaire de propylène glycol sur la quantité, la qualité des ovocytes et des embryons produits par OPU-FIV chez des génisses laitières (Stage en collaboration avec MIDATEST)	Ponsart Claire, (Responsable de stage)
2010	Mémoire de fin d'études ISAB (Institut Supérieur d'Agriculture de Beauvais)	Tyran Anne-Sophie	Caractérisation et quantification de l'expression comportementale de l'oestrus de vaches allaitantes de race blonde d'Aquitaine (projet DETOESTRUS). Institut Polytechnique LaSalle Beauvais, IGAL-ISAB, 2010. 99 p. Tuteur : Monsieur Jérôme CAUDRILLIER du 5 Janvier au 30 juillet 2010, UNCEIA (Dpt Fertilité Femelle)	Ponsart Claire, Gatien Julie (Responsables de stage)
2009	Thèse de doctorat vétérinaire ENVN (Mémoire de stage de thèse)	Nello Xavier	Nello Xavier. Manifestations comportementales de vaches limousines en période oestrus. Nantes : ENVN, 2009. 64 p. Mémoire de stage de thèse en dominante « médecine des animaux d'élevage et qualité des produits » : ENVN : Nantes Date de stage : du 19 janvier à septembre 2009	Ponsart Claire (Responsable et maître de stage) Jury de these: Seegers H, Paccard P, Gatien J, Disenhaus C
2008	Mémoire de fin d'études : ENSA (Toulouse)	Duchamp Régis	Les critères de fertilité en relation avec les performances de croissance des génisses en race charolaise. Stage en partenariat avec Coop'Evolia (avril 2008)	Ponsart Claire (Maître de stage)
2008	Thèse de doctorat vétérinaire ENVN (Mémoire de stage de thèse)	Martin Rémi	Evaluation d'une méthode d'audit de reproduction menée en troupeaux bovins laitiers : la méthode reproAction. Nantes : ENVN, 106 p. Médecine des animaux d'élevage et qualité des produits : ENVN. Soutenance le 4 sept 2008 (du 31/03 au 15/09/2008)	Ponsart Claire (Maître de stage) Jury de Thèse : BAREILLE N, PACCARD P, PONSART C, SEEGERS H
2008	Mémoire de fin d'études, ESITPA Val de Reuil	Monnier Guillaume	Définir une méthode d'évaluation de la qualité de la détection des chaleurs dans les élevages bovins laitiers (Stage du 3/03 au 20/08/2008)	Ponsart Claire et Seegers H (tuteurs de stage)
2008	Mémoire de fin d'études : ISARA	Vergiat Pierre	Phénotypage des échecs de gestation : approche épidémiologique en ferme. Lyon : ISARA, 2008. 71 pages + annexes. (stage février-août 2008)	Ponsart Claire (Maître de stage) ; Enseignant tuteur : Joly Thierry

Année	Diplôme	Nom	Description du stage	Encadrement
2008	Mémoire de fin d'études ESITPA	Mouchard Benoît	Etude des mortalités embryonnaires en race Prim'Holstein dans le cadre du programme GENIFER. Mont-Saint-Aignan : ESITPA, 2008. 57 p. (stage 15 mai-8 août 2008)	Ponsart Claire (Tuteur de projet)
2008	Thèse de doctorat vétérinaire, ENVL	Grandis Camille	Cyclicité postpartum chez des vaches de races abondance, montbéliarde et prim'holstein. Etude des profils d'activité lutéale et des manifestations comportementales de l'oestrus. Lyon : Université Claude-Bernard-Lyon 1. 117 p. Thèse vétérinaire (19-30 juin 2008), collaboration avec le Centre d'Elevage de Poisy (Thierry HETREAU)	Ponsart Claire (maître de stage UNCEIA) Directeur de thèse : François Badinand
2008	Mémoire de fin d'études : Ingénieur agronome : AgroParisTech	Friboulet Sylvie	Les pratiques de détection des chaleurs en race blonde d'Aquitaine. Paris : AgroParisTech, 2008. 116 p.  de mars à août 2008, dans le cadre du projet Detoestrus	Ponsart Claire (Maître de stage)
2007	Mémoire de fin d'études ESITPA Val de reuil	Trudelle Adeline	Bilan fécondité/fertilité en race Blonde d'Aquitaine. ESITPA., 2007. 35 p. + annexes. (Stage réalisé en collaboration avec MIDATEST)	Ponsart Claire (encadrement scientifique)
2007	Mémoire de fin d'études : ISARA Lyon	Giroud Olivier	Détection des chaleurs des vaches laitières par vidéosurveillance : évaluation des méthodes d'utilisation. ISARA : Lyon, 2007 ; Poisy : Centre d'élevage. 74 p. Stage réalisé avec le centre d'élevage de Poisy : <a href="http://www.gds38.asso.fr/web/gds.nsf/8cb279f7ace047aac1256c0f004cf0d5/c45f2f10f5e834e3c1257537003270fe/\$FILE/Synth%C3%A8se%20MFE%202007.pdf">http://www.gds38.asso.fr/web/gds.nsf/8cb279f7ace047aac1256c0f004cf0d5/c45f2f10f5e834e3c1257537003270fe/\$FILE/Synth%C3%A8se%20MFE%202007.pdf</a>	Ponsart Claire (Maître de stage)
2007	Thèse de doctorat vétérinaire ENVL	Point Franck	Contribution à l'étude de la détection des chaleurs par vidéosurveillance chez la vache laitière. Comparaison avec les profils de progestérone. Lyon : ENVN, 2007. 124 p.	Ponsart Claire (Maître de stage)
2007	Thèse de doctorat vétérinaire ENVN	Delplanque Thomas	Performances de reproduction des vaches laitières Prim'Holstein sous différentes conduites alimentaires en tarissement et début de lactation. (Thèse confidentielle jusqu'au 01/ 01/ 2012)	Ponsart Claire (Maître de stage)

Année	Diplôme	Nom	Description du stage	Encadrement
2007	Thèse de doctorat vétérinaire ENVN	Lamy Lucie	Evaluation d'une méthode d'Audit de reproduction menée en troupeaux bovins laitiers par les coopératives d'insémination artificielle. Doctorat vétérinaire, Nantes, 2007. 143 p. Evaluation d'une méthode d'Audit de reproduction menée en troupeaux bovins laitiers par les coopératives d'insémination artificielle. Mémoire de stage de thèse. ENVN, 2007. 175 p.	Ponsart Claire (Maître de stage, jury du mémoire)
2007	Thèse de doctorat vétérinaire ENVN	de Martin Laurent	Performances de production laitière et état sanitaire des vaches laitières Prim'Holstein sous différentes conduites alimentaires en tarissement et début de lactation Thèse confidentielle jusqu'au 01/01/2012	Ponsart Claire (Maître de stage)
2007	Thèse de doctorat vétérinaire ENVN	Ouvry Anne-Sophie	Description des pratiques de rationnement dans des élevages de vaches Prim'Holstein selon le stade physiologique et étude des relations entre l'alimentation du début de lactation, la production laitière et la fertilité en première insémination. Nantes : ENVN, 2007.	Ponsart Claire (Maître de stage)
2006	Mémoire de fin d'études ISAB (Institut Supérieur d'Agriculture de Beauvais)	Goffin Julie	Evaluation de la mise en place de ReproAction. Beauvais : ISAB, 2006. – 111 p. Mémoire de fin d'études (145 <sup>ème</sup> promotion) : ISAB (Institut Supérieur d'Agriculture de Beauvais) : 2005-2006.	Ponsart Claire (Maître de stage)
2006	Mémoire de fin d'études : ESITPA	Schwob Sandrine	Constats de gestation et évaluation génétique fertilité des bovins laitiers, 2006. 56 p. en collaboration avec Pascal Le Mézec (Institut de	Ponsart Claire (Maître de stage) l'élevage)
2006	Thèse de doctorat vétérinaire ENVT	Mestdagh Clément	Mestdagh, Clément Comparaison de deux durées de traitement de maîtrise des cycles associant la progestérone et la prostaglandine F2 alpha chez la vache. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, (2008). 129 p.	Ponsart Claire (Responsable de stage) Stage en collaboration avec CEVA
2006	Thèse de doctorat vétérinaire ENVN	Léger Thomas	Identification de profils d'état corporel et de production laitière, selon la parité, chez des vaches de race Prim'Holstein en début de lactation. Relations avec les performances de reproduction. Nantes : ENVN, 2006. 167 p. Nantes : ENVN : Thèse doctorat vétérinaire	Ponsart Claire (Maître de stage)

Année	Diplôme	Nom	Description du stage	Encadrement
2005	Maîtrise ès sciences vétérinaires (ENVA) (Centrafrique)	Kelembho Joseph	Influence du temps de séjour « in vitro » des embryons bovins produits in vivo sur le taux de gestation. Maisons-Alfort : ENVA, 2005. 138 p. Mémoire de maîtrise ès-Sciences Vétérinaires : Maisons-Alfort : ENVA : 2005. Collaboration avec URCEO	Claire Ponsart (Maître de stage) Soutenu le 27.10.2005.
2005	Mémoire de fin d'études : Ingénieur agronome, Toulouse : Purpan	Blosse Amandine	Fertilité des vaches laitières aux inséminations de rangs 1 et 2. Toulouse : PURPAN, 2005. – 113 p. Mémoire d'Ingénieur : Toulouse : Purpan : 83 <sup>ème</sup> promotion : 2005.	Claire Ponsart (maître de stage UNCEIA) Stage en collaboration avec ENVN
2005	Mémoire de fin d'études : ESA	Durand Guénaëlle	Variation de la manifestation des chaleurs et impacts sur les performances de reproduction. Lyon : ISARA, 2005. Enquête NEC+Repro, collaboration avec ELIACOOP	Ponsart Claire, Fréret Sandrine Responsable de stage)
2005	Mémoire de fin d'études : ISARA	Levert Julien	Influences des profils de notes d'état corporel et de la production laitière sur la reprise de cyclicité après vêlage et la fertilité en élevage laitier. Lyon : ISARA, 2005. 76 p. + annexes. Enquête NEC+Repro, collaboration avec ELIACOOP	Directrices de mémoire : Ponsart Claire, Fréret Sandrine.
2005	Thèse doctorat vétérinaire : ENVL	Congnard Virginie	Reprise de la cyclicité et profils de progestérone en postpartum chez la vache laitière, relations avec la note d'état corporel et la fertilité. Maisons-Alfort : ENVL, 2005. – 160 p. (Collaboration avec ELIACOOP, dans le cadre de l'enquête NEC+REPRO)	Ponsart Claire (Maître de stage)
2004	Mémoire de fin d'études ISAB (Institut Supérieur d'Agriculture de Beauvais)	Tancerel Marc	Les pratiques de reproduction en élevage bovin laitier : état des lieux et perspectives d'amélioration. Beauvais : ISAB, 2004. – 149 p. Mémoire de fin d'études (143 <sup>ème</sup> promotion)	Ponsart Claire (Maître de stage)
2004	Mémoire de fin d'études : ENESAD (Etablissement National d'Enseignement Agronomique de Dijon)	Aymar Frédéric	Etude des facteurs de variation des résultats d'OPU-FIV. Maisons-Alfort: UNCEIA, 2004. 31 p. + annexes. <i>Mémoire de fin d'études: Ingénieur des techniques Agricoles: Option «animal espace produit»: E.N.E.S.A.D.(Etablissement National d'Enseignement Agronomique de Dijon): Dijon: 2004.</i>	Guienne Brigitte (Maître de stage) + co-encadrement Claire PONSART (analyses)

Année	Diplôme	Nom	Description du stage	Encadrement
2004	Thèse doctorat : ENVN	Degien Charlotte	Relations entre facteurs de risque d'infécondité et profils d'élevage réalisés selon les performances de reproduction des troupeaux bovins laitiers. Nantes : ENVN, 2004. 115 p. <i>Stage co-encadré avec l'UMR Gestion de la Santé Animale, INRA-ENVN</i>	Ponsart Claire (proposition de l'étude) Seegers Henri (Jury).
2004	Thèse doctorat vétérinaire: ENVN	Hauguet Emmanuel	HAUGUET Emmanuel.- Evaluation des actions de conseil en matière de reproduction menées dans les élevages bovins laitiers par les coopératives d'insémination animale. - Nantes: ENVN, 2004. 104 p. <i>Stage du 6/01au 6/07/2003. Stage co-encadré avec l'UMR Gestion de la Santé Animale, INRA-ENVN</i>	Ponsart Claire (Maître de stage)
2003	Mémoire de fin d'études : Diplôme d'ingénieur de fin d'études.	Chartier Antony	Bilan des performances de reproduction de troupeaux bovins laitiers. Val-de-Rueil : ESITPA, 2003. 54 p. Mémoire de fin d'études : Diplôme d'ingénieur de fin d'études.	Maître de stage : Michel Hennequin / Professeur de stage : Ponsart Claire
2003	Mémoire de fin d'études : ESAA (Ecole Supérieure d'Agriculture d'Angers).	Bourgouin Gildas	La période séparant la collecte et les transferts ou la congélation influence t-elle la survie des embryons bovins collectés in vivo ? Angers ; Maisons-Alfort ; Rennes : ESAA ; UNCEIA ; URCEO-EMBRYO TOP, 2003. 81 p. Mémoire de fin d'études. Monteil Valérie (Directrice de stage)	Co-encadrement, Claire PONSART (UNCEIA), André ROHOU (Embryo TOP)
2003	Thèse doctorat : ENVA	Laizeau Jean- Sébastien	Facteurs de variation de la production d'embryons chez la vache laitière de race montbéliarde. Maisons-Alfort : ENVA, 2003. 178 p.	Co-encadrement Bénédicte Grimard (ENVA), Claire Ponsart
2001	Mémoire de fin d'études : ESAA (Ecole Supérieure d'Agriculture d'Angers).	Govignon Armelle	Les facteurs de variation de la réponse à la superovulation. - effet d'une injection de PMSG préliminaire au traitement de superovulation sur la production d'embryons de génisses et de vaches Prim'Holstein ; étude des facteurs liés à l'élevage à travers une enquête sur la zone URCEO. - Angers : Groupe ESA ; Rennes: URCEO-EMBRYO TOP, 2001. - 75 p. <i>Mémoire de Fin d'Etudes: ESA: Angers: 2001.</i>	Co-encadrement : Claire Ponsart (Partie scientifique) et Rohou André (Maître apprentissage)

Année	Diplôme	Nom	Description du stage	Encadrement
1999	Mémoire de fin d'études DESS (CIRAD-EMVT)	Boubekeur Nada	Effet de l'injection de LH en fin de traitement de superovulation sur la production d'embryons bovins et les profils hormonaux. Maisons-Alfort: UNCEIA, 1999. Montpellier : CIRAD-EMVT, 1999. 56 p. <i>Mémoire de stage : DESS : Productions animales en régions chaudes: 1999.</i>	Co-encadrement : Claire Ponsart, Patrice Humblot
1999	Mémoire de fin d'études : ESITPA Val de Reuil	Gonon Fabienne	Comparaison de la production d'ovocytes d'embryons FIV chez des donneuses superovulées ou traitées avec une injection de GnRH. (Stage réalisé à la station de Chateauvillain)	Claire Ponsart et Catherine Joly (maître de stage)
1997	Thèse doctorat vétérinaire ENVA	Fauxpoint Hélène	Contribution à l'étude du traitement de l'anoestrus chez le vache laitière par l'association GnRH-PGF2alpha. – Maisons-Alfort : ENVA, 1997. – 84 p.	Co-encadrement (analyses statistiques) : Claire Ponsart

## 4.2 Co-encadrement de doctorant(e)s et participation aux comités de thèse d'université

Année de soutenance	Doctorant(e)	Rôle	Ecole doctorale et laboratoire d'accueil	Sujet de la thèse (Directeur de thèse)
2007	Freret Sandrine (thèse CIFRE UNCEIA)	Co-encadrement, valorisation pour l'industrie	ABIES Laboratoire INRA/ENVA : BDR	Variation des apports alimentaires, statut métabolique et production d'embryons chez la vache laitière superovulée (B. Grimard)
2009	Le Danvic Chrystelle (thèse CIFRE UNCEIA)	Co-encadrement, valorisation pour l'industrie	Université de Lille INRA - Glycobiologie	Identification de phéromones chez les bovins (P. Nagnan-Le Meillour)
2011	Dorothee Ledoux	Co-encadrement, valorisation pour l'industrie	ABIES Laboratoire INRA/ENVA : BDR	Echecs précoces de gestation chez la vache laitière de race Holstein : incidences, implication dans la baisse de fertilité et facteurs de risque (B. Grimard)
2009-2012 (non soutenue)	Leslie ANGULO	Co-encadrement, valorisation pour l'industrie	Université de Tours Laboratoire INRA PRC	Rôle du gène <i>BCAR4</i> pendant le développement embryonnaire : approches fonctionnelles <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i> dans des espèces d'intérêt agronomique (R. Dalbès-Tran)
2013	Amanda Cordova (thèse CIFRE UNCEIA)	Co-directeur	Université de Tours Laboratoire INRA PRC	Mise en évidence d'un dialogue moléculaire et fonctionnel entre l'embryon préimplantatoire bovin et l'oviducte grâce à un modèle <i>in vitro</i> (P. Mermillod)
2013	Eve Touzard (thèse CIFRE UNCEIA)	Co-encadrement, valorisation pour l'industrie	Université de Versailles Laboratoire INRA/ENVA : BDR	Caractérisation des Pregnancy-Associated Glycoproteins (PAG) dans le trophoblaste bovin au cours de la gestation (G. Charpigny et C. Cotinot)
2014	Giselle Gamarra (thèse financée par Apis-Gene)	Co-directeur	ABIES Laboratoire INRA/ENVA : BDR	Modification des concentrations d'insuline et production d'embryons <i>in vitro</i> chez la vache (A. Ponter)
2015	Eve Laloy	Participation au Comité de thèse	Ecole Doctorale Innovation thérapeutique Laboratoire ANSES – ENVA de Virologie	Physiologie de l'infection par le virus de Schmallenberg chez les ruminants (S.Zientara)
En cours	Vincent MAUFFRE	Participation au Comité de thèse	ABIES Laboratoire INRA/ENVA : BDR	Diagnostic de gestation par des marqueurs précoces chez les ruminants (F. Constant)
En cours	Marion Holzapfel (Thèse CIFRE Défense, IDVET)	Co-directeur	ABIES Laboratoire ANSES – Unité Zoonoses Bactériennes	Développement d'un outil moléculaire de diagnostic rapide et discriminant de <i>Brucella</i> à partir de prélèvements de lait : apports pour la détection de <i>Brucella</i> circulant dans les zones endémiques chez les ruminants (V. Mick)



## Annexe 5 : Missions d'enseignement, de recherche et de développement à l'étranger.

**ANFEIA – OEP :** Formation continue rémunérée, TUNISIE, « Utilisation du manuel REPROGUIDE », 28/10 au 31/10/2008, 20 ingénieurs zootechniciens



### PROGRAMME DE LA FORMATION

#### UTILISATION DU MANUEL REPRO GUIDE (OPTIMISATION DE L'INSEMINATION POUR L'ESPECE BOVINE)

Formation organisée du mardi 28 octobre au vendredi 31 octobre 2008 pour des techniciens vulgarisateurs de l'Office de l'Élevage et des Pâturages de Tunisie

Formateur : Docteur Vétérinaire Claire PONSART - Responsable du Service Famille Femelle - Département Recherche et Développement de l'UNCEIA

#### Mardi 28 octobre matin

Tour de table - Présentation des stagiaires et du formateur  
Rappel des objectifs de la formation - Les attentes des stagiaires  
Genèse de la création du Repro Guide et du Repro Dia dans le cadre du Service R et D de l'UNCEIA - Objectifs de l'action, conception du guide, développement et utilisation des outils sur le terrain

#### Mardi 28 octobre après midi

Présentation des fiches (partie 1) - Rappels techniques à partir des fiches et des diapositives

#### Mercredi 29 octobre matin

Présentation des fiches (partie 2) - Rappels techniques à partir des fiches et des diapositives

#### Mercredi 29 octobre après midi

Présentation des fiches (partie 3) - Rappels techniques à partir des fiches et des diapositives

#### Jeudi 30 octobre matin

Présentation des fiches (partie 4) - Rappels techniques à partir des fiches et des diapositives en insistant particulièrement sur les aspects « Sécheresse canicule et fertilité »

#### Jeudi 30 octobre après midi

Comment animer des réunions de vulgarisation pour éleveurs et techniciens à partir du Repro guide et du Repro dia  
La conduite d'un atelier « Autour de matrices de vache ».

Prévoir pour cette journée quelques matrices de vaches récupérées à l'abattoir (possibilité d'utiliser des matrices préalablement congelées)

#### Vendredi 31 octobre matin

Comment animer des réunions de vulgarisation pour éleveurs et techniciens à partir du Repro guide et du Repro dia  
La conduite d'un atelier on élevage « Notation de l'état corporel des vaches, Observation des la ration distribuée - aspects fibrosité - Bousologie... »  
Prévoir pour cette demi-journée un élevage support

#### Vendredi 31 octobre après midi

Comment animer des réunions de vulgarisation pour éleveurs et techniciens à partir du Repro guide et du Repro dia - Exemples de réunions participatives élaborées pour les CIA Français « Réussir ensemble IA ». Adaptation aux conditions d'utilisation en Tunisie.

Bilan de la formation



## Annexe 6 : Publications scientifiques et valorisation

### 6.1 Articles originaux dans des revues à comité de lecture (A)

#### 1996

A-1 **Ponsart C.**, Sanaa M., Humblot P., Grimard B., Jeanguyot N., Ponter A.A., Viel J.F. et Mialot J.P, 1996. Variation factors of pregnancy rates after oestrus synchronisation treatment in french Charolais beef cows. *Vet. Res.*, 27 : 227-239 .

#### 1998

A-2 Khireddine B, Grimard B, Ponter AA, **Ponsart C**, Boudjenah H, Mialot JP, Sauvant D, Humblot P, 1998. Influence of flushing on LH secretion, follicular growth and the response to estrus synchronization treatment in suckled beef cows. *Theriogenology*;49(7):1409-1423.

A-3 Kolf-Clauw M., Chevy F., **Ponsart C**, 1998. Abnormal cholesterol biosynthesis as in Smith-Lemli-Opitz syndrome disrupts normal skeletal development in the rat. *J. Lab. Clin. Med.*, 131 (3) : 222-227.

A-4 Mialot JP, **Ponsart C**, Gipoulou Ch, Bihoreau JL, Roux ME, Deletang F, 1998. The fertility of autumn calving suckler beef cows is increased by the addition of prostaglandin to progesterone and ecg estrus synchronisation treatment. *Theriogenology*, 49 (7) : 1353-1363.

#### 1999

A-5 Mialot JP, Laumonier G, **Ponsart C**, Fauxpoint H, Barassin E, Ponter AA, Deletang F, 1999. Postpartum subestrus in dairy cows: comparison of treatment with prostaglandin F2 alpha or GnRH + prostaglandin F2 alpha + GnRH. *Theriogenology* ;52(5):901-11.

A-6 **Ponsart C**, Ponter AA, Khireddine B, Humblot P, Sauvant D, Mialot JP, Grimard B, 1999. A period of energy supplementation, but not the type of supplement, influences the insulin response to exogenous glucose in food-restricted postpartum suckler beef cows. *Anim Sci* ;68:749-61.

#### 2000

A-7 **Ponsart C**, Khireddine B, Ponter AA, Humblot P, Mialot JP, Grimard B, 2000. Influence of the type of energy supply on LH secretion, follicular growth and response to estrus synchronization treatment in feed-restricted suckler beef cows. *Theriogenology* ;54(9):1373-87.

#### 2002

A-8 Lafri, M., **Ponsart C.**, Nibart M., Morel A., Jeanguyot N., Badinand F., De Mari K., Humblot P, 2002. Influence of CIDR treatment during superovulation on embryo production and hormonal patterns in cattle. *Theriogenology*, 58 (6) : 1141-1151.

#### 2003

A-9 Haddada B., Ponter A.A., Mezzane H., Mialot J.P., **Ponsart C.**, Grimard B, 2003. Santa Gertrudis cows under Moroccan range conditions : evolution in metabolic characteristics. *Revue Méd. Vét.*, 154 (10) : 611-618.

#### 2006

A-10 Freret S, Grimard B, Ponter AA, Joly C, **Ponsart C**, Humblot P, 2006. Reduction of body-weight gain enhances in vitro embryo production in overfed superovulated dairy heifers. *Reproduction*, 131 (4): p. 783-794.

A-11 Grimard B, Freret S, Chevallier A, Pinto A, **Ponsart C**, Humblot P. Genetic and environmental factors influencing first service conception rate and late embryonic/foetal mortality in low fertility dairy herds. *Anim Reprod Sci* 2006;91(1-2):31-44.

#### 2012

A-12 Bruyère P, Hétreau T, **Ponsart C**, Gatien J, Buff S, Disenhaus C, Giroud O, Guérin P, 2012. Can video cameras replace visual estrus detection in dairy cows? *Theriogenology*, 77(3):525-30.

A-13 Capitan A, Allais-Bonnet A, Pinton A, Marquant-Le Guienne B, Le Bourhis D, Grohs C, Bouet S, Clément L, Salas-Cortes L, Venot E, Chaffaux S, Weiss B, Delpuch A, Noé G, Rossignol MN, Barbey S, Dozias D, Cobo E, Barasc H, Auguste A, Pannetier M, Deloche MC, Lhuillier E, Bouchez O, Esquerré D, Salin G, Klopp C, Donnadiou C, Chantry-Darmon C, Hayes H, Gallard Y, **Ponsart C**, Boichard D, Pailhoux E, 2012. A 3.7 Mb deletion encompassing ZEB2 causes a novel polled and multisystemic syndrome in the progeny of a somatic mosaic bull. *PLoS One* ;7(11):e49084.

A-14 Rico C, Drouilhet L, Salvetti P, Dalbiès-Tran R, Jarrier P, Touzé JL, Pillet E, **Ponsart C**, Fabre S, Monniaux D, 2012. Determination of anti-Müllerian hormone concentrations in blood as a tool to select Holstein donor cows for embryo production: from the laboratory to the farm. *Reprod Fertil Dev* ;24(7):932-44.

## 2013

- A-15 Allais-Bonnet A, Grohs C, Medugorac I, Krebs S, Djari A, Graf A, Fritz S, Seichter D, Baur A, Russ I, Bouet S, Rothhammer S, Wahlberg P, Esquerré D, Hoze C, Boussaha M, Weiss B, Thépot D, Fouilloux MN, Rossignol MN, van Marle-Köster E, Hreiðarsdóttir GE, Barbey S, Dozias D, Cobo E, Reversé P, Catros O, Marchand JL, Soulas P, Roy P, Marquant-Leguienne B, Le Bourhis D, Clément L, Salas-Cortes L, Venot E, Pannetier M, Phocas F, Klopp C, Rocha D, Fouchet M, Journaux L, Bernard-Capel C, **Ponsart C**, Eggen A, Blum H, Gallard Y, Boichard D, Pailhoux E, Capitan A., 2013. Novel insights into the bovine polled phenotype and horn ontogenesis in Bovidae. *PLoS One*;8(5):e63512. doi: 10.1371/journal.pone.0063512.
- A-16 Angulo L, Perreau C, Lakhdari N, Uzbekov R, Papillier P, Freret S, Cadoret V, Guyader-Joly C, Royere D, **Ponsart C**, Uzbekova S, Dalbies-Tran R, 2013. Breast-cancer anti-estrogen resistance 4 (BCAR4) encodes a novel maternal-effect protein in bovine and is expressed in the oocyte of humans and other non-rodent mammals. *Hum Reprod* ;28(2):430-41.
- A-17 Salhab M, Dhorne-Pollet S, Auclair S, Guyader-Joly C, Brisard D, Dalbies-Tran R, Dupont J, **Ponsart C**, Mermillod P, Uzbekova S. 2013. In vitro maturation of oocytes alters gene expression and signaling pathways in bovine cumulus cells. *Mol Reprod Dev* ;80(2):166-82.
- A-18 Touzard E, Reinaud P, Dubois O, Guyader-Joly C, Humblot P, **Ponsart C**, Charpigny G, 2013. Specific expression patterns and cell distribution of ancient and modern PAG in bovine placenta during pregnancy. *Reproduction*, 146(4):347-62. doi: 10.1530/REP-13-0143.
- A-19 Wernike K, Hoffmann B, Bréard E, Bøtner A, **Ponsart C**, Zientara S, Lohse L, Pozzi N, Viarouge C, Sarradin P, Leroux-Barc C, Riou M, Laloy E, Breithaupt A, Beer M, 2013. Schmallenberg virus experimental infection of sheep. *Vet Microbiol*. 25;166(3-4):461-6. doi: 10.1016/j.vetmic.2013.06.030.

## 2014

- A-20 Cordova A, Perreau C, Uzbekova S, **Ponsart C**, Locatelli Y, Mermillod P, 2014. Development rate and gene expression of IVP bovine embryos cocultured with bovine oviduct epithelial cells at early or late stage of preimplantation development. *Theriogenology*, 81 (9) : 1163-1173.
- A-21 Gamarra G, **Ponsart C**, Lacaze S, Le Guienne B, Deloche MC, Monniaux D, Ponter A.A, 2014. Short term dietary propylene glycol supplementation affects circulating metabolic hormones, progesterone concentrations and follicular growth in dairy heifers. *Livestock Science*, 162 : 240-251.
- A-22 Muñoz M, Uyar A, Correia E, **Ponsart C**, Guyader-Joly C, Martínez-Bello D, Marquant-Le Guienne B, Fernandez-Gonzalez A, Díez C, Caamaño JN, Trigal B, Humblot P, Carrocera S, Martin D, Seli E, Gomez E, 2014. "Metabolomic Prediction of Pregnancy Viability in Superovulated Cattle Embryos and Recipients with Fourier Transform Infrared Spectroscopy," *BioMed Research International*, vol 2014, article ID 608579, 8 pages. doi:10.1155/2014/608579.
- A-23 Munoz M, Uyar A, Correia E, Díez C, Fernandez-Gonzalez A, Caamano JN, Martinez-Bello D, Trigal B, Humblot P, **Ponsart C**, Guyader-Joly C, Carrocera S, Martin D, Marquant Le Guienne B, Seli E, Gomez E. Prediction of pregnancy viability in bovine in vitro-produced embryos and recipient plasma with Fourier transform infrared spectroscopy. *J Dairy Sci*. 2014;97:5497-507
- A-24 **Ponsart C**, Pozzi N., Bréard E., Catinot V., Viard G., Sailleau C., Viarouge C., Gouzil J., Beer M., Zientara S., Vitour D., 2014. Evidence of excretion of Schmallenberg virus in bull semen. *Vet Res*. 2014 Apr 4;45(1):37. doi: 10.1186/1297-9716-45-37.
- A-25 Valour D, Degrelle SA, Ponter AA, Giraud-Delville C, Champion E, Guyader-Joly C, Richard C, Constant F, Humblot P, **Ponsart C**, Hue I, Grimard B. Energy and lipid metabolism gene expression of D18 embryos in dairy cows is related to dam physiological status. *Physiol Genomics*. 2014;46:39-56

## 2015

- A-26 Angulo L, Guyader-Joly C, Auclair S, Hennequet-Antier C, Papillier P, Boussaha M, Fritz S, Hugot K, Moreews F, **Ponsart C**, Humblot P, Dalbies-Tran R. An integrated approach to bovine oocyte quality: from phenotype to genes. *Reprod Fertil Dev*. 2015 Feb 18. doi: 10.1071/RD14353. [Epub ahead of print] PMID: 25689671.
- A-27 Gamarra G, **Ponsart C**, Lacaze S, Le Guienne B, Humblot P, Deloche M, Monniaux D, Ponter AA. Dietary propylene glycol and in vitro embryo production after ovum pick-up in heifers with different anti-Müllerian hormone profiles. *Reproduction Fertility and Development*, 2015, 27 (8) : 1249-1261. DOI10.1071/RD14091.
- A-28 Laloy E, Riou M, Barc C, Belbis G, Bréard E, Breton S, Cordonnier N, Crochet D, Delaunay R, Moreau J, Pozzi N, Raimbourg M, Sarradin P, Trapp S, Viarouge C, Zientara S, **Ponsart C**. Schmallenberg virus: experimental infection in goats and bucks. *BMC Vet Res*. 2015 Aug 22;11:221. doi: 10.1186/s12917-015-0516-4. PMID: 26297244.

- A-29 Schulz C, van der Poel WH, **Ponsart C**, Cay AB, Steinbach F, Zientara S, Beer M, Hoffmann B. European interlaboratory comparison of Schmallenberg virus (SBV) real-time RT-PCR detection in experimental and field samples: The method of extraction is critical for SBV RNA detection in semen. *J Vet Diagn Invest*. 2015 Jul;27(4):422-30. doi: 10.1177/1040638715593798. Epub 2015 Jul 16. PMID: 26185122.
- A-30 Le Danvic C, Gérard O, Sellem E, **Ponsart C**, Chemineau P, Humblot P, Nagnan-Le Meillour P. Enhancing bull sexual behavior using estrus-specific molecules identified in cow urine. *Theriogenology*. 2015 Jun;83(9):1381-8. doi: 10.1016/j.theriogenology.2015.02.004. Epub 2015 Feb 10. Review. PMID: 25817331.
- A-31 Ledoux D, **Ponsart C**, Grimard B, Gatien J, Deloche MC, Fritz S, Lefebvre R, Humblot P. Sire effect on early and late embryonic death in French Holstein cattle. *Animal*. 2015 May;9(5):766-74. doi: 10.1017/S1751731114003140. Epub 2014 Dec 29. PMID: 25544038.



## 6.2 Articles de synthèse dans des revues à comité de lecture (S)

### 2001

S-1 Le Tallec B, **Ponsart C**, Marquant-Le Guienne B, Guérin B, 2001. Risks of transmissible diseases in relation to embryo transfer. *Reprod Nutr Dev*, 41 (5):439-450.

### 2004

S-2 **Ponsart C**, Marquant-Le Guienne B, Humblot P, 2004. Les biotechnologies de l'embryon bovin, évolution et perspectives. In : 11èmes Rencontre Recherche Ruminants (3R). 8-9 décembre 2004, Paris (France). p. 361-368.

S-3 Tissier M, **Ponsart C**, Regaldo D, Mervant G, Humblot P, 2004. Respective impacts of ET and OPU/IVP on genetic selection efficiency in the Montbeliarde breed. In: 20ème Colloque A.E.T.E., Lyon, France, 10-11 septembre 2004. p. 1-8.

### 2007

S-4 **Ponsart C**, Frappat B, Le Mezec P, Freret S, Seegers H, Paccard P, Humblot P. Une palette d'outils pour améliorer la reproduction des vaches laitières. In: 14èmes Journées 3R (Renc. Rech. Ruminants), Paris, 5-6 décembre 2007. p. 351-358.

### 2008

S-5 Gérard O, **Ponsart C**, Petit M, Humblot P, 2008. Evolution des techniques de préparation de la semence et d'insémination artificielle chez les bovins. In: 15èmes Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants (3R), Paris, 3-4 décembre 2008. p. 351-354.

S-6 Humblot P, Grimard B, Freret S, Charpigny G, Ponter AA, Seegers H, **Ponsart C**, 2008. Impact of energy balance on metabolic changes and reproductive tissues ; consequences for ovarian activity and fertility in dairy and beef cattle. In : Recent Advances in Animal Nutrition. Eds P.C. Garnsworthy and J. Wiseman). Nottingham University Press, Nottingham, 2008. p. 1-14. ISBN 978-1-904761-044.

### 2010

S-7 Barbat A, Le Mézec P, Ducrocq V, Mattalia S, Fritz S, Boichard D, **Ponsart C**, Humblot P, 2010. Female fertility in French dairy breeds: current situation and strategies for improvement. *J Reprod Dev*, 56 Suppl:S15-21.

S-8 Disenhaus C, Cutullic E, Fréret S, Paccard P, **Ponsart C**. Vers une cohérence des pratiques de détection des chaleurs: intégrer la vache, l'éleveur et le système d'élevage. In: 17<sup>èmes</sup> Rencontres autour des recherches sur les Ruminants (3R), 8-9 décembre 2010, Paris (France). p. 113-120.

S-9 Humblot P, Le Bourhis D, Fritz S, Colleau JJ, Gonzalez C, Guyader JC, Malafosse A, Heyman Y, Amigues Y, Tissier M, **Ponsart C**, 2010. Reproductive technologies and genomic selection in the bovine. In : 26ème Colloque de l'A.E.T.E., 10-11 septembre 2010, Kuopio (Finlande), p. 105-117.

S-10 Humblot P, Le Bourhis D, Fritz S, Colleau JJ, Gonzalez C, Guyader JC, Malafosse A, Heyman Y, Amigues Y, Tissier M, **Ponsart C**, 2010. Reproductive technologies and genomic selection in the bovine. *Vet Med Int.*, volume 2010, Article ID 192787, 8 pages, <http://dx.doi.org/10.4061/2010/192787>

### 2011

S-11 **Ponsart C**, Dalbies-Tran R, Hue I, Druart X, Duranthon V, Dupont J, Boussaha M, Jammes H, Uzbekova S, Nuttinck F, Charpigny G, Joly C, Le Guienne B, Fritz S, Salvetti P, Capitan A, Grimard B, Humblot P, Sandra O, Mermillod P, 2011. Apport de la génomique pour l'étude de la fertilité femelle bovine. In: 18èmes journées 3R (Rencontres Recherches Ruminants), 7-8 décembre 2011, Paris. p. 335-338.

### 2012

S-12 Hocquette JF, Capel C, David V, Guémené D, Bidanel J, **Ponsart C**, Gastinel PL, Bail PY, Monget P, Mormède P, Barbezant M, Guillou F, Peyraud JL, 2012. Objectives and applications of phenotyping network set-up for livestock. *Anim Sci J*, 83(7):517-28.

S-13 **Ponsart C**, Le Bourhis D, Knijn H, Fritz S, Joly C, Otter T, Lacaze S, Charreaux F, Dupassieux D, Mullaart E. Embryo genotyping : From DNA amplification to field implementation. In : 28th Scientific Meeting of the European Embryo Transfer Association (AETE) ; 28ème Colloque scientifique de l'AETE, 6-8 septembre 2012. Saint-Malo (France), p 88-95.

### 2013

S-14 Zientara S, **Ponsart C.**, 2013. About the Paper 'First Report of Schmallenberg Virus Infection in Cattle in Poland' by Larska et al. *Transbound Emerg Dis*. 2013 Mar 21. doi: 10.1111/tbed.12076.

## 2014

- S-15 **Ponsart C**, Le Bourhis D, Knijn H, Fritz S, Guyader-Joly C, Otter T, Lacaze S, Charreaux F, Schibler L, Dupassieux D, Mullaart E, 2014. Reproductive technologies and genomic selection in dairy cattle. *Reproduction Fertility and Development*, 26(1):12-21. doi: 10.1071/RD13328.
- S-16 **Ponsart C**, Le Bourhis D, Benoit M, Barbier S. Du diagnostic préimplantatoire au suivi de troupeau: Que peut apporter la génomique aux éleveurs? *Bull Acad Vet Fr*. 2014;167:119-30
- S-17 **Ponsart C**, Gamarra G, Lacaze S, Mermillod P, Le Bourhis D, Grimard B, 2014. 1974-2014 : quelle place pour l'embryon à l'ère de la génomique chez les ruminants ? In 21èmes journées 3R, 3-4 décembre 2014, Paris, p.223-
- S-18 Zientara S, **Ponsart C**, 2014. Viral emergence and consequences for reproductive performance in ruminants: two recent examples (bluetongue and Schmallenberg viruses). *Reprod Fertil Dev*. 2014 Dec;27(1):63-71.

## 2015

- S-19 Valour D, Michot P, Eozenou C, Lefebvre R, Bonnet A, Capitan A, Uzbekova S, Sellem E, **Ponsart C**, Schibler L. Dairy cattle reproduction is a tightly regulated genetic process: Highlights on genes, pathways, and biological processes. *Animal Frontiers*. 2015, 5:32-41. doi:10.2527/af.2015-0006.

## 6.3 Ouvrages (ou chapitres d'ouvrages, C)

- C-1 Paris A, Andre F, Antignac JP, Le Bizec B, Bonneau M, Briant C, Caraty A, Chillard Y, Cognié Y, Combarous Y, Cravedi JP, Fabre-Nys C, Fernandez-Suarez A, Fostier A, Humblot P, Laudet V, Leboeuf B, Louveau I, Malpaux B, Martinat-Botte F, Maurel MC, Pelicer-Rubio MT, Picard-Hagen N, Pinault L, Pinel G, **Ponsart C**, Popot MA, Schmidely P, Toutain PL, Zalko D, 2006. Hormones et promoteurs de croissance en productions animales: de la physiologie à l'évaluation du risque. Numéro spécial. *Productions Animales*;19(3):149-240.
- C-2 Le Mezec P, Barbat-Leterrier A, Gion A, Barbier S, **Ponsart C**, 2010. Fertilité des principales races laitières - Bilan 1999-2008. Des perturbations mais des espoirs côté génétique. Paris: Institut de l'Élevage, Département Génétique - Service Aptitudes et sélection des races laitières, Avril 2010. Compte rendu n ° 001072030. 33 pages (rapport).
- C-3 Marquant-Le Guienne B, Guyader-Joly C, **Ponsart C**, Guérin B. Chapter 5. General sanitary procedures associated with in vitro production of embryos. In : *Manual of the International Embryo Transfer Society (IETS)*, 4ème ed., David A. Stringfellow and M. Daniel Givens, ed. Champaign (Ill., USA) : I.E.T.S., 2010. p. 57-64. In: Stringfellow DA, Givens MD, editors. *Manual of the International Embryo Transfer Society (IETS)*. 2010:57-64.
- C-4 **Ponsart C**, 2014. « Génomique : de nouveaux outils pour un élevage durable ». Numéro spécial du Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France, Séance du 28 novembre 2013, "Les Cordeliers", Paris, France. Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France, Tome 167, N°2.
- C-5 **Ponsart C**, Joly C, Le Guienne B, Beaujean N, Le Bourhis D, Gérard O, Mermillod P, Locatelli Y, 2014. Biotechnologies des gamètes et de l'embryon, Chapitre 30. In: *La Reproduction Animale et Humaine*, Editions QUAE, accepté pour publication (prévue en septembre 2014).

## 6.4 Communications avec actes à des manifestations régionales, nationales, internationales (CO)

### 1996

- CO-1 Mialot JP, Gipoulou C, Bihoreau JL, Roux ME, **Ponsart C**, Pobel T, Deletang F, 1996. Synchronisation des chaleurs chez les vaches allaitantes lors de vêlage d'automne avec l'association PRID + Hormo P2a . In : 3ème Renc. Rech. Ruminants (3R), 4-5 déc. 1996, Paris, Poster p. 192., 1996.
- CO-2 **Ponsart C**, Khireddine B, Ponter AA, Grimard B, Humblot P, Sauvant D, Mialot JP. L'utilisation du glucose exogène est influencée par le rang de vêlage et le flushing chez la vache allaitante. In : 3èmes Rencontres Recherches Ruminants (3R), 4-5 décembre 1996, p. 193 (poster).
- CO-3 **Ponsart C**, Khireddine B, Ponter AA, Grimard B, Humblot P, Sauvant D, Mialot JP, 1996. The insulin response to exogenous glucose is decreased by a period of flushing in feed restricted anoestrus postpartum Charolais beef cows. In : *Meeting of the British Society of Animal Science, Aberdeen (Ecosse)*, 4-5 sept. 1996, poster (*Proceedings of the Nutrition Society*, vol 56, p179A).

### 1997

- CO-4 **Ponsart C**, Deletang F, Sanaa M, Gipoulou C, Bihoreau JL, Roux ME, Mialot JP, 1997. Synchronisation treatment and reproduction management influence pregnancy rate and AI to calving interval in french beef cows. In: 8ème International symposium on veterinary epidemiology and economics, poster, *Epidémiol. Santé Anim.*, N° spécial p 31-32.
- CO-5 **Ponsart C**, Khireddine B, Ponter AA, Humblot P, Jeanguyot N, Mialot JP, Grimard B, 1997. Influence of type of flushing on LH secretion, follicular growth and on the response to oestrus synchronisation treatment in postpartum suckled beef cows. In: Society for the study of fertility & Société Française pour l'Etude de la Fertilité, Joint Meeting, Londres (Angleterre), 1997. *J. Reprod. Fert. (abstract series)*, N° 20 : 24 (Abstr. 62).

### 1998

- CO-6 Grimard B, **Ponsart C**, Bonnet A, Humblot P, 1998. Effet du nombre d'inséminations après traitement de synchronisation des chaleurs sur la fertilité. In: «5ème Rencontres Recherche Ruminants», Paris, 2-3 décembre 1998. p. 63 (poster).
- CO-7 Humblot P, Grimard B, **Ponsart C**, Leroy CF, Khireddine B, Jeanguyot N, 1996. Résultats de reproduction après IA sur chaleurs naturelles ou après synchronisation de l'oestrus chez la vache charolaise. Reproductive parameters after AI's performed on natural oestrus or after estrus synchronization treatments in Charolais cows. In : 3èmes Rencontres Recherches Ruminants (3R), 4-5 décembre 1996, p. 195 (abstract).
- CO-8 Kolf-Clauw M, Jez S, **Ponsart C**, Delamanche IS, 1998. Comparison of erythrocytes, plasma and whole blood cholinesterase activity in dogs using a kit analysis. In "Agrochemicals and Animal Poisoning : towards toxicovigilance, IUTOX, Satellite meeting", Lyon, 3-4 juillet 1998 (poster).
- CO-9 Mialot JP, Grobois E, **Ponsart C**, Roux ME, Gipoulou C, Bihoreau JL, Deletang F, 1998. Amélioration de la fertilité à l'oestrus induit chez les vaches allaitantes lors de vêlage d'automne par l'association PRID + PGF2 alpha. In : "5ème Renc. Rech. Rumin.", Paris, 2-3 décembre 1998, p. 85 (poster).
- CO-10 Mialot JP, Laumonnier G, Fauxpoint H, **Ponsart C**, Barassin E, Ponter AA, Deletang F, 1998. Traitement du suboestrus de la vache laitière : comparaison de traitements avec la PGF2alpha ou l'association GnRH + PGF2 alpha + GnRH = Treatment of sub-oestrus in the dairy cow : a comparison pf treatment with PGF2alpha or treatment with GnRH + PGF2alpha + GnRH. In : "5ème Renc. Rech. Rumin.", Paris, 2-3 décembre 1998, p. 67 (poster).
- CO-11 **Ponsart C**, Khireddine B, Humblot P, Ponter AA, Jeanguyot N, Mialot JP, Grimard B, 1998. Effect of energy restriction on follicular development and steroid intrafollicular concentrations in postpartum anoestrous beef cows. In: Society for the Study of Fertility and Deutsche Gesellschaft zum Studien der fertilität und Sterilität, Joint Winter Meeting, Aachen (Allemagne), décembre 1998. *J. Reprod.Fert. (Abstract series)* 22: p. 10 (Abstr. 18).

### 1999

- CO-12 Ede P, Florin B, Khodja S, **Ponsart C**, Humblot P, 1999. Effect of the puncture of the largest follicle on embryo yield after superovulation in dairy cattle. In : 15ème réunion AETE, 10-11 septembre 1999. p. 148 (poster).
- CO-13 Grimard B, Laumonnier G, **Ponsart C**, Fauxpoint H, Barassin E, Ponter AA, Deletang F, Mialot JP, 2001. Postpartum suboestrus in dairy cows : comparison of treatment with prostaglandin F2( or GnRH + Prostaglandin F2( + GnRH In Fertility in the high-producing dairy cows. In : "British Society of Animal Science", Galway (Irlande), 21-22 sept. 1999. *Occ. Publ. Br. Soc. Anim. Sci.*, "Fertility in the high-producing dairy cows", N° 26 (2) : 347-352 .

- CO-14 Grimard B, Ponter AA, **Ponsart C**, Maurice T, Benoit-Vallergue H, Humblot P, Mialot JP, 1999. Performance of beef cows submitted to repeated oestrus synchronisation treatment during a 3 years period. In: 26th World Vet. Congress, Lyon, 23-26 sept. 1999.
- CO-15 Manciaux L, **Ponsart C**, Grisouard D, Humblot P, 1999. Paternal influence on embryo yield following superovulation in the Montbeliard breed. In : "15ème réunion AETE" , Lyon (France), 10-11 septembre 1999 : p. 200 (poster).
- CO-16 **Ponsart C**, Durand M, Morel A, Boubekeur N, Lafri M, Jeanguyot N, Beckers JF, Humblot P, 1999. Effect of LH injections on embryo production following superovulation with pFSH in cattle ; relationship with LH and estradiol secretion. In: Society for the Study of Fertility, British Andrology Society, Joint Meeting, University of Warwick (Grande-Bretagne), décembre 1999. Abstract 52. J Reprod Fert , Abstract Series (24):22-23.
- CO-17 Ponter AA, Grimard B, **Ponsart C**, Khireddine B, Humblot P, Mialot JP, 1999. Plasma leptin was not affected by a level of under-feeding classically used in postpartum Charolais beef cows. VWA 1999.

## 2000

- CO-18 Constant F, Ponter AA, **Ponsart C**, Fontaine JJ, Mialot JP, Grimard B, Chastant S, 2000. Effect of underfeeding on plasmatic and intrafollicular IGF-BPs in postpartum anoestrus beef cows. In: Society for the Study of Fertility and Vereniging voor fertiliteitsstudies, Joint Winter Meeting, University center "De Uithof", Utrecht (Pays-Bas), 15-16 décembre 2000. J. Reprod.Fert. (Abstract series) 26: 15.
- CO-19 Govignon A, Rohou A, **Ponsart C**, Delcroix P, Humblot P, 2000. Sources of variation of embryo production after superovulation in Prim Holstein dairy cows. In : "16ème réunion A.E.T.E, Santander (Espagne), Sept. 2000". – p. 158 (poster).
- CO-20 Haddada B, Ponter AA, Mezzane H, Mialot JP, **Ponsart C**, Humblot P, Grimard B, 2000. Variation factors affecting pregnancy rate in beef cows at pasture in Morocco. In : 14th International Congress on Animal Reproduction", Stockholm (Suède), 2-6 Juillet 2000, p. 294.
- CO-21 Manciaux L, **Ponsart C**, Grisouard D, Humblot P, 2000. Sources of variation in embryo production following superovulation in the Montbeliard breed. In : "Annual Conference of the International Embryo Transfer Society (IETS)", Maastricht (Pays-Bas), 9-11 janvier 2000. Theriogenology, 53 (1) : 502 (poster).
- CO-22 **Ponsart C**, Delcroix P, Rohou A, Jupin L, Humblot P, 2000. Sources of variation of pregnancy rates after transfer of bovine frozen embryos. In : 16ème réunion A.E.T.E, Santander (Espagne), Sept. 2000. p. 192 (poster).
- CO-23 **Ponsart C**, Delcroix P, Rohou A, Jupin L, Humblot P, 2000. Sources of variation of pregnancy rates after transfer of bovine embryos. In : 14th International Congress on Animal Reproduction", Stockholm (Suède) (2-6 Juillet 2000). Vol. 1, p. 122 (poster).

## 2001

- CO-24 Fréret S, Grimard B, Joly C, Ponchon S, Tron N, Ponter AA, **Ponsart C**, Humblot P, 2002. Effet d'une restriction alimentaire sur la production d'embryons par OPU/FIV chez des génisses laitières suralimentées. In 8èmes Rencontres Recherche Ruminants (3R), Paris, 5-6 décembre 2001. p. 370 (poster).
- CO-25 Govignon A, **Ponsart C**, Driancourt M, Florin B, Rohou A, Humblot P, 2001. PMSG priming during the cycle preceding superovulation improves embryo quality in dairy heifers. In : 17ème réunion A.E.T.E, Lyon (France), 7-8 Sept. 2001". p. 126 (abstr.).
- CO-26 Manciaux L, **Ponsart C**, Humblot P, 2001. A diet supplementation with Nuclear Transplan improves embryo quality following superovulation in the Montbeliarde breed. In : 17ème réunion A.E.T.E, Lyon (France), 7-8 Sept. 2001. p. 148 (poster).
- CO-27 Marquant-Le Guienne B, Guyader-Joly C, Ponchon S, Delalleau N, Florin B, Ede P, **Ponsart C**, Guérin B, Humblot P, 2001. Results of in vitro production in a commercial ovum pick-up program. In: "Annual Conference of the IETS", Omaha (Nebraska, USA), 13-16 janvier 2001. Theriogenology, 55 (1) : p. 433 (poster).
- CO-28 **Ponsart C**, Govignon A, Rohou A, Manciaux L, Delcroix P, Grisouard D, Humblot P, 2001. Effects of the paternal origin of the donor cow on embryo production after superovulation in the Prim Holstein and Montbeliarde Breeds. In : Annual Conference of the IETS, Omaha (Nebraska, USA), 13-16 janvier 2001. Theriogenology, 55 (1) : 369 (poster).

## 2002

- CO-29 Bourgoin G, Govignon A, Rohou A, Florin B, Humblot P, **Ponsart C**, 2002. Effects of an eCG-priming treatment and paternal origin of donors on embryo production results in superovulated cattle. In : "Society for Reproduction and Fertility, Société Française pour l'Etude de la Fertilité (SFEF), Joint Winter Meeting",

Université François Rabelais, Tours (France), décembre 2002. *Reproduction (Abstract series)* 29 : 10 (Abstract N° 19).

- CO-30 Fréret S, Grimard B, Joly C, Ponchon S, Tron N, Ponter AA, **Ponsart C**, Humblot P, 2002. Dietary intake restriction improved embryo production in superovulated overfed dairy heifers. In : "The 6th Annual Meeting of the European Society for Domestic Animal Reproduction (ESDAR)", Parme (Italie), Université de Parme, 12-14 sept. 2002. *Reprod Dom Anim*, 37 (4) : p. 232 (Abstract P. 1.40).
- CO-31 Fréret S, Grimard B, Joly C, Ponchon S, Tron N, Ponter AA, **Ponsart C**, Humblot P, 2002. Effect of dietary intake restriction on oocyte and embryo production in superovulated, overfed dairy heifers. In : "Proceedings of the Annual Conference of the IETS", Foz do Iguassu (Panama, Brésil), 12-15 janvier 2002. *Theriogenology*, 57 (1) : 666 (poster).
- CO-32 Fréret S, Grimard B, Joly C, Ponchon S, Tron N, Ponter AA, **Ponsart C**, Humblot P, 2002. Dietary intake restriction improved embryo production in superovulated overfed dairy heifers. In : The 6th Annual Meeting of the European Society for Domestic Animal Reproduction (ESDAR), Parme (Italie), Université de Parme, 12-14 sept. 2002. *Reprod Dom Anim*, 37 (4) : p. 232 (Abstract P. 1.40).
- CO-33 Fréret S, Grimard B, Joly C, Tron N, Ponter AA, **Ponsart C**, Humblot P, 2002. Relations entre métabolisme énergétique et production d'embryons par OPU/FIV chez des génisses laitières. In : 9èmes Rencontres Recherches Ruminants (3R), Paris, 5-6 décembre 2002. p. 158 (poster).
- CO-34 Grimard B, **Ponsart C**, Khireddine B, Constant C, Chastant-Maillard S, Nuttinck F, Ficheux C, Mialot JP, Humblot P, Ponter AA, 2002. Effect of undernutrition on blood metabolites and hormones, follicular growth, LH and oestradiol secretion in postpartum suckled beef cows. In : "The 6th Annual Meeting of the European Society for Domestic Animal Reproduction (ESDAR)", Parme (Italie), Université de Parme, 12-14 sept. 2002. *Reprod Dom Anim*, 37 (4) : p. 235 (Abstract P. 151).
- CO-35 **Ponsart C**, Got I, Habit B, Anger JM, Geneste A, Humblot P, 2002. Sources of variation of equine embryo mortality and pregnancy rates after transfer. In : "18ème réunion AETE, Rolduc (Pays-Bas), 6-7 Sept. 2002". p. 216 (poster).

## 2003

- CO-36 Fréret S, Ficheux C, Jeanguyot N, Joly C, Ponter AA, **Ponsart C**, Grimard B, Humblot P, 2003. Variation du gain de poids vif, statut métabolique et production d'embryons in vitro chez des génisses laitières suralimentées et superovulées. Body weight gain variation, metabolic status in vitro embryo production in overfed superovulated dairy heifers. In: 10èmes rencontres autour des recherches sur les ruminants (3R), Paris, 3-4 décembre 2003. p. 140 (poster).
- CO-37 Fréret S, Grimard B, Joly C, Ponchon S, Durand M, Ponter AA, **Ponsart C**, Humblot P, 2003. Effect of growth rate variation on OPU-FIV embryo production in superovulated overfed dairy heifers. In : "The Annual Conference of the IETS", Auckland (Nouvelle-Zélande), 11-15 janvier 2003. *Theriogenology*, 59 (1) : 445 (poster).
- CO-38 Grimard B, Nuttinck F, Ficheux C, **Ponsart C**, Khireddine B, Mialot JP, Humblot P, Ponter AA, 2003. Effect of undernutrition on plasma IGF-BP 2, 3, 4 and 5 in postpartum suckled beef cows. In : « 7th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction (ESDAR) », Dublin (Irlande), University College Dublin, 4-6 septembre 2003. *Reproduction in Domestic Animal*, 38 (4) : Abstract OC2.4, p. 329 (poster).
- CO-39 Haddada B, Ponter AA, Mezzane H, Mialot JP, **Ponsart C**, Grimard B. Santa Gertrudis cows under Moroccan range conditions : evolution in metabolic characteristics. *Revue Méd Vét* 2003;154(10):611-8.
- CO-40 Manciaux L, Mariani SL, Humblot P, **Ponsart C**, 2003. Influence of milk parameters on embryo production following superovulation in the Montbeliard breed. – In : "19ème réunion AETE, Rostock (Allemagne), 12-13 Sept. 2003". p. 186 (poster).
- CO-41 Michel A, **Ponsart C**, Fréret S, Humblot P, 2003. Influence de la conduite de la reproduction sur les résultats à l'insémination en période de pâturage. Influence of herd management on artificial insemination results during pasture period. In : 10èmes rencontres autour des recherches sur les ruminants (3R), Paris, 3-4 décembre 2003. p. 13 (poster).

## 2004

- CO-42 Bourgoin G, Quinton H, Rohou A, Humblot P, **Ponsart C**, 2004. Influence of factors associated with embryo recovery and policy of transfer on pregnancy rates after transfer of bovine fresh embryos. In: 30th IETS Annual Conference, 10-13 janvier 2004, Portland, Oregon (USA). *Reproduction fertility and Development*, 16, Abstr. 170, p. 207 (poster).

- CO-43 Bourgoïn G, Quinton H, Rohou A, Humblot P, **Ponsart C**, 2004. Variability of the different time components between flushing and transfer of cattle embryos. In: 20th annual meeting A.E.T.E, Lyon, 10-11 septembre 2004. P. 116 (poster).
- CO-44 Chartier A, Hennequin M, Humblot P, Paccard P, **Ponsart C**, 2004. Evolution and repeatability of the reproductive performance assessed in Holstein dairy herds in Southwest of France between 1999 and 2002. In: 23ème Congrès mondial de Buiatrie, Québec (Canada), 11-16 juillet 2004. In: Le médecin vétérinaire du Québec, 34 (1-2), p. 139, N° 119 (poster).
- CO-45 Fréret S, Ficheux C, Jeanguyot N, Joly C, Ponter AA, **Ponsart C**, Grimard B, Humblot P, 2004. Body weight gain variation, hormonal and metabolic status and in vitro embryo production in superovulated dairy heifers. In :30th IETS Annual Conference, 10-13 janvier 2004, Portland, Oregon (USA). – Reproduction fertility and Development, 16 (2004). Abstr. 267, p. 254 (poster).
- CO-46 Fréret S, Guyader-Joly C, Ponter AA, Ponsart C, Grimard B, Humblot P, 2004. Effect of short-term variation of dietary intake on live weight gain, hormonal and metabolic status and in vitro embryo production in superovulated dairy heifers. In: 23ème Congrès mondial de Buiatrie, Québec (Canada), 11-16 juillet 2004. In: Le médecin vétérinaire du Québec, 34 (1-2), p. 176, N° 376 (poster).
- CO-47 **Ponsart C**, Michel A, Fréret S, Jeanguyot N, Humblot P, 2004. Influence of herd management on artificial insemination results during pasture period. In: 23ème Congrès mondial de Buiatrie. Recueil de conférences. Québec (Canada), 11-16 juillet 2004. In: Le médecin vétérinaire du Québec, 34 (1-2) (2004). p. 148, N° 144 (poster).

## 2005

- CO-48 Fréret S, Charbonnier G, Congnard V, Jeanguyot N, Dubois P, Levert J, Humblot P, **Ponsart C**, 2005. Expression et détection des chaleurs, reprise de la cyclicité et perte d'état corporel après vêlage en élevage laitier In: 12èmes rencontres autour des recherches sur les ruminants (3R), Paris, 7-8 décembre 2005. p. 149-152 (oral communication).
- CO-49 Grimard B, Fréret S, Seegers H, **Ponsart C**, Chevallier A, Humblot P, 2005. Sensitivity and specificity of visual oestrus detection 3 weeks after first AI in low fertility dairy herds in France. In: The 9th Annual conference of the european society for domestic animal reproduction (ESDAR). 1-3 septembre 2005, Murcie (Espagne). Abstract P60. *Reprod Dom Anim* 40(4), 358 (poster).
- CO-50 **Ponsart C**, Degien C, Seegers H, Bareille N, Philipot JM, Humblot P, 2005. Relations entre facteurs de risque d'infécondité et profils d'élevage réalisés selon les performances de reproduction des troupeaux bovins laitiers. In: 12ème rencontres autour des recherches sur les ruminants (3R), Paris, 7-8 décembre 2005. p. 172 (poster).
- CO-51 **Ponsart C**, Quinton H, Rohou A, Kelhembo J, Bourgoïn G, Humblot P, 2005. Influence of the different time components between flushing and transfer on pregnancy rates of fresh cattle embryos. In: 21st Annual meeting A.E.T.E (9-10 septembre 2005), Lyon (France). P. 180 (poster).
- CO-52 Seegers H, Beaudeau F, Blossé A, **Ponsart C**, Humblot P, 2005. Performances de reproduction aux inséminations de rangs 1 et 2 dans les troupeaux Prim'Holstein. In: 12è rencontres autour des recherches sur les ruminants (3R), Paris, 7-8 décembre 2005. p. 141-144 (oral communication).
- CO-53 Seegers H, Beaudeau F, **Ponsart C**, Fréret S, Humblot P, 2005. Are factors influencing the outcome of a 2nd-service insemination different from those affecting the 1st one in dairy cows? In: 9th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal (ESDAR), Faculté de médecine vétérinaire, Murcie, Espagne. 1-3 septembre 2005. *Reprod. Dom. Anim.*, 40 (4)p. 370 (abstr. P114).
- CO-54 Seegers H, Beaudeau F, Ponsart C, Fréret S, Humblot P, 2005. Herd profiles for conception rates at 1st versus 2nd service in french holstein cows. In: 9th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal (ESDAR), Faculté de médecine vétérinaire, Murcie, Espagne. 1-3 septembre 2005. *Reprod. Dom. Anim.*, 40 (4): p. 368 (abstr. P103).

## 2006

- CO-55 Dalbies-Tran R, Uzbekova S, Pannetier S, Thélie A, Perreau C, Papiller P, Mermillod P, Monget P, Dade S, Paillisson A, Bontoux M, Duranthon V, Heyman Y, Audouard C, Richard C, Le Guienne B, **Ponsart C**, Guyader-Joly C, Ponchon S, Humblot P, 2006. Ovogenae : Génomique expressionnelle de l'ovocyte dans des situations physiopathologiques de reproduction bovine. Séminaire Agenae 28 -29 Mars, Poitiers (poster).
- CO-56 Deletang F, Bernay F, Remmy D, Fréret S, **Ponsart C**, Humblot P, 2006. Efficacy of an intravaginal progesterone device (PRID) with an injection of PDGF2 A for synchronizing oestrus in french beef and dairy cattle. In : 24ème Congrès Mondial de Buiatrie, Nice (France) = World Buiatrics Congress (WBC), 15-19 octobre 2006 (oral communication).

- CO-57 Dubois P, Fréret S, Charbonnier G, Humblot P, **Ponsart C**, 2006. Influence des paramètres laitiers sur la régularité de cyclicité postpartum et les performances de reproduction en race Prim' Holstein. In : 13ème Congrès 3R (Rencontres Recherches Ruminants), Paris, 6-7 décembre 2006, p. 295 (poster).
- CO-58 Fréret S, **Ponsart C**, Rai DB, Jeanguyot N, Paccard P, Humblot P, 2006. Facteurs de variation de la fertilité en première insémination et des taux de mortalités embryonnaires en élevages laitiers Prim'Holstein. In: 13ème Congrès 3R (Rencontres Recherches Ruminants), Paris, 6-7 décembre 2006. p. 281-285 (oral communication).
- CO-59 Humblot P, Fritz S, Grimard B, Gautier M, Amigues Y, Fréret S, **Ponsart C**, 2006. GENIFER : mesures phénotypiques et étude du polymorphisme de gènes candidats du QTL de fertilité femelle du chromosome 3 dans l'espèce bovine. In : Séminaire AGENAE 2006, 28-29 mars 2006, Futuroscope, Poitiers (France). p. 42-58 (poster).
- CO-60 Le Mezec P, **Ponsart C**, Fréret S, Guillaume F, Mattalia S, Moureaux S, Paccard P, 2006. Fertilité des vaches laitières: vers une définition fine des phénotypes. In : Séminaire AGENAE 2006, 28-29 mars 2006, Futuroscope, Poitiers (France). p. 48-58 (poster).
- CO-61 Marquant-Le Guienne B, Aymar F, **Ponsart C**, Guyader-Joly C, Ponchon S, Humblot P, 2006. Variation factors influence cleavage and embryonic development rates of bovine oocytes collected on a farm in commercial OPU-IVP system. In : 32nd Annual Conference of the IETS, 8-10 janvier 2006, Caribe Royale, Orlando, Floride (USA). *Reproduction, Fertility and Development*, 18 (1,2) : Abstr 285, p. 250 (poster).
- CO-62 **Ponsart C**, Aymar F, Marquant-Le Guienne B, Guyader-Joly C, Ponchon S, Humblot P. Various factors influencing pregnancy rates and calving characteristics following transfer of OPU-IVP embryos produced in a commercial system. In : 32nd Annual Conference of the IETS, 8-10 janvier 2006, Caribe Royale, Orlando, Floride (USA). *Reproduction, Fertility and Development*, 18 (1,2) : (abstr. 291), p. 253., 2006.
- CO-63 **Ponsart C**, Charbonnier G, Dubois P, Fréret S, Levert J, Congnard V, Jeanguyot N, Humblot P. Relationship between estrus expression and detection, resumption of cyclicity and body condition losses in postpartum dairy cows. In : 24ème Congrès Mondial de Buiatrie, Nice (France) = World Buiatrics Congress (WBC) (WBC), 15-19 octobre 2006 (oral communication).
- CO-64 **Ponsart C**, Fréret S, Charbonnier G, Giroud O, Dubois P, Humblot P, 2006. Description des signes de chaleurs et modalités de détection entre le vêlage et la première insémination chez la vache laitière. In : 13èmes Renc. Rech. Ruminants, 2006. p. 273-276 (oral communication).
- CO-65 **Ponsart C**, Léger T, Dubois P, Charbonnier G, Fréret S, Humblot P, 2006. Identification de profils de note d'état caractérisant des primipares et des multipares de race Prim'Holstein et relations avec le délai de mise à la reproduction. In: 13ème Congrès 3R (Rencontres Recherches Ruminants), Paris, 6-7 décembre 2006, p. 288 (poster).
- CO-66 **Ponsart C**, Quinton H, Rohou A, Kelhembo J, Bourgoin G, Humblot P, 2006. Influence of the different time components between flushing and transfer on pregnancy rates of frozen cattle embryos. In : 32nd Annual Conference of the IETS, 8-10 janvier 2006, Caribe Royale, Orlando, Floride (USA). *Reproduction, Fertility and Development*, 18 (1,2) Abstr 191, p.203-204.
- CO-67 Seegers H, Grimard B, Billon D, Beaudeau F, **Ponsart C**, Humblot P, 2006. Economic losses and profitability of control actions for reproductive problems in dairy herds. In : 9th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal (ESDAR), Faculté de Ljubljana, Slovénie. 7-9 septembre 2006. *Reprod. Dom. Anim.*, 41 (4) : p. 299-300 (abstr. W 6.1).

## 2007

- CO-68 Fréret S, **Ponsart C**, Jeanguyot N, Paccard P, Humblot P, 2007. Effect of restraint quality during first service on early embryonic death rate in Prim'Holstein dairy herds. In : 11th annual conference of the European Society for For Domestic Animal Reproduction (ESDAR), 21-22 septembre 2007, Celle (Allemagne). *Reprod. Dom. Anim.*, 42, Suppl. 2, p. 125, abstract P176 (poster).
- CO-69 Fréret S, **Ponsart C**, Jeanguyot N, Paccard P, Humblot P, 2007. Effect of housing and restraint quality during first service on non-fertilization/early embryonic death rate in Prim'Holstein dairy herds. In : 11th annual conference of the European Society for For Domestic Animal Reproduction (ESDAR), 21-22 septembre 2007, Celle, Allemagne . *Reproduction in Domestic Animals*, Vol. 42, Suppl. 2, p. 125 (abstract P176).
- CO-70 Grimard B, Fréret S, Driancourt M, Rosso V, Fournier R, Humblot P, **Ponsart C**, 2007. Efficiency of oestrus synchronisation combining GnRH (Buserelin), Norgestomet implant, prostaglandin (Luprostiol) and eCG in beef cows. In : 11th annual conference of the European Society for For Domestic Animal Reproduction (ESDAR), 21-22 septembre 2007, Celle, Allemagne . *Reprod. Dom. Anim.*, Vol. 42, Suppl. 2, p. 117 (abstract P147).

- CO-71 Hetreau T, Giroud O, **Ponsart C**, Paccard P, Badinand F, 2007. Simplifier la détection des chaleurs des vaches laitières grâce à la vidéosurveillance. In : 14èmes Journées 3R (Renc. Rech. Ruminants), Paris, 5-6 décembre 2007, p. 372 (poster).
- CO-72 Lacaze S, **Ponsart C**, Humblot P, 2007. Sexing ADN direct transfer of bovine biopsied frozen-thawed embryos under on-farm conditions in a commercial program. In : 23rd Annual Meeting AETE ; 23ème réunion AETE, Alghero (Sardaigne), 7-8 Septembre 2007". p. 188 (poster).
- CO-73 **Ponsart C**, Fréret S, Charbonnier G, Dubois D, Humblot P. Oestrus detection characteristics between calving and 1st insemination in dairy cows. In : 11th annual conference of the European Society for For Domestic Animal Reproduction (ESDAR), 21-22 septembre 2007, Celle, Allemagne. *Reprod. Dom. Anim.*, Vol. 42, Suppl. 2, p. 120 (abstract P159).
- CO-74 **Ponsart C**, Fréret S, Dubois P, Charbonnier G, Humblot P, 2007. Influence of milk parameters on the regularity of postpartum cyclicity in dairy cows. In: 11th annual conference of the European Society for For Domestic Animal Reproduction (ESDAR), 21-22 septembre 2007, Celle, Allemagne. *Reprod. Dom. Anim.*, Vol. 42, Suppl. 2, p. 120 (abstract P160).

## 2008

- CO-75 Colleau JJ, Fritz S, **Ponsart C**, Le Bourhis D, Lacaze S, Tissier M, Mervant G, Amigues Y, Druet T, Malafosse A, Boichard D, Humblot P, 2008. Intérêt du typage des embryons dans un programme de sélection assistée par marqueurs en bovins laitiers. In: 15èmes rencontres autour des Recherches sur les Ruminants (3R), Paris, 3-4 décembre 2008. p. 427-430 (oral communication).
- CO-76 Disenhaus C, Cutullic E, Blanc F, Gatien J, Agabriel J, Hetreau T, Michel G, Paccard P, Badinand F, Egal D, **Ponsart C**, 2008. Caractéristiques comparées de la cyclicité après vêlage de différentes races bovines. Breed comparison of post partum cyclicity in cows. In: 15èmes Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants (3R), Paris, 3-4 décembre 2008. p. 383-386 (oral communication).
- CO-77 Floc'h S, Deletang F, Fréret S, **Ponsart C**, Remmy D, 2008. Control of Oestrus with a Progesterone Intravaginal Device (Prid®) : Comparison of 2 Insertion Durations. In: XXV World Buiatrics Congress, 6-11 juillet 2008, Budapest (Hongrie). Abstract 255 (poster).
- CO-78 Fréret S, **Ponsart C**, Paccard P, Jeanguyot N, Humblot P, 2008. Relations entre modalités de détection des chaleurs, conditions d'insémination, production laitière et fertilité en première insémination en troupeaux Prim'Holstein (enquête FERTILIA). In : 15ème Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants (3R), Paris, 3-4 décembre 2008. p. 375 (poster).
- CO-79 Grimard B, **Ponsart C**, Freret S, Delize F, Chambon G, Driancourt M, Fournier R, Ptaszynska M, Rosso V, 2008. Effect of the AI Timing after Estrus Synchronization with Crestar SO on the Fertility of Induced Estrus in Charolais Heifers. In : XXV World Buiatrics Congress, 6-11 juillet 2008, Budapest (Hongrie), abstract 916 (poster).
- CO-80 Grimard B, **Ponsart C**, Humblot P, Gipoulou C, Rosso V, Fournier R, Ptaszynska M, Driancourt MA, 2008. Comparison of Fertility Results with two Progestin based Synchronization Methods in French Conditions. In : XXV World Buiatrics Congress, 6-11 juillet 2008, Budapest (Hongrie), abstract 918 (poster).
- CO-81 Humblot P, Amigues Y, **Ponsart C**, Gatien J, Ledoux D, Fritz S, 2008. Mesures phénotypiques et étude du polymorphisme de gènes candidats de QTL de fertilité femelle en race Prim'Holstein. Séminaire AGENAE/GENANIMAL 20, 21, 22 octobre 2008, La Rochelle (poster).
- CO-82 Lacaze S, Humblot P, **Ponsart C**, 2008. Sexage et transfert direct d'embryons bovins biopsiés et congelés en ferme dans un programme commercial. In : 15èmes Journées 3R, décembre 2008., p 387-390 (oral communication).
- CO-83 Lacaze S, **Ponsart C**, Di Scala D, Richet L, Valadier A, Pailhous C, Humblot P, 2008. Use of embryo sexing and MOET in Aubrac cows to save the dairy genetic type. In : 24ème Colloque scientifique de l'AETE ; 24th Congress of European transfer Association, Pau (France), 12-13 Septembre 2008, p. 182 (poster).
- CO-84 Lacaze S, **Ponsart C**, Humblot P, 2008. A potential contamination of the biopsy by zona pellucid associated Y DNA does not affect bovine embryo sexing results. In : 24ème Colloque scientifique de l'AETE ; 24th Congress of European transfer Association, Pau (France), 12-13 Septembre 2008, p. 184 (abstract).
- CO-85 Lafri M, **Ponsart C**, Durand M, Jeanguyot N, Humblot P, 2008. Résultats de traitements de superovulation chez les bovins. In : 15ème Journées 3R (Rencontre Recherches Ruminants), Paris, Décembre 2008, p. 398 (poster).
- CO-86 Le Bourhis D, Amigues Y, Tissier M, Moulin B, Lacaze S, Charreaux F, Fritz S, Gonzalez C, **Ponsart C**, Heyman Y, Humblot P, 2008. Faisabilité et premiers résultats lors de la mise en œuvre du typage d'embryons bovins en ferme. In : 15ème Journées 3R (Rencontre Recherches Ruminants), Paris, Décembre 2008. p. 444 (poster).

- CO-87 Le Bourhis D, Mullaart E, Humblot P, Coppieters W, **Ponsart C**, 2008. Bovine embryo genotyping using a 50K SNP chip. In : 34th Annual Conference of the IETS, Denver (Colorado), 5-9 janvier 2008. *Reproduction Fertility and Development*, 20 (1): 101 (abstract 193, poster).
- CO-88 **Ponsart C**, Grimard B, Humblot P, Dewaele M, Driancourt M, Fournier R, Ptaszynska M, Rosso V. Influence of Number of Inseminations on Pregnancy Rates Achieved at Estrus Induced with Crestar SO in Female Charolais Cattle. In : 20th Jubilee World Buiatrics Congress (WBC), 6-11 juillet 2008, Budapest (Hongrie). Abstr. 917., 2008.
- CO-89 **Ponsart C**, Pozzi N, Jeantils D, Camus JM, Deloche MC, Bareille S, Bensmaili A, Humblot P, Guérin B, 2008. Relationship between Blue Tongue Virus Infection, Cyclicity and Individual Characteristics of Ewes before Autumnal Breeding in Texel Sheep Flocks in North of France. In : 20th Jubilee world Buiatrics Congress, 6-11 juillet 2008, Budapest (Hongrie), abstr. 23 (poster).

## 2009

- CO-90 Gatien J, Frappat B, David X, Garrelou R, Humblot P, **Ponsart C**, 2009. Focus sur la conduite de la reproduction dans les grands troupeaux laitiers de l'Ain. In : 16èmes Journées 3R, 2-3 décembre 2009, Paris, p. 322 (poster).
- CO-91 Gatien J, **Ponsart C**, Humblot P, 2009. Maîtrise des cycles par le dispositif CIDR® chez des vaches et génisses laitières et allaitantes : Comparaison IA fixe à 56 heures et IA sur chaleurs observées. In : Journées Bovines Nantaises, 1er octobre 2009 (poster).
- CO-92 Guyader-Joly C, Moulin B, Mariller F, Curin V, Ponchon S, Gonzalez C, Humblot P, **Ponsart C**, 2009. Biological factors affecting oocyte collection and embryo production in a commercial OPU-FIV system Holstein and Montbeliard breeds. In : 25ème colloque scientifique de l'A.E.T.E, Poznan (Pologne), 11-12 septembre 2009. p. 176 (poster).
- CO-93 Humblot P, Amigues Y, **Ponsart C**, Gatien J, Ledoux D, Grimard B, Eggen A, Fritz S, Boichard D, 2009. Mesures phénotypiques et étude du polymorphisme de gènes candidats de QTL de fertilité femelle en race Prim'Holstein. Séminaire AGENAE/GENANIMAL 21, 22, 23 octobre 2009, p 21 (poster).
- CO-94 Lacaze S, **Ponsart C**, Humblot P, 2009. Influence of embryo stage on pregnancy rates following transfer of bovine biopsied embryos under in farm conditions. In : 25ème colloque scientifique de l'A.E.T.E, Poznan (Pologne), 11-12 septembre 2009. p. 208 (poster).
- CO-95 Le Bourhis D, Amigues Y, Charreaux F, Lacaze S, Tissier M, Guyader JC, Mervant G, Moulin B, Gonzalez C, Humblot P, **Ponsart C**, 2009. Embryo genotyping from in vivo biopsied bovine embryos after whole genome amplification. In: 35th Annual Conference of the International Embryo Transfer Society (IETS), San Diego, Californie, 3-7 janvier 2009. *Reproduction Fertility and Development*, 21, p. 192 (poster).
- CO-96 **Ponsart C**, Gatien J, Pozzi N, Humblot P, Guérin B, 2009. Relationship between bluetongue virus (BTV-8) infection and foetal mortality in cattle. In : 25ème colloque scientifique de l'A.E.T.E, Poznan (Pologne), 11-12 septembre 2009. p. 242. (poster).
- CO-97 Spalart M, Habit B, Anger JM, delattre S, Mechin F, **Ponsart C**, 2009. Sources of variation of equine embryo production and pregnancy rates after transfert: a ten years retrospective study in France. In : 25ème colloque scientifique de l'A.E.T.E, Poznan (Pologne), 11-12 septembre 2009. p. 256 (poster).

## 2010

- CO-98 Blanc F, Paccard P, Gatien J, De la Torre A, **Ponsart C**, Egal D, Krauss D, Delval E, Agabriel J, 2010. Caractérisation de l'oestrus chez la vache allaitante quantification des manifestations comportementales et facteurs de variation. In: Colloque AERA (Association pour l'Etude de la Reproduction Animale), « *Détection et suivi de l'œstrus : un sujet vieux comme l'élevage, mais avec des nouveautés* ». Maisons-Alfort (France), 16 décembre 2010. p.21-32 (oral communication).
- CO-99 Buff S, Guyader-Joly C, Lefranc AC, Gonzalez C, Ponchon S, Jeanguyot N, **Ponsart C**, Humblot P, 2010. Use of a rapid lateral flow device to detect bovine luteinizing hormone. In: Annual Conference of ESDAR and the 22nd Annual meeting of EU-AI-Vets, 15-18 Septembre 2010, Eger (Hongrie). *Reprod. Dom. Anim.*, 45 (Suppl. 3), abstract P72, p. 80 (poster).
- CO-100 Dalbies-Tran R, Auclair S, Angulo L, Touze JL, Uzbekova S, Duranthon V, Khan DR, Boussaha M, Joly C, Humblot P, **Ponsart C**, 2010. La régulation de l'expression des gènes dans l'ovocyte, facteur clé de la fertilité chez les bovins (OVOGENAE2). In: 8<sup>ème</sup> Colloque Agenae-Genanimal, 8-10 novembre 2010, Bordeaux. ANR; INRA. Poster. p. 103 (poster).
- CO-101 Fréret S, Gatien J, Salvetti P, Humblot P, Paccard P, **Ponsart C**, 2010. Pratiques d'alimentation entre le vêlage et l'insémination, gestion du tarissement et production laitière en élevages Prim'Holstein: effets sur la fertilité. In: 17<sup>èmes</sup> Rencontres autour des recherches sur les Ruminants (3R), 8-9 décembre 2010, Paris (France), p. 165 (Poster).

- CO-102 Gamarra G, Le Guienne B, Lacaze S, **Ponsart C**, 2010. Start up of MIDATEST OPU-FIV station: first results of embryo production. AETE 2010. In : 26<sup>ème</sup> Colloque de l'A.E.T.E., 10-11 septembre 2010, Kuopio (Finlande), p. 154 (poster).
- CO-103 Giraud JM, Drevillon P, Lecomte M, **Ponsart C**, Martin J, Gatien J, Constant I, De la Torre A, Agabriel J, 2010. Pratiques d'alimentation entre le vêlage et l'insémination, gestion du tarissement et production laitière en élevages Prim'Holstein: effets sur la fertilité. In: 17<sup>èmes</sup> Rencontres autour des recherches sur les Ruminants (3R), 8-9 décembre 2010, Paris (France). p. 264 (Poster).
- CO-104 Guyader-Joly C, Licari D, Gonzalez C, Ponchon S, **Ponsart C**, 2010. Developmental ability of bovine oocytes after IVM in a commercial defined serum-free maturation medium. In : 26<sup>ème</sup> Colloque de l'A.E.T.E., 10-11 septembre 2010, Kuopio (Finlande). p. 166 (poster).
- CO-105 Guyader-Joly C, Moulin B, Mariller F, Curin V, Ponchon S, Gonzalez C, Humblot P, **Ponsart C**, 2010. Biological factors affecting oocyte collection and embryos production in a commercial ovum pickup-IVP system in Holstein and montbeliard breeds. In: 36th Annual Conference of the IETS ; 23rd Annual Meeting of SBTE, 9-12 janvier 2010, Cordoba (Argentine). *Reproduction, Fertility and Development*, 22, p. 378 (abstr. 443, poster).
- CO-106 Hetreau T, Giroud O, **Ponsart C**, Gatien J, Paccard P, Badinand F, Bruyère P., 2010. Simplifier la détection des chaleurs des vaches laitières grâce à la vidéosurveillance: une étude dans les races Montbéliarde et Abondance . In: 17<sup>èmes</sup> Rencontres autour des recherches sur les Ruminants (3R), 8-9 décembre 2010, Paris (France). p. 141-144 (oral communication).
- CO-107 Le Danvic C, Sellem E, Gérard O, Joly C, **Ponsart C**, Chemineau P, Humblot P, Nagnan-Le Meillour P, 2010. Enhancing bull libido by female urinary chemical cues with special reference to estrus. In : 26th Annual Meeting of the International Society of Chemical Ecology, Tours, France, 31 juillet-4 août 2010 (poster).
- CO-108 Le Mezec P, Barbat-Leterrier A, Barbier S, de Cremoux R, Gion A, **Ponsart C**, 2010. Evolution de la fertilité et impact de la FCO sur la reproduction du cheptel laitier français. In: 17<sup>èmes</sup> Rencontres autour des recherches sur les Ruminants (3R), 8-9 décembre 2010, Paris (France). p. 157-160 (oral communication).
- CO-109 Philipot JM, Gatien J, Krauss D, Paccard P, Chevallier A, **Ponsart C**, 2010. Use of the heatime<sup>®</sup> system for heat detection in beef heifers. In: 14th Annual Conference of ESDAR and the 22nd Annual meeting of EU-AI-Vets, 15-18 September 2010, Eger (Hongrie). *Reprod. Dom. Anim.*, 45 (Suppl. 3), abstract P166, p. 103 (poster).
- CO-110 Philipot JM, Krauss D, Trou G, **Ponsart C**, Vinet A, Noël T, Pery C, Descombes M, Le Guenic M, Jouanne D, Chevallier A, Gatien J, Paccard P. Essai d'un système novateur de détection des chaleurs des femelles bovines par mesure de l'activité. In: 17<sup>èmes</sup> Rencontres autour des recherches sur les Ruminants (3R), 8-9 décembre 2010, Paris (France). p. 137-140 (oral communication).
- CO-111 **Ponsart C**, Frappat B, Gatien J, Chanvallon A, Constant F, Disenhaus C, Seegers H, Blanc F, Ribaud D, Salvetti P, Paccard P, 2010. La détection par les éleveurs des chaleurs des vaches: des pratiques et des logiques de décision très diverses. In: 17<sup>èmes</sup> Rencontres autour des recherches sur les Ruminants (3R), 8-9 décembre 2010, Paris (France). p. 129-132 (oral communication)
- CO-112 **Ponsart C**, Gatien J, Besognet B, Fanuel P, Humblot P, 2010. Fertility after fixed-time AI or insemination at detected estrus following CIDR synchronization protocols in French dairy and beef cattle. In : 36th Annual Conference of the IETS ; 23rd Annual Meeting of SBTE, 9-12 janvier 2010, Cordoba (Argentine). *Reproduction, Fertility and Development*, 2009, 21. p. 175 (abstr. 35, poster).
- CO-113 **Ponsart C**, Gatien J, Pozzi N, Humblot P, Guérin B. Relationship between bluetongue virus infection and fetal mortality in cattle. In: 36th Annual Conference of the IETS; 23rd Annual Meeting of SBTE, 9-12 janvier 2010, Cordoba (Argentine). *Reproduction, Fertility and Development*, 2009, 21, p. 253 (abstr. 190, poster).
- CO-114 Sandra O, Hue I, Klopp C, Gibrat JF, Humblot P, **Ponsart C**, Le Bourhis D (2010). Meetac: Valorisation des données transcriptomiques bovines à l'interface mère-embryon pour une compréhension intégrée de l'implantation. In: 8<sup>ème</sup> Colloque Agenae-Genanimal, 8-10 novembre 2010, Bordeaux, France (poster).
- CO-115 Seegers H, Billon D, Bossard-Apper E, **Ponsart C**, Bareille N, 2010. Impact économique d'une qualité non optimale de détection des chaleurs en troupeaux laitiers à fort niveau de production. In: 17<sup>èmes</sup> Rencontres autour des recherches sur les Ruminants (3R), 8-9 décembre 2010, Paris (France), p. 146 (Poster).
- CO-116 Seegers H, Billon D, Bossard-Apper E, **Ponsart C**, Paccard P, Disenhaus C, Gatien J, Salvetti P, Grimard B, Chanvallon A, Bareille N, 2010. Evaluation rétrospective de la qualité de la détection des chaleurs en troupeau bovin laitier à partir de données déjà disponibles. In: 17<sup>èmes</sup> Rencontres autour des recherches sur les Ruminants (3R), 8-9 décembre 2010, Paris (France). p. 133-136 (oral communication).

## 2011

- CO-117 Angulo L, Guyader-Joly C, Auclair S, Ponchon S, Gonzalez C, Papillier P, Hennequet-Antier C, Boussaha M, Fritz S, Humblot P, **Ponsart C**, Dalbies-Tran R, 2011. Bovine oocyte quality: from phenotype to genes. In : 27th Annual Meeting AETE, Chester, Angleterre, 9-10 septembre 2011, p. 112. (oral communication).
- CO-118 Angulo L, Joly C, Auclair S, Ponchon S, Gonzalez C, Hennequet-Antier C, Boussaha M, Humblot P, Dalbies-Tran R, **Ponsart C**, 2011. La qualité de l'ovocyte bovin: du phénotype aux gènes. In: 18èmes journées 3R (Rencontres Recherches Ruminants), 7-8 décembre 2011, Paris. p. 97-99., 2011:97-99 (oral communication).
- CO-119 Chanvallon A, Gatien J, Salvetti P, Frappat B, Paccard P, Agabriel J, Blanc F, Constant F, Grimard B, Disenhaus C, Seegers H, **Ponsart C**, 2011. Vers une amélioration de la détection des chaleurs dans les troupeaux bovins grâce à une nouvelle méthode de diagnostic et de conseil (DetOEstrus). Towards an improvement of heat detection in cattle with a new method of diagnosis and advice (DetOEstrus). In: 18èmes journées 3R (Rencontres Recherches Ruminants), 7-8 décembre 2011, Paris. p. 19-22. (oral communication).
- CO-120 Cordova A, Panneau B, Perreau C, Tsikis G, Martinot E, Locatelli Y, **Ponsart C**, Mermillod P, 2011. Spatio-temporal specificity of bovin oviduct embryotrophic activity. In : 3<sup>rd</sup> COST Action FA0702 ; 4<sup>th</sup> GEMINI General Conference Maternal Interactions with Gametes and Embryos. 30 Septembre-2 octobre 2011. Gijón, Espagne. p.20 (poster).
- 63-121 Correia Alvarez E, Gomez E, Fernandez A, **Ponsart C**, Luaces O, Guyader-Joly C, Bahamonde A, Diez C, Marquant-Le Guienne B, Humblot P, Caamano JN, Trigal B, Carrocera S, Martin D, Munoz M. Non-invasive prediction of embryonic sex during the in-vitro culture of IVP and in vivo recovered cattle embryos, 2011. In : 3<sup>rd</sup> COST Action FA0702 CO-; 4<sup>th</sup> GEMINI General Conference Maternal Interactions with Gametes and Embryos. 30 Septembre-2 octobre 2011. Gijón, Espagne. p. 51.
- CO-122 Dalbies-Tran R, Angulo L, Perreau C, Papillier P, Uzbekova S, Humblot P, **Ponsart C**, 2011. A novel oocyte-specific maternal-effect gene in the bovine. In : 3rd Embryo Genomics Meeting, Bonn (Allemagne), 20-22 septembre 2011.
- CO-123 Fréret S, Salvetti P, Gatien J, Humblot P, **Ponsart C**. Facteurs de variation de la fertilité en première IA chez les vaches Prim'Holstein. In: 18<sup>èmes</sup> Journées 3R (Rencontres Recherches Ruminants), 7-8 décembre 2011, Paris. p. 89-92 (oral communication).
- CO-124 Gamarra G, Le Guienne B, Lacaze S, **Ponsart C**, 2011. Bovine IVP speed development in SOF medium do not influence sex ratio: preliminary results. In : 27th Annual Meeting AETE, Chester, Angleterre, 9-10 septembre 2011. p. 152 (poster).
- CO-125 Gatien J, Salvetti P, Deloche MC, Prandi S, Esch M, Keiling P, Rousseau Y, **Ponsart C**, 2011. Evaluation of eProCheck® Elisa test machine for milk progesterone assay in cattle. In : 27th Annual Meeting AETE, Chester, Angleterre, 9-10 septembre 2011. p. 154 (poster).
- CO-126 Guyader-Joly C, Knijn H, Ponchon S, Gonzalez C, **Ponsart C**, 2011. Embryo development and pregnancy rate after direct transfer of cryopreserved in vitro cultured bovine embryos in SOF medium. In : 27th Annual Meeting AETE, Chester, Angleterre, 9-10 septembre 2011. p. 162 (oral communication).
- CO-127 Hetreau T, Giroud O, **Ponsart C**, Gatien J, Paccard P, Badinand F, Bruyère P. Management of heat detection using video monitoring : a study in the Montbéliarde and Abondance breeds. In : General Assembly and Annual Workshop of ICAR 2011. "New technologies and new challenges for breeding and herd management". Bourg-en-Bresse (France), 22-24 juin 2011. p. 20 (Poster).
- CO-128 Le Bourhis D, Mullaart E, Humblot P, Coppieters W, **Ponsart C**, 2011. Bovine embryo genotyping using a 50 k SNP chip. In: 37th Annual Conference of the IETS, 6-12 janvier 2011, Orlando (Floride) USA. p. 197 (Abstract 193, poster).
- CO-129 Le Bourhis D, Mullaart E, Humblot P, Knijn H, Le Guienne B, **Ponsart C**, 2011. Embryo genotyping from biopsied bovine embryos using a 50 K SNP chip. In : XXV Reuniao anual da sociedade brasileira de tecnologia de embriões. Proceedings of the 25th Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE). The impact of reproductive biotechnologies on animal health and production. Cumbuco, CE, Brésil, 18-20 août 2011. In : Acta Scientiae Veterinariae, 39 (suppl. 1), p. 462, ISSN 1679-9216 (oral communication).
- CO-130 Le Danvic C, Gérard O, Sellem E, Joly C, **Ponsart C**, Humblot P, Nagnan-Le Meillour P, 2011. Identification of oestrus pheromonal molecules in cow. In: 12<sup>th</sup> Congress on Chemical Signals in Vertebrates, 28-31 août 2011, Berlin (Allemagne).
- CO-131 Ledoux D, Gatien J, Grimard B, Deloche MC, Fritz S, Lefebvre R, Humblot P, **Ponsart C**, 2011. Phénotypage des échecs de gestation entre 0 et 90 jours après 1ère insémination postpartum en race Holstein et relations avec l'index de fertilité postpartum des pères utilisés. Phenotyping pregnancy failure occurring within 90 days following first postpartum insemination in Holstein cattle and relationship with

- fertility breeding value of bull fathers. In: 18<sup>èmes</sup> journées 3R (Rencontres Recherches Ruminants), 7-8 décembre 2011, Paris. p. 339-342 (oral communication).
- CO-132 Lefebvre R, Fritz S, Ledoux D, Gatien J, Genestout J, Rossignol MN, Grimard B, Boichard D, Humblot P, **Ponsart C**, 2011. GENIFER: cartographie fine et effets de QTL de fertilité en race bovine Holstein. In: 18<sup>èmes</sup> journées 3R (Rencontres Recherches Ruminants), 7-8 décembre 2011, Paris. p. 415 (poster).
- CO-133 Marquant-Le Guienne B, Capitan A, Le Bourhis D, Salas-Cortes L, Clement L, Barbey S, Gallard Y, Ponsart C, 2011. Pre-implantation genetic diagnosis combined with freezing and transfer of in vitro-produced embryos allows creating genetic resources from a mosaic bull. *Reproduction Fertility and Development*, 24(1):198 (poster).
- CO-134 Munoz M, Diez C, Trigal B, **Ponsart C**, Guyader-Joly C, Caamano JN, Marquant-Le Guienne B, Martinez-Bello D, Correia E, Humblot P, Martin D, Carrocera S, Gomez E, 2011. A simple in vitro culture step allows individual embryo monitoring with improved output. In : 3<sup>rd</sup> COST Action FA0702 ; 4<sup>th</sup> GEMINI General Conference Maternal Interactions with Gametes and Embryos. 30 Septembre-2 octobre 2011. Gijón, Espagne. p. 24 (poster).
- CO-135 **Ponsart C**, Ledoux D, Gatien J, Grimard B, Deloche MC, Fritz S, Lefebvre R, Humblot P, 2011. Phenotyping pregnancy failure occurring within 90 days following first postpartum insemination in Holstein cattle and relationship with fertility breeding value of bull fathers. In : General Assembly and Annual Workshop of ICAR 2011. "New technologies and new challenges for breeding and herd management". Bourg-en-Bresse (France), 22-24 juin 2011. p. 27 (Poster).
- CO-136 Salvetti P, Decherf A, Gatien J, Frappat B, **Ponsart C**, 2011. REPRO Pilote Laitier : une démarche prospective pour un accompagnement personnalisé de l'éleveur dans la gestion de la reproduction. In: 18<sup>èmes</sup> Journées 3R (Rencontres Recherches Ruminants), 7-8 décembre 2011, Paris. p. 45 (poster).
- CO-137 Sellem E, Bréard F, Gérard O, Guérin B, Pozzi N, **Ponsart C**, 2011. Comparaison de deux cytomètres de paillasse utilisés pour l'évaluation de la qualité de la semence bovine. 15<sup>ème</sup> congrès annuel de l'Association Française de Cytométrie. Session plénière: avancées technologiques. Paris. Oct 2011. Livre des résumés. p. 21 (poster).

## 2012

- CO-138 Angulo L, Perreau C, Papiller P, Uzbekova S, Uzbekov R, Freret S, Cadoret V, Guerif F, Royère D, Humblot P, **Ponsart C**, Dalbies-Tran R, 2012. A novel oocyte-specific maternal-effect gene in mammals. In : 7th Workshop on Mammalian Folliculogenesis and Oogenesis. ESHRE Campus symposium, 19-21 avril 2012, Stresa (Italie, poster).
- CO-139 Cordova A, Perreau C, Archilla C, **Ponsart C**, Duranthon V and Mermillod P. Regulation of early cleavage kinetics and embryonic genome activation by bovine oviductal epithelial cells in vitro. In :28th Scientific Meeting of the European Embryo Transfer Association, 7-8 septembre 2012, Saint Malo, France, p 130.
- CO-140 Cordova, A., Perreau, C., Tsikis, G., Reynaud, K., Locatelli, Y., **Ponsart, C.**, Mermillod, P., 2012. Effect of bovine oviductal epithelial cell co-culture on early cleavage kinetics of bovine IVP embryos. Proceedings of the 17th International congress on Animal Reproduction (ICAR), Vancouver, Canada, 29 juillet-02 aout 2012. *Reprod. Dom Anim.*, 47 suppl.4 p447-448
- CO-141 Dupuy L, Joly C, Decourtye J, Salvetti P, Kara E, Morel A, Charreaux F, Lacaze S, Schwartz JL, **Ponsart C**, Maurel MC, 2012. Detecting LH peaks in order to optimize the ratio of viable embryos using predi'bov<sup>®</sup>), a new on-farm ovulation test. In:28th Scientific Meeting of the European Embryo Transfer Association, 7-8 septembre 2012, Saint Malo, France, p 134.
- CO-142 Dupuy L, Joly C, Decourtye J, Salvetti P, Kara E, Morel A, Charreaux F, Lacaze S, Schwartz JL, **Ponsart C**, Maurel MC, 2012. Detecting pre-ovulatory luteinizing hormone peaks in order to optimize the ratio of viable embryos using predi'bov<sup>®</sup>), a new on-farm ovulation test. *Reproduction Fertility and Development*, 25(1):225 (poster).
- CO-143 Dupuy L, Joly C, Decourtye J, Salvetti P, Kara E, Morel A, Charreaux F, Lacaze S, Schwartz JL, **Ponsart C**, Maurel MC, 2012. Utilisation de Predi'Bov<sup>®</sup>, un test utilisable en ferme pour détecter le pic pré-ovulatoire de LH, dans le but d'optimiser la production d'embryons transférables chez la vache. In: 19<sup>èmes</sup> journées 3R (Rencontres Recherches Ruminants), 5-6 décembre 2012, Paris. p. 355 (poster).
- CO-144 Freret S, Salvetti P, Gatien J, Humblot P, **Ponsart C**, 2012. Genetic and environment factors as leverage effects on fertility at first service in Holstein cows. In : 16th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal (ESDAR), 29 août et 1er septembre 2012, Dublin (Irlande). Hoboken (USA) : John Wiley & Sons (*Reproduction in Domestic Animals*, 47 (s5)), 84 (poster).
- CO-145 Fritz S, Le Bourhis D, Baur A, Lacaze S, Charreaux F, Morel A, Dupassieux D, Amigues Y, Joly C, **Ponsart C**, 2012. Indexation génomique des embryons dans les principales races françaises de bovins laitiers). In: 19<sup>èmes</sup> journées 3R (Rencontres Recherches Ruminants), 5-6 décembre 2012, Paris. p. 91 (poster).

- CO-146 Gamarra G, Lacaze S, Marquant Le Guienne B, **Ponsart C**, 2012. Set-up of ovum pick up and in vitro embryo production in Midatest : first results. In:28th Scientific Meeting of the European Embryo Transfer Association, 7-8 septembre 2012, Saint Malo, France, p 142 (poster).
- CO-147 Gamarra G, Ponter A, Lacaze S, Leguienne B, **Ponsart C**, 2012. Short-term dietary propylene glycol supplementation affects circulating metabolic hormones and progesterone concentrations and follicular growth in dairy heifers. In : 17th International Congress on Animal Reproduction (ICAR), 29 juillet – 2 août 2012, Vancouver (CAN). Weinheim (DEU) : Wiley-Blackwell (Reproduction in Domestic Animals, 47 (Suppl 4)), p. 525 (poster). DOI 10.1111/j.1439-0531.2012.02119.x
- CO-148 Lacaze S, Gamarra G, Marquant Le Guienne B, **Ponsart C**, 2012. Influence of quality and stage of frozen – thawed direct transfer ovum pick up in vitro embryos on pregnancy rates : preliminary results. In:28th Scientific Meeting of the European Embryo Transfer Association, 7-8 septembre 2012, Saint Malo, France, p 178 (poster).
- CO-149 Le Bourhis D, Mullaart E, Schrooten C, Fritz S, Coppieters W, Lacaze S, Dupassieux D, Charreaux F, **Ponsart C**, 2012. Breeding values concordance between embryos and corresponding calves. In : 38th Annual Conference of the IETS ; Phoenix, Arizona (USA) ; 7-10 janvier 2012. Poster 135; *Reprod. Fertil. Dev.* 24, 180. doi:10.1071/RDv24n1Ab135 (poster).
- CO-150 Le Danvic C, Cornard JP, **Ponsart C**, Nagnan-Le Meillour P. Identification and characterization of four bovine Odorant-Binding protein isoforms, 2012. In : 28th Annual Meeting of International Society of Chemical Ecology (ISCE), Vilnius (Lithuanie), 22-26 juillet 2012.
- CO-151 Le Danvic C, Gérard O, Sellem E, Joly C, Ponsart C, Chemineau P, Humblot P, Nagnan-Le Meillour P, 2012. Identification and characterization of four bovine Odorant-Binding protein isoforms, Association for Applied Animal Andrology (AAAA). Vancouver, Canada, 28-29 July, 2012 (poster).
- CO-152 Martin O, Blanc F, Agabriel J, Disenhaus C, Dupont J, **Ponsart C**, Paccard P, Pires J, Freret S, Elis S, Gatien J, Salvetti P, Friggens, 2012. A bovine reproductive physiology model to predict interactions between nutritional status and reproductive management. *Can J Anim Sci*, 92: 557. doi:10.414/CJAS2012-505.
- CO-153 **Ponsart C**, Dion F, 2012. Compte-rendu du Séminaire scientifique sur la gestion du virus Schmallenberg organisé par la Commission européenne, Bruxelles, 02 avril 2012, 10 pages. <http://www.gds18.org/viruschmallenberg/fichier%20pdf/CRseminaireSBV020412.pdf>
- CO-154 Salvetti P, Freret S, Gatien J, Humblot P, **Ponsart C**, 2012. Genetic and environment factors as leverage effects on fertility at first service Holstein cows together with milk production and insemination conditions. Proceedings of the 17th International congress on Animal Reproduction (ICAR), Vancouver, Canada, 29 juillet-02 août 2012. *Reprod. Dom Anim.*, 47 suppl.4, 425.

## 2013

- CO-155 Cordova A, Perreau C, Schmaltz-Panneau B, Doret S, Corbin E, Locatelli Y, Usvekova S, **Ponsart C**, Mermillod P, 2013. Bovine in vitro produced embryos induce modifications of gene expression profile of bovine oviduct epithelial cells in vitro. In : 29th Scientific Meeting of AETE, 6-7 septembre 2013, Istanbul, p. 116 (oral communication ; winner of the student competition).
- CO-156 Cordova A, Perreau C, Schmaltz-Panneau B, Locatelli Y, **Ponsart C**, Mermillod P, 2013. Mise en évidence d'un dialogue moléculaire et fonctionnel entre l'embryon préimplantatoire bovin et l'oviducte grâce à un modèle in vitro, 18<sup>ème</sup> journée de la Fédération Française pour l'Etude de la Reproduction, 26 septembre 2013, Rouen. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 41(9):537–539.
- CO-157 Gamarra G, **Ponsart C**, Lacaze S, Leguienne B, Monniaux D, Ponter AA, 2013. Superovulatory response and oocyte recovery after ovum pick up in feed restricted heifers with two profiles of AMH. In : 29th Scientific Meeting of AETE, 6-7 septembre 2013, Istanbul, p. 140 (oral communication).
- CO-158 Le Bourhis D, Di Scala D, Richet L, Gamarra G, **Ponsart C**, Lacaze S, 2013. Sex and K-Casein multiplex analysis from biopsied bovine embryos. In : 29th Scientific Meeting of AETE, 6-7 septembre 2013, Istanbul, p. 170.
- CO-159 Touzard E, Reinaud P, Dubois O, Joly-Guyader C, Humblot P, **Ponsart C**, Charpigny G, 2013. Bovine pregnancy-associated glycoproteins are allocated to cotyledonary or intercotyledonary trophoblast according to their phylogenetic origin. Annual Conference of the International Embryo Transfer Society, 19-22 janvier 2013, Hannover (DEU). In : Proceedings of the Annual Conference of the International Embryo Transfer Society - IETS 2013 abstracts. Collingwood (AUS) : CSIRO Publishing. *Reproduction, Fertility and Development*, 25 (1): 197-198.

## 2014

- CO-160 Gamarra G, **Ponsart C**, Lacaze S, Le Guienne B, Humblot P, Deloche MC, Monniaux D, Ponter AA. Ovum pick up and in vitro embryo production following propylene glycol diet in heifers differing in their AMH

profiles. 30ème Colloque Scientifique de l'Association Européenne de Transfert Embryonnaire (AETE). [Oral] Dresden, Germany; 2014. p. 104.

CO-161 Laloy E, Riou M, Pozzi N, Bréard E, Barc C, Breton S, Delaunay R, Raimbourg M, **Ponsart C**, Trapp S, Zientara S, 2014. Evaluation of the in utero infection caused by SBV on goats. 8th Annual EPIZONE meeting, 23-25 September 2014, Copenhagen, Denmark.

CO-162 **Ponsart C**, Gamarra G, Lacaze S, Ponter AA, 2014. Nutritional status of donor of cows: insulin related strategies to enhance embryo development In: 28th Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE), August 29th to September 1st, 2014, Natal, Brazil, p 195-198.

## 6.5 Conférences invitées : manifestations régionales, nationales, internationales (CI)

### 1999

CI-1 Ponsart C, 1999. Epidémiologie de l'infécondité en élevage laitier: outils statistiques. In: Journée A.E.R.A. (Association pour l'étude de la reproduction animale). «Méthodologie d'abord des problèmes d'infécondité chez la vache laitière». Maisons-Alfort, 28 janvier 1999. p. 17-30.

### 2000

CI-2 **Ponsart C**, Delcroix P, Rohou A, Jupin L, Humblot P, 2000. Sources of variation of pregnancy rates after transfer of bovine embryos. In : 14th International Congress on Animal Reproduction", Stockholm (Suède) (2-6 Juillet 2000). Vol. 1, p. 122 (poster).

### 2001

CI-3 Le Tallec B, **Ponsart C**, Guérin B, 2001. Risks of transmissible disease in relation to embryo transfer. In : 17ème réunion A.E.T.E, Lyon (France), 7-8 Sept. 2001. p. 71-81.

### 2002

CI-4 Ponsart C, 2003. « L'ovulation : contrôle endogène et exogène », 7<sup>ème</sup> journée scientifique de la physio, INRA de Nouzilly, 20 mars 2003 (sans actes)

CI-5 **Ponsart C**, Caplin S, Humblot P, 2003. Bilan chiffré des inséminations animales, transferts d'embryons et autres techniques chez les différentes espèces. In : A.E.R.A. (Association pour l'Etude de la Reproduction Animale), Les techniques de reproduction artificielle de la paillasse à la paille en passant par la paillette : les nouveautés. Maisons-Alfort, France, 2 décembre 2003. p. 5-12.

### 2004

CI-6 **Ponsart C**, Gérard O, Caplin S, 2004. L'insémination: historique, état des lieux chez l'animal. In: 35ème Journée thématique de la S.F.E.F. «Insémination intrautérine: quand, comment, pour qui, pourquoi?». Paris (Carré des Sciences), 17 mai 2004. In Gynécologie Obstétrique , Fertilité, 32, p. 880-886.

CI-7 **Ponsart C**, Malafosse A, Humblot P, 2004. Fertility at first: the french integrated research program on fertility. In: 34th ICAR Session and INTERBULL MEETING, Sousse, Tunisie, 28 mai-3 juin 2004. Non paginé.

CI-8 **Ponsart C**, Marquant-Le Guienne B, Humblot P, 2004. Les biotechnologies de l'embryon bovin, évolution et perspectives. In : 11èmes Rencontre Recherche Ruminants (3R). 8-9 décembre 2004, Paris (France). p. 361-368.

CI-9 Tissier M, **Ponsart C**, Regaldo D, Mervant G, Humblot P, 2004. Respective impacts of ET and OPU/IVP on genetic selection efficiency in the Montbeliarde breed. In: 20ème Colloque A.E.T.E., Lyon, France, 10-11 septembre 2004. p. 1-8.

### 2005

CI-10 Malafosse A, **Ponsart C**, Gastinel PL, 2005. Le coût de l'investissement génétique. In : Colloque AERA (Association pour l'étude de la reproduction animale). Economie et reproduction en élevage bovin laitier. Maisons-Alfort, 6 décembre 2005. p. 35-51.

### 2007

CI-11 **Ponsart C**, Frappat B, Le Mezec P, Freret S, Seegers H, Paccard P, Humblot P. Une palette d'outils pour améliorer la reproduction des vaches laitières = A wide range of tools to improve reproduction in dairy cows. In: 14èmes Journées 3R (Renc. Rech. Ruminants), Paris, 5-6 décembre 2007. p. 351-358.

### 2008

CI-12 Gérard O, **Ponsart C**, Petit M, Humblot P, 2008. Evolution des techniques de préparation de la semence et d'insémination artificielle chez les bovins. In: 15èmes Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants (3R), Paris, 3-4

CI-13 Humblot P, Grimard B, Freret S, Charpigny G, Ponter AA, Seegers H, **Ponsart C**, 2008. Impact of energy balance on metabolic changes and reproductive tissues ; consequences for ovarian activity and fertility in dairy and beef cattle. In : Recent Advances in Animal Nutrition. Eds P.C. Garnsworthy and J. Wiseman). Nottingham University Press, Nottingham, 2008. p. 1-14. ISBN 978-1-904761-044.

CI-14 **Ponsart C**, Frappat B, Barbat A, Le Mezec P, Fréret S, Seegers H, Paccard F, Humblot P, 2008. A wide range of tools to improve reproduction in dairy cows. In : XXV World Buiatrics Congress, 6-11 juillet 2008, Budapest (Hongrie). p. 76-87

CI-15 **Ponsart C**, Fréret S, Seegers H, Paccard P, Humblot P, 2008. Epidemiological approach of nutritional factors influencing dairy cow fertility during the dry and postpartum periods. In : XXV World Buiatrics Congress, 6-11 juillet 2008, Budapest (Hongrie), p194-202.

## 2009

CI-16 Humblot P, Fréret S, **Ponsart C**, 2009. Epidemiology of Embryonic Mortality in Cattle; practical implications for AI and Embryo production. CETA/ACTE & AETA Joint Scientific Convention, Montréal, Québec, Canada, 17-19 septembre 2009.

CI-17 Humblot P, Le Bourhis D, Fritz S, Colleau JJ, Gonzalez C, Guyader-Joly C, Malafosse A, Heyman Y, Amigues Y, Tissier M, **Ponsart C**, 2009. Use of reproductive technologies and embryo typing for genomic selection in the bovine. In : American Embryo Transfer Association, Montréal (Canada) 17th - 19th September, p. 103-108 (invited speaker).

## 2010

CI-18 Blanc F, Paccard P, Gatien J, De la Torre A, **Ponsart C**, Egal D, Krauss D, Delval E, Agabriel J, 2010. Caractérisation de l'oestrus chez la vache allaitante quantification des manifestations comportementales et facteurs de variation. In: Colloque AERA (Association pour l'Etude de la Reproduction Animale), «Détection et suivi de l'oestrus : un sujet vieux comme l'élevage, mais avec des nouveautés». Maisons-Alfort (France), 16 décembre 2010. p.21-32..

CI-19 Disenhaus C, Cutullic E, Fréret S, Paccard P, **Ponsart C**. Vers une cohérence des pratiques de détection des chaleurs: intégrer la vache, l'éleveur et le système d'élevage. In: 17<sup>èmes</sup> Rencontres autour des recherches sur les Ruminants (3R), 8-9 décembre 2010, Paris (France). p. 113-120.

CI-20 Humblot P, Le Bourhis D, Fritz S, Colleau JJ, Gonzalez C, Guyader JC, Malafosse A, Heyman Y, Amigues Y, Tissier M, **Ponsart C**, 2010. Reproductive technologies and genomic selection in the bovine. In : 26ème Colloque de l'A.E.T.E., 10-11 septembre 2010, Kuopio (Finlande), p. 105-117 (invited speaker).

CI-21 Philipot JM, Chevallier A, Krauss D, Noël T, Pery C, Trou G, Descombes M, Le Guenic M, Jouanne D, **Ponsart C**, Gatien J, Vinet A, Paccard P, 2010. HEATIME®, de la détection électronique des chaleurs au monitoring global de l'élevage: études en conditions expérimentales. In: Colloque AERA (Association pour l'Etude de la Reproduction Animale), «Détection et suivi de l'oestrus : un sujet vieux comme l'élevage, mais avec des nouveautés». Maisons-Alfort (France), 16 décembre 2010. p.47-54.

CI-22 **Ponsart C**, Frappat B, Seegers H, Freret S, Paccard P, Gatien J, Xavier D, Humblot P, 2010. A wide range of tools to improve Reproduction in dairy cattle. In : ICAR Technical Series no. 14. farm animal breeding, Identification, production recording and management. Proceedings of the 37th ICAR Biennial Session, Riga, Lettonie (31 mai-4 juin 2010). Editors: E. Skujina, E. Galvanoska, O. Leray & C. Mosconi. p. 1931 ; 37-46.

CI-23 **Ponsart C**, Gatien J, Le Mezec P, Mounaix B, Pozzi N, Guérin B, 2010. Fièvre catarrhale ovine et reproduction chez la femelle. Réunion d'information et d'échanges sur la restitution des résultats de la recherche opérationnelle FCO en France, 18 mars 2010, siège de l' Afssa, Maisons-Alfort, France ; résumé : <http://www.rfsa.net/MANIFESTATIONS/2010/Resumes/CP.pdf> ; présentation : [http://www.rfsa.net/MANIFESTATIONS/2010/Presentations/REU\\_100318\\_RFSA\\_FCO.pdf](http://www.rfsa.net/MANIFESTATIONS/2010/Presentations/REU_100318_RFSA_FCO.pdf)

CI-24 Salvetti P, Fréret S, **Ponsart C**, 2010. Gestion de la détection des oestrus et du moment des IA. In: Colloque AERA (Association pour l'Etude de la Reproduction Animale), «Détection et suivi de l'oestrus : un sujet vieux comme l'élevage, mais avec des nouveautés». Maisons-Alfort (France), 16 décembre 2010. p.33-46 (invited speaker).

## 2011

CI-25 Angulo L, Perreau C, Auclair S, Joly C, **Ponsart C**, Humblot P, Dalbies-Tran R, 2011. ARNs maternels liés à la compétence au développement de l'ovocyte bovin: du phénotype aux gènes, d'un gène à sa fonction. In: «16èmes Journées Thésard Nouzilly PRC», Nouzilly, 30-31 mai 2011. Poster 2. (sans actes)

CI-26 Cordova A, Panneau B, Perreau C, Tsikis G, Martinot E, Locatelli Y, **Ponsart C**, Mermillod P, 2011. Caractérisation du dialogue oviducte-embryon chez le bovin et de son rôle dans le succès du développement embryonnaire précoce. In: «16èmes Journées Thésard Nouzilly PRC», Nouzilly, 30-31 mai 2011 (sans actes).

CI-27 **Ponsart C**, Dalbies-Tran R, Hue I, Druart X, Duranthon V, Dupont J, Boussaha M, Jammes H, Uzbekova S, Nuttinck F, Charpigny G, Joly C, Le Guienne B, Fritz S, Salvetti P, Capitan A, Grimard B, Humblot P, Sandra O, Mermillod P, 2011. Apport de la génomique pour l'étude de la fertilité femelle bovine. In: 18èmes journées 3R (Rencontres Recherches Ruminants), 7-8 décembre 2011, Paris. p. 335-338.

CI-28 **Ponsart C**, Dalbies-Tran R, Hue I, Druart X, Duranthon V, Dupont J, Jammes H, Uzbekova S, Nuttinck F, Charpigny G, Joly C, Le Guienne B, Salvetti P, Capitan A, Grimard B, Humblot P, Sandra O, Mermillod P, 2011. Phenotyping the reproduction function in cattle: inputs from functional genomics and epigenetics. In : General Assembly and Annual Workshop of ICAR 2011. "New technologies and new challenges for breeding

and herd management". Bourg-en-Bresse (France), 22-24 juin 2011. p. 25, <http://www.icar.org/Documents/Bourg-en-Bresse2011/Presentations/session%20%20-%2022%20pm/S2d-Claire%20PONSART.pdf> (invited speaker).

## 2012

CI-29 **Ponsart C**, 2012. In Vitro Fertilization in Europe : what's new in the age of genomics ? In : 16th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal (ESDAR), 29 août et 1er septembre 2012, Dublin (Irlande). Hoboken (USA) : John Wiley & Sons (Reproduction in Domestic Animals, 47 (s5), 59-60 (conference invitée).

CI-30 **Ponsart C**, Le Bourhis D, Knijn H, Fritz S, Joly C, Otter T, Lacaze S, Charreaux F, Dupassieux D, Mullaart E. Embryo genotyping : From DNA amplification to field implementation. In : 28th Scientific Meeting of the European Embryo Transfer Association (AETE) ; 28ème Colloque scientifique de l'AETE, 6-8 septembre 2012. Saint-Malo (France), p 88-95.

## 2013

CI-31 Cordova A, Perreau C, Schmaltz-Panneau B, Locatelli Y, **Ponsart C**, Mermillod P, 2013. Mise en évidence d'un dialogue moléculaire et fonctionnel entre l'embryon préimplantatoire bovin et l'oviducte grâce à un modèle in vitro, 18<sup>ème</sup> journée de la Fédération Française pour l'Etude de la Reproduction, 26 septembre 2013, Rouen. Gynécologie Obstétrique & Fertilité, 41(9):537–539.

CI-32 **Ponsart C**, Le Bourhis D, Fritz S, Gonzalez C, Guyader-Joly C, 2013. Perspectives of using genomic selection on the cryopreserved embryo. Workshop of the 27th Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE), August 29th to September 1st, 2013, Praia do Forte, BA, Brazil (sans actes, diaporama).

CI-33 **Ponsart C**, Pozzi N, 2013. Sanitary requirements for bovine gametes and embryos in international trade ; Proceedings of the 27th Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE), August 29th to September 1st, 2013, Praia do Forte, BA, Brazil.

CI-34 **Ponsart C**, Pozzi N, Gérard O, 2013. AI International Market : trends and norms for trading. In: 27th Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE), August 29th to September 1st, 2013, Praia do Forte, BA, Brazil (sans actes, diaporama).

## 2014

CI-35 **Ponsart C**, Le Bourhis D, Benoit M, Barbier S. Du diagnostic préimplantatoire au suivi de troupeau: Que peut apporter la génomique aux éleveurs? Bull Acad Vet Fr. 2014;167:119-30

CI-36 **Ponsart C**, Le Bourhis D, Knijn H, Fritz S, Guyader-Joly C, Otter T, Lacaze S, Charreaux F, Schibler L, Dupassieux D, Mullaart E, 2014. Reproductive technologies and genomic selection in dairy cattle. In : Proceedings of the Annual Conference of the International Embryo Transfer Society, Reno, Nevada, USA, janvier 2014. Reproduction Fertility and Development, 26(1):12-21. doi: 10.1071/RD13328.

CI-37 **Ponsart C**. Genotyping of embryos and use of embryo technology in animal breeding. Summer Graduate School in Biomedicine and Biotechnology "Embryology" Estonian University of Life Sciences.; septembre 2014 (sans actes).

CI-38 **Ponsart C**, Jaÿ M, Mick V (2014) Introduction of brucellosis control strategies in France and Europe. International Conference on Brucellosis, Qingdao, China (People Rep), 30-31/10/14 (sans actes)

CI-39 **Ponsart C**, Jaÿ M, Mick V (2014) Diagnosis and vaccines of brucellosis. International Conference on Brucellosis, Qingdao, China (People Rep), 30-31/10/14 (sans actes).

## 2015

CI-40 Jay M, **Ponsart C**, Mick V, 2015. "Overview of brucellosis situation in EU". National conference on Brucellosis, Teramo, Italy, 26-27 Feb. 2015.

CI-41 **Ponsart C**, Drapeau A, Perrot L, Jaÿ M, 2015. Diagnosis of animal brucellosis : standardisation and quality controls. Seminar on Brucellosis surveillance and control; 27-28 novembre 2015. Qingdao, China 2015.

CI-42 **Ponsart C**, 2015. Semences et embryons : la transmission verticale du virus. Séminaire du RFSa sur le virus Schmallenberg, Maisons-Alfort, 28 janvier 2015, <https://www.anses.fr/fr/system/files/Schmallenberg-150128Ponsart.pdf>

CI-43 Zientara S, **Ponsart C**, 2015. Viral emergence and consequences for reproductive performance in ruminants: two recent examples (bluetongue and Schmallenberg viruses). 41st Annual Conference of the IETS, Versailles, 10-13 January 2015, [http://www.iets.org/2015/Safe\\_International\\_Trade\\_In\\_Embryos\\_eng\\_cp.pdf](http://www.iets.org/2015/Safe_International_Trade_In_Embryos_eng_cp.pdf) (published in 2014, Reprod. Fertil. Dev. 27, 63–71 ; <http://dx.doi.org/10.1071/RD14367>).



## 6.6 Thèses ou mémoires diplômants (TH, soutenus par le candidat)

- TH-1 **Ponsart, C**, 1996. Contribution à l'étude des facteurs de variation de la réussite du traitement de maîtrise des cycles chez la vache Charolaise. Thèse Doctorat : Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, 11 avril 1996, 74 pages.
- TH-2 **Ponsart C**, 2000. Effets d'une restriction alimentaire après vêlage chez la vache allaitante sur la fertilité à l'oestrus induit, la sécrétion de LH et l'activité ovarienne. Liens avec le métabolisme énergétique et intérêt d'une supplémentation énergétique avant la mise à la reproduction. Nancy I : Université Henri Poincaré, 11 février 2000. 148 pages.

## 6.7 Brevets et logiciels (L)

- L-1 **Ponsart C**, 2009. Estimation économique de non atteinte de l'objectif de reproduction (EER). UNCEIA Département R&D, Groupe Fertilité femelle. Projet REPRO PILOTE, août 2009 (Tableau EXCEL interactif).
- L-2 DETOESTRUS, 2011. Support informatique laitier pour le diagnostic, programme CASDAR, novembre 2011. <http://idele.fr/metiers/parteneriat-r-d/umt-sante-des-bovins/publication/idelesolr/recommends/la-methode-de-diagnostic-conseil-detoestrus.html>
- L-3 DETOESTRUS, 2011. Support informatique allaitant pour le diagnostic, programme CASDAR, novembre 2011. <http://idele.fr/metiers/parteneriat-r-d/umt-sante-des-bovins/publication/idelesolr/recommends/la-methode-de-diagnostic-conseil-detoestrus.html>

## 6.9 Documents à diffusion restreinte (D)

### 2003

- D-1 **Ponsart C**, Chevallier A, 2003. Etude de l'effet d'un apport d'oligo-éléments chélatés sur les performances zootechniques en troupeau laitier. Rapport de l'étude SERFACTEC-URCO-UNCEIA, mars 2003. Document confidentiel, 38 pages.

### 2004

- D-2 Le Guienne B, **Ponsart C**, 2004. Compte-rendu du déplacement aux Pays-Bas, du 20 au 23 avril 2004. Diffusion interne, 10 pages.

### 2005

- D-3 **Ponsart C**, Grimard B, 2005. Comparaison du protocole Crestar® au protocole GnRH-Crestar-Prostaglandine-PMSG chez la vache laitière. Rapport final de l'étude INTERVET, AGIRE, CEIA DOUBS, URCEO, ENVA, UNCEIA, août 2005. Document confidentiel, 13 pages.
- D-4 Freret S, **Ponsart C**, 2005. Expérimentation PRID sans œstradiol sur génisses et vaches de races à viande. Rapport final de l'étude CEVA Santé Animale BIG / GENETICA / CELVIA / COPELISO / L'AIGLE / URCO UNCEIA Département R & D, septembre 2005. Document confidentiel, 11 pages.
- D-5 Le Guienne B, Joly C, **Ponsart C**, Freret S, Humblot P, 2005. Rapport d'auto-évaluation : programme embryon-voie génétique. UNCEIA Département R & D, janvier 2005. Document confidentiel, 40 pages.
- D-6 **Ponsart C**, Le Guienne B, Joly C, Freret S, Jeanguyot N, Humblot P, 2005. Rapport d'auto-évaluation : programme fertilité femelle. UNCEIA Département R & D, décembre 2005. Document confidentiel, 49 pages.

### 2006

- D-7 **Ponsart C**, Joly C, 2006. Compte-rendu de la visite de la station de Masterrind, Nüchel, 25 et 26 mai 2009. Diffusion interne, 10 pages.
- D-8 **Ponsart C**, Grimard B, 2006. Comparaison des taux de gestation après traitement de maîtrise des cycles CRESTAR SO® suivi d'1 ou 2 inséminations systématiques. Rapport final de l'étude CECNA / INTERVET / ENVA / UNCEIA, septembre 2006. Document confidentiel, 7 pages.

### 2007

- D-9 **Ponsart C**, Deloche MC, Grimard B, Humblot P, 2007. Comparaison de la fertilité à l'oestrus induit obtenue avec la méthode Crestar SO après injection de Buséreline ou d'hCG le jour de la pose de l'implant chez des génisses Holstein. Rapport final de l'étude CECNA / INTERVET / ENVA / UNCEIA, novembre 2007. Document confidentiel, 9 pages.

## 2009

- D-10 Gatien J, Le Guienne B, Ponsart C, 2009. Compte-rendu du 13ème congrès de l'ESDAR du 11 au 12 septembre 2009, Ghent, Belgique. Diffusion au groupe fertilité femelle de l'UNCEIA. Repronews n°6/2009, décembre 2009, 6 pages.
- D-11 Gatien J, **Ponsart C**, 2009. Compte-rendu de la Journée Bovine Nantaise 1er octobre 2009, ENV Nantes. Diffusion au groupe fertilité femelle de l'UNCEIA. Repronews n°4/2009, décembre 2009, 9 pages.
- D-12 Gérard O, Charreaux F, **Ponsart C**, 2009. Compte rendu de visite à CRV, Deventer, Pays-bas, en novembre 2008. Diffusion interne, janvier 2009, 8 pages.
- D-13 **Ponsart C**, Gatien J, 2009. Expérimentation PRID sans œstradiolsur génisses et vaches de races Prim' Holstein, Blonde d'Aquitaine, Limousine et Charolaise. Rapport final de l'étude CEVA Santé Animale BIG / GENETICA / CELVIA / COPELSE / L'AIGLE / URCE UNCEIA Département R & D, avril 2009. Document confidentiel, 15 pages.
- D-14 **Ponsart C**, Gatien J, 2009. Expérimentation CIDR sur vaches et génisses laitières et allaitantes. Protocole 1 : Comparaison IA fixe et IA sur chaleurs observées. Rapport final de l'étude PFIZER Santé Animale / Amélie / CECNA / COPELSE / Groupe Altitude / URCEO / Géoé / UNCEIA Département R&D, juin 2009. Document confidentiel, 23 pages.
- D-15 **Ponsart C**, Gatien J, 2009. Expérimentation CIDR sur vaches et génisses laitières et allaitantes. Protocole 2 : Comparaison IA sur chaleurs naturelles et IA sur chaleurs induites observées. Rapport final de l'étude PFIZER Santé Animale / Amélie / CECNA / COPELSE / Groupe Altitude / URCEO / Géoé / UNCEIA Département R&D, juin 2009. Document confidentiel, 9 pages.

## 2010

- D-16 Joly C, **Ponsart C**, 2010. Congrès de l'AETE Kuopio, Finlande 10 & 11 Septembre 2010. La France à l'honneur et sur le devant de la scène. Embryonews n°7/2010. Diffusion groupe des équipes TE adhérentes à l'UNCEIA, septembre 2010, 3 pages.
- D-17 Le Guienne B, Ponsart C, 2010. IETS 2010 : les avancées en OPU-FIV. Embryonews n°4/2010. Diffusion groupe des équipes TE adhérentes à l'UNCEIA, 2010, 9 pages.
- D-18 **Ponsart C**, 2010. Elevage (laitier) de précision. Conférence de TORONTO, Precision dairy management. Diffusion au groupe fertilité femelle de l'UNCEIA. Repronews n°4/2010, avril 2010, 9 pages.
- D-19 Salvetti P, Gérard O, **Ponsart C**, 2010. Compte-rendu des congrès ESDAR et AI-Vets (15-18 septembre 2010, Eger, Hongrie). Diffusion au groupe fertilité femelle de l'UNCEIA. Lettre du 06/11/2010. Repro News (UNCEIA), 7:0-9.
- D-20 Salvetti P, **Ponsart C**, Guérin B, 2010. Fièvre Catarrhale Ovine : les actualités sur l'épidémiologie, la reproduction et la vaccination. Repronews n°4/2010, mars 2010, 4 pages.

## 2011

- D-21 Joly C, **Ponsart C**, 2011. Congrès de l'AETE Chester, Angleterre 9 & 10 Septembre 2011. Premier débriefing. Embryonews n°7/2011. Diffusion groupe des équipes TE adhérentes à l'UNCEIA, janvier 2011, 2 pages.
- D-22 Joly C, **Ponsart C**, 2011. IETS 2011 : Cryopréservation. Embryonews n°2/2011. Diffusion groupe des équipes TE adhérentes à l'UNCEIA, février 2011, 5 pages.
- D-23 **Ponsart C**, Joly C, 2011. Congrès de l'IETS 2011 : premier debriefing. Embryonews n°1/2011. Diffusion groupe des équipes TE adhérentes à l'UNCEIA, janvier 2011, 3 pages.

## 2012

- D-24 Le Guienne B, **Ponsart C**, 2012. IETS 2012 : forum des praticiens. Embryonews n°4/2012. Diffusion groupe des équipes TE adhérentes à l'UNCEIA, 5 pages.
- D-25 **Ponsart C**, 2012. Compte-rendu– Visite du 10/11/2012 à BOVITEQ. Diffusion interne, 9 pages.
- D-26 Salas-Cortes L, **Ponsart C**, Charpigny G, Donati R, 2012. Rapport des essais menés dans le cadre du contrat de prestation avec VEDALAB. Document confidentiel, 25 juillet 2012, 14 pages.

## 2014

- D-27 **Ponsart C**, Laroucau K, 2014. Projet 2015-2018 pour UZB. Document présenté à la Direction Générale de l'Anses, septembre 2014, 5 pages.

## 2016

- D-28 **Ponsart C**, Laroucau K, 2016. Projet scientifique de l'unité des zoonoses bactériennes. Evaluation collective 2011-2015, 20 pages.

## 6.9 Organisation de conférences nationales et internationales (O)

- O-1 **Ponsart C**, 2008. Organisation du congrès de l'AETE (Association européenne de transfert embryonnaire) à Pau, 12-13 septembre 2008. Recherche des sponsors ; accueil de 150 participants européens, organisation de l'évènement (4 sessions scientifiques, 2 workshop, 60 posters) avec le comité local d'organisation Patrice Humblot, Serge Lacaze, Claire Ponsart, co-animation d'une session scientifique et d'un workshop. Voir AETE Newsletter N°30, <http://www.aete.eu/index.php/pdf-newsletters/103-aete-newsletter-n-30/file>
- O-2 **Ponsart C**, 2012. Organisation du congrès de l'AETE (Association européenne de transfert embryonnaire) à Saint-Malo, 7-8 septembre 2012. Recherche des sponsors, accueil de 170 participants européens, organisation de l'évènement (visite de la station de Saint Aubin du Cormier, 4 sessions scientifiques, 2 workshop, 60 posters) avec le comité local d'organisation : Hélène Quinton, Frédéric Charreaux et Claire Ponsart, co-animation d'une session scientifique et assemblée générale de l'Association (présidence 2010-2012). Voir AETE Newsletter N°38 <http://www.aete.eu/index.php/pdf-newsletters/111-aete-newsletter-no-38/file>
- O-3 **Ponsart C**, Merton S, 2013. Organisation du Practitioner's Forum titled "How Can ET Praxis Find its Feet in the Age of Genomics?" programmé lors du 39ème congrès IETS 2013 (Hannover, 19-22 janvier), invitation de 6 conférenciers présentant les situations des différents continents, conception et réalisation d'un diaporama interactif avec 36 boîtiers permettant d'analyser les réponses de la salle. Diaporama en ligne : [http://www.iets.org/pdf/Practitioners\\_Forum/Claire\\_Ponsart\\_Sybrand\\_Merton.pdf](http://www.iets.org/pdf/Practitioners_Forum/Claire_Ponsart_Sybrand_Merton.pdf)
- O-4 **Ponsart C**, 2013. Coordination d'une séance thématique de l'Académie vétérinaire de France "Génomique : de nouveaux outils pour un élevage durable" (4 interventions : Didier Boichard : Quel futur pour l'amélioration génétique chez les espèces domestiques ? ; Hélène Jammes : Epigénétique : une lecture du génome via des modifications stables / transitoires et transmissibles ; Claire Rogel-Gaillard : Microbiote intestinal : un compartiment à explorer chez les animaux d'élevage ; Claire Ponsart : Du diagnostic pré-implantatoire au suivi de troupeau : que peut apporter la génomique aux éleveurs ?). 28 novembre 2013, "Les Cordeliers", Paris, France. Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France, Tome 167.
- O-5 Duranthon V, **Ponsart C**, 2014. "*Reproductive Performance: At the Crossroads of Genetics and the Environment*". Coordination du programme scientifique de la 41<sup>ème</sup> conférence annuelle de l'IETS (International embryo Transfer Society), 10-13 janvier 2015, programme composé de 5 sessions scientifiques plénières. [http://www.iets.org/2015/2015\\_IETS\\_Preliminary\\_Program.pdf](http://www.iets.org/2015/2015_IETS_Preliminary_Program.pdf)
- O-6 **Ponsart C**, 2015. Organisation du PRESYMPOSIUM de la 41st conference annuelle de l'IETS (Versailles, 10-13 January 2015): "Safe international trade in embryos". Program Co-Chairs : M Thibier, S Zientara. World Organization for Animal Health (OIE) Headquarters, Paris, 10 January 2015. Objectifs: présenter aux services vétérinaires, aux professionnels de santé et acteurs de la filière transfert embryonnaire (TE), i) les développements récents du TE, ii) les défis sanitaires relatifs aux échanges d'embryons, iii) les connaissances actuelles sur les interactions embryons-pathogènes. Programme en ligne : [http://www.iets.org/2015/Safe\\_International\\_Trade\\_In\\_Embryos\\_eng\\_cp.pdf](http://www.iets.org/2015/Safe_International_Trade_In_Embryos_eng_cp.pdf)



## 6.10 Autres (AU)

### 2003

AU-1 Sécheresse : que peut-on faire pour vous être utile ? (plaquette A4, 2 pages, diffusion aux techniciens de CIA, 2000 exemplaires).

### 2005

AU-2 Une enquête sur les pratiques d'insémination, 2005. UNCEIA Département R&D, Groupe Fertilité femelle, Octobre 2005 (document 4 pages, diffusion aux techniciens de CIA, 2000 exemplaires).

### 2006

AU-3 NEC+REPRO, de nouvelles références à valoriser au quotidien, 2006. Programme PEP Rhône Alpes. UNCEIA Département Rhône Alpes. ELIACOOP, FIDOCL, UNCEIA R&D, Groupe Fertilité femelle ; [http://91.121.55.183/pepra/mydms/pep\\_bovins\\_lait/file\\_4e4a8895d6d0a.pdf](http://91.121.55.183/pepra/mydms/pep_bovins_lait/file_4e4a8895d6d0a.pdf) (document 4 pages).

AU-4 REPRO QUIZZ, 2006. 10 questions « autour de la vache » pour tester vos connaissances autour de l'insémination. BTIA N° 122, décembre 2006, p 32.

### 2007

AU-5 REPRO QUIZZ, 2007. Dix questions pour tester vos connaissances en reproduction bovine. Poster édité par UNCEIA, Salon international de l'Agriculture 2007 (poster).

AU-6 REPRO QUIZZ, 2007. 10 questions « Autour de l'élevage » pour tester vos connaissances sur la conduite de la reproduction et de l'alimentation. BTIA N° 123, mars 2007, p 32.

AU-7 REPRO QUIZZ, 2007. 10 questions « Autour des performances de reproduction », afin de mieux maîtriser les facteurs de variation de la fertilité et de la fécondité des vaches, BTIA N° 126, décembre 2007, p 35.

### 2008

AU-8 REPRO QUIZZ, 2008. 10 questions « Autour de la gestation ». BTIA N° 127, mars 2008, p 33.

AU-9 REPRO Posters, 2008. Principaux repères pour une reproduction réussie. Gamme de 6 posters axés sur la conduite de la reproduction par race (laitières et allaitantes), 4 posters décrivant les repères pour noter l'état corporel dans les races Holstein, Montbéliarde, Normande et les races allaitantes, 1 poster présentant les principaux repères physiologiques et anatomiques, 1 poster dédié au déroulement de la gestation et 1 poster dédié à l'impact de la FCO sur la reproduction. UNCEIA Département R&D, Groupe Fertilité femelle, septembre 2008 (gamme de 13 posters de format A0 ou A3).

AU-10 Les pratiques de détection des chaleurs en race Blonde d'Aquitaine, 2008. Enquêtes en élevages. Programme CASDAR DETOESTRUS. UNCEIA Département R&D, Groupe Fertilité femelle (document 4 pages).

### 2009

AU-11 Base de données des équipes TE adhérentes à l'UNCEIA, 2009. Conception, mise en place, collecte et analyses annuelle des données de TE, entre 2003 et 2009. UNCEIA, Département R&D, groupe des équipes TE (fichiers EXCEL).



## Annexe 7 : Participation en tant qu'examinateur à des jurys de soutenance de thèse d'université

Année	Doctorant(e)	Ecole Doctorale et laboratoire d'accueil	Titre de la thèse
2015	Cyril Viarouge	Ecole Pratique des Hautes Etudes (EPHE)	Mémoire d'EPHE : Développement d'outils moléculaires et sérologiques pour la détection et l'étude du virus de la maladie hémorragique épizootique
2014	Ashraf Alsaleh	Biologie Santé de Nantes., UPSP "Sécurité sanitaire des biotechnologies de la reproduction", ONIRIS, Nantes	Risques de transmission de <i>Coxiella burnetii</i> liés aux biotechnologies de la reproduction (les gamètes et les embryons en caprin)",
2013	Anaïs Carvalho	<b>UNIV.PARIS SUD</b> Laboratoire INRA/ENVA : BDR	Contribution à la caractérisation de l'expression, de la régulation et des rôles biologiques de STAT1 dans l'endomètre bovin au cours de la gestation précoce
2013	Eve Touzard	Université de Versailles Laboratoire INRA/ENVA : BDR	Caractérisation des Pregnancy-Associated-Glycoproteins (PAGà dans le trophoblaste bovin au cours de la gestation : expression, localisation cellulaire, glycosylation et fonction.
2013	Damien Valour	ABIES. Laboratoire INRA/ENVA : BDR	Apports de la transcriptomique à l'exploration des relations nutrition-reproduction chez la vache laitière
2012	Stéphanie Coyral Castel	Université de Tours Laboratoire INRA : PRC	Etude de la fertilité et du métabolisme des vaches laitières sélectionnées pour l'haplotype « fertil+ » ou « fertil- » à un QTL de fertilité situé sur le chromosome 3
2012	Beatriz Trigal	Université de Gijon (Espagne); laboratoire SERIDA (E GOMEZ)	Vitrification of in vitro produced embryos
2011	Maria Clemente Maltés	Faculté vétérinaire de Murcia. Laboratoire INIA (D RIZOS)	Maternal-embryonic interaction in cattle: the role of progesterone and embryo quality in conceptus elongation during maternal recognition of pregnancy.
2011	Dorothee Ledoux	ABIES. Laboratoire INRA/ENVA : BDR	Echecs précoces de gestation chez la vache laitière de race Holstein : incidences, implication dans la baisse de fertilité et facteurs de risque
2011	Simon Nusinovici	ED Biologie et Santé Nantes Laboratoire : BIOEPAR	Infection par le virus de la Bluetongue sérotype 8 et performances dans les troupeaux bovins laitiers
2010	Laure Deguillaume	ABIES. Laboratoire INRA/ENVA : BDR	L'inflammation génitale chez la vache
2010	Charlène Rico	Université de Tours. Laboratoire INRA : PRC	L'AMH : marqueur de la folliculogénèse ovarienne et prédicteur de la réponse ovulatoire à un traitement de superovulation chez la vache
2010	Mohamad Salhab	Université de Tours Laboratoire INRA : PRC	Transcriptome des cellules du cumulus : marqueurs de compétence de développement embryonnaire



## Annexe 8 : Préparation de l'atelier « Tractus génital » proposé dans le cadre des réunions participatives « Réussir l'IA ensemble » [Annexe 3.4, T-8]

Quoi faire	Quoi montrer plus particulièrement	Que faire faire
Disposer et étaler un appareil génital complet de vache vide	Les différentes parties (vagin, utérus, cornes, ovaires), la taille réduite de l'utérus	Situer l'appareil génital « dans la vache » ; Désigner les différentes parties. Indiquer ce qui se passe dans les différentes parties ; Repérer le col, les ovaires
Ouvrir l'appareil génital (vagin, col, utérus)	Les muqueuses différentes du vagin et de l'utérus (sensibilité à l'infection) Les anneaux du col	Passer un pistolet dans le col, montrer le trajet des spermatozoïdes dans le tractus (les nombres)
Présenter l'oviducte et la trompe utérine	Sa structure, sa taille Les différentes parties, le lieu de la fécondation, l'ovulation, les risques d'adhérence	Retrouver l'oviducte dans un tractus génital
Présenter et disséquer un ovaire	Les étapes de la croissance folliculaire, la taille du corps jaune → Indiquer à quoi servent les différentes structures, quelles hormones elles secrètent	Faire palper les ovaires pour sentir un follicule, un corps jaune (« bouchon de champagne »)
Présenter des matrices à différents stades de gestation et ouvrir les matrices	Montrer la taille, la dissymétrie des cornes Montrer l'embryon, le fœtus, les enveloppes, indiquer leur rôle	Faire palper pour montrer comment on fait un constat de gestation Faire séparer les caroncules des cotylédons



# Annexe 9 : Poster illustrant les repères anatomiques et physiologiques du tractus « REPRO Poster : Autour du tractus génital de la vache » [Annexe 6.10, AU-9]

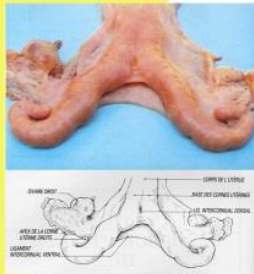


## Autour du tractus génital de la vache

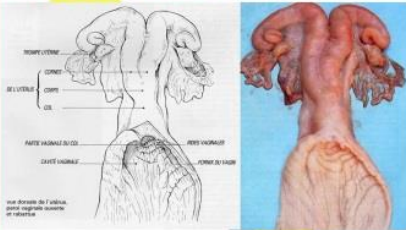
### Repères anatomiques

Le tractus génital présente 4 segments distincts : le vagin (lieu de la copulation), l'utérus (lieu de l'implantation de l'embryon), les oviductes (trompes utérines, lieu de la fécondation) et les ovaires.

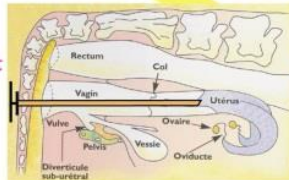
utérus vu de face



utérus vu de dessus



Position du pistolet d'IA



### Repères physiologiques

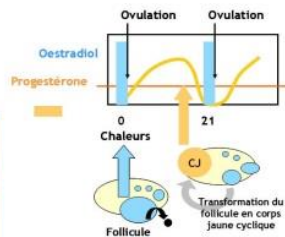
#### 1 Cyclicité

Qu'est-ce que le cycle oestral ?

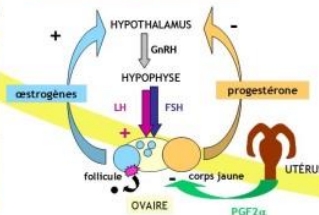
Ensemble des modifications qui témoignent du fonctionnement cyclique de l'ovaire

- Comportementales → éleveur
- Anatomiques → technicien
- Physiologiques → laboratoire

Durée moyenne = 21 jours (18-24 j)  
-Phase lutéale (17-19 j) → Progesterone  
-Phase folliculaire courte (3-4 j) → Oestradiol → ovulation  
2 à 3 vagues de croissance folliculaire



Quels organes régulent la fonction de reproduction ?

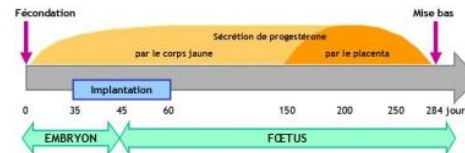


Après la puberté, **cyclicité**, gestation et **anoestrus** post-partum se succèdent

#### 2 Gestation

Période comprise entre la fécondation et la mise-bas

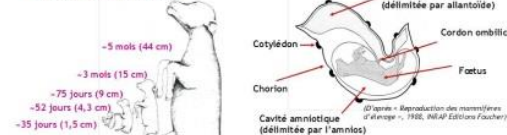
- Durée moyenne = 9 mois et une semaine (≠ entre races)
- Chronologie
- Vie libre de l'embryon dans l'utérus au cours des 1ères semaines
- Implantation progressive de l'embryon dans la corne utérine



L'embryon émet des signaux reconnus par l'utérus avant l'implantation



Croissance du fœtus et annexes fœtales



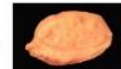
Protection et nutrition du fœtus :  
• Chorion = délivrance  
• Allantoïde = recueille l'urine fœtale, 1ère poche des eaux  
• Amnios = protège le fœtus, recycle les déchets solides de l'intestin (méconium), 2ème poche des eaux

#### 3 Post-partum

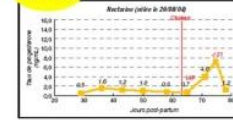
Période suivant le vêlage caractérisée par :

- L'involution utérine : retour progressif de l'utérus permettant une nouvelle gestation
- Le démarrage de la lactation
- La reprise de l'activité cyclique ovarienne après une phase d'anoestrus ± longue

Ovaire lisse = Anoestrus



10-15%





## Annexe 10: Dispositifs d'enquêtes en ferme mis en place par l'UNCEIA et données recueillies (Annexe 6.2, S4)

Groupes de facteurs	Dispositif d'enquête mis en place	Recueil des données
IA au mauvais moment Mortalités embryonnaires Taux de gestation Fécondité	- FERTILIA : 135 élevages Prim'holstein 15 EMP*, 2004-05 - NEC+REPRO : 10 élevages Prim'holstein ELIACOOP-FIDOCL-PEP-UNCEIA, 2004-06 - ENVN-KEENAN-VET'EL-UNCEIA : 2006-07	- Dosages de progestérone dans le lait le jour de l'insémination (J0) et 21 à 23 jours plus tard (J21) - IA de retours enregistrées - constat de gestation (CG) par dosage de PSPB, échographie ou palper
Conditions d'insémination	- FERTILIA	Conditions individuelles d'IA (date et heure, contention, technique) enregistrées par les inséminateurs (questionnaire individuel/IAP)
Reprise de cyclicité après vêlage	- NEC+REPRO - ENVN-KEENAN-VET'EL-UNCEIA	Dosages de progestérone dans le lait - NEC+REPRO : 1 fois/semaine J30-J80 PP - KEENAN : 2 fois/semaine J16-J60 PP
Détection, expression des chaleurs	- FERTILIA - NEC+REPRO	Pratiques (dates et heures de chaleurs, 1 <sup>ers</sup> signes observés, confirmation de la chaleur par d'autres signes ou non, appel de l'inséminateur) enregistrées par les éleveurs (1 questionnaire /chaleur)
Déficit énergétique après vêlage	- FERTILIA - NEC+REPRO - ENVN-KEENAN-VET'EL-UNCEIA	Données individuelles de production laitière + - FERTILIA : rationnement (calend. four, complémentation) - NEC+REPRO : suivi mensuel de l'état corporel - KEENAN : rationnement, état corporel, poids
Conduite du tarissement	- FERTILIA - ENVN-KEENAN-VET'EL-UNCEIA	Rationnement, durées de tarissement

\*(Agire, L'Aigle, Big, Ceia 32, Ceia 65, Ceiam, Ceila, Celvia, Cia 29, Cia 35, Cia 57, Coopelso, Genesia, Genetica, Urco)



## Annexe 11 : Synthèse des réalisations dédiées à l'enseignement et à la formation et publications scientifiques, entre 1998 et 2016

Type de réalisations	Catégorie	Annexe	Nombre de réalisations
Enseignement, formation	Articles à visée de vulgarisation (V)	3.1	89
	Chapitres d'ouvrages professionnels (OP)	3.2	1
	Conférences, communications à congrès professionnels (CP)	3.3	68
	Publications de transfert (T, méthodes, photocopiés)	3.4	16
	Diaporamas (REPRO Dia)	3.5	1
Publications scientifiques	Articles scientifiques à comité de lecture (A)	6.1	31
	Articles de synthèse à comité de lecture (S)	6.2	19
	Ouvrages (ou chapitres d'ouvrages, C)	6.3	5
	Communications avec actes dans des conférences scientifiques (CO)	6.4	162
	Conférences invitées (avec ou sans actes, CI)	6.5	43
	Thèses ou mémoires diplômants (TH)	6.6	2
	Logiciels, supports informatiques (L)	6.7	3
	Documents à diffusion restreinte (D)	6.8	28
Autres	Organisation de conférences scientifiques, workshop (O)	6.9	6
	Autres (plaquettes, posters, REPRO quizz, AU)	6.10	11



## Annexe 12 : Liste des programmes de recherche français (FR) et européens (EU) auxquels j'ai participé

Années	Programme	Financier	Partenaires français	Implication
2013-2016	FECUND	KBBE (EU)	INRA BDR / ENVA INRA PRC	Responsable des travaux menés par l'UNCEIA, en particulier recueil de données phénotypiques en station sur des donneuses (modèle génétique différencié)
2013-2016	PROLIFIC	KBBE (EU)	INRA PRC (coordinateur) INRA Clermont	Responsable des travaux menés par l'UNCEIA, en particulier recueil de données phénotypiques en station sur des donneuses (modèle d'alimentation restreinte)
2013-2016	VALOPROT	APIS-GENE (FR)	INRA PRC (coordinateur) UNCEIA	Rédaction du projet visant à développer des dosages et des applications issues de molécules au niveau plasmatique ou autre fluides d'intérêts (liquide folliculaire et milieux de culture) ainsi qu'au niveau de l'embryon chez la vache
2013-2013	EMMA2	APIS-GENE (FR)	INRA PRC (coordinateur) UNCEIA	Participation à la rédaction du projet visant à créer un catalogue des protéines sécrétées par les cellules épithéliales de l'oviducte et à produire un milieu de culture acellulaire (conditionné ou complété en protéines purifiées)
2012-2014	REPROBIO	CASDAR (FR)	INRA PRC (coordinateur) EVOLUTION, ITAB, WALLACE, UNCEIA	Responsable scientifique, du projet ; optimiser la gestion de la reproduction dans les élevages ovins et caprins engagés en Agriculture Biologique en développant des technologies innovantes dans la maîtrise de la reproduction: utilisation des phéromones en alternative à la synchronisation hormonale et validation de détecteurs automatisés de chaleurs.
2012-2014	REPROSEQ	APIS-GENE (FR)	UNCEIA (coordinateur)	Conception et rédaction d'un programme de séquençage et de valorisation des programmes de génomique fonctionnelle conduits dans le domaine de la reproduction des vaches laitières.
2012-2014	Virus Schmallenberg	DG SANCO (EU)	ANSES - ENVA INRA PFIE	Responsable des travaux menés par le LNCR sur l'étude de l'excrétion du virus de Schmallenberg dans la semence bovine et dans les embryons
2008-2011	MEETAC	ANR APIS-GENE (FR)	INRA BDR	Encadrement scientifique des équipes UNCEIA ; recueil de données phénotypiques en station
2007-2011	OVOGENAE2	ANR APIS-GENE (FR)	INRA PRC	Encadrement scientifique des équipes UNCEIA ; recueil de données phénotypiques en station + Thèse CIFRE
2006-2010	EMBRYOGEN	ANR APIS-GENE (FR)	INRA/ENVA/BDR	Recueil de données phénotypiques en station ; Réalisation de dosages de progestérone
2006-2009	GENIFER	ANR APIS-GENE (FR)	INRA BDR, GABI ENV	Encadrement des données phénotypiques recueillies en élevage (3500 phénotypes)
2008-2010	DETOESTRUS	ANR APIS-GENE (FR)	INRA/ENVA : BDR ENVN, IDELE INRA Clermont	Encadrement des enquêtes en élevage, participation aux travaux méthodologiques pour l'élaboration d'un outil de diagnostic conseil pour la détection des chaleurs
2004-2007	TYPAGENAE	ANR APIS-GENE (FR)	LABOGENA INRA GABI	Expertise relative au transfert d'embryons chez les bovins (collecte, biopsie, congélation) ; valorisation des travaux sur le génotypage des embryons



## Annexe 13 : Participation à différentes instances nationales entre 2010 et 2014 (Fonctions : Directrice scientifique de l'UNCEIA, Directrice du LNCR)

Institut	Instance
<b>ACERSA (LNCR)</b>	Comité de suivi et d'évaluation de l'ACERSA
<b>AFNOR</b>	Commission U47 A « Méthodes d'Analyse en Santé Animale » de l'AFNOR
<b>AGENAE (UNCEIA)</b>	Comité thématique ruminants et directoire opérationnel
<b>ANSES</b>	Comité d'Orientation Thématique en Santé Animale
<b>CRYOBANQUE</b>	Commission Scientifique ; Conseil scientifique de CRB Anim (suppléante)
<b>DGAL</b>	Suppléante au CNOPSAV section Santé animale Participation au groupe miroir DGAL - Loi de Santé Animale Participation au comité de pilotage Tuberculose Participation aux groupes Schmallenberg, Avortements de la plateforme ESA
<b>ENVA</b>	Conseil Scientifique ENVA
<b>INRA – Centre Val de Loire</b>	Conseil scientifique
<b>RFSA</b>	Comité de pilotage / groupes du Réseau Français Santé Animale