

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE – ALGER

المدرسة الوطنية للبيطرة - الجزائر

PROJET DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION

DU DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE

THEME

**ESSAIE DE TRANSFERT EMBRYONNAIRE CHEZ DES GENISSES DANS LA
REGION DE TIPAZA**

Présenté par : GUERROUCHE Adel

MOSTEFAÏ Bilel

Le jury :

- . Président : KHELAF. D..... Professeur ENSV
- . Promoteur : KAIDI .RProfesseur USDB
- . Examineur : BOUZID .R.....
- . Examineur : MESSAI .C.....

Année universitaire : 2012/2013

Remerciements

A notre très cher promoteur professeur KAIDI Rachid pour son attention et son aide et à qui on doit tous ce travail ; merci de nous avoir consacré votre temps que ça soit dans votre lieu de travail ou dans votre aimable demeure, merci ;

Je tiens à remercier notre jury qui nous a fait l'immense honneur d'examiner et de juger notre travail ;

L'une des personnes dont le nom devrait apparaître obligatoirement sur ce projet est celui d'IDRES Takfarinas, un frère avant d'être un ami, un ami avant d'être un enseignant, en résumé un guide qui nous a éclairé le chemin tout au long de notre travail, TAK merci infiniment pour ton soutien,

Dr ADEL Djalal, un homme exceptionnel avec une modestie incomparable, une source de savoir ouverte à tous ceux qui veulent apprendre d'avantage, merci pour votre contribution,

M.LAHYANI Ismail, merci pour l'accueil chaleureux dans votre aimable établissement

***GUERROUCHE Adel
MOSTEFAI Bilel***

Dédicaces

Ce petit travail que l'on a réalisé n'est rien d'autre qu'un simple projet de fin d'études pour certains, mais pour mes parents c'est le salut qu'ils attendaient depuis fort longtemps, avec toutes les misères et déceptions que je leurs ai fait subir durant mon enfance, je vous dédie ce travail en guise d'une once de gratitude même si je ne vous remercierai jamais assez pour votre amour, votre éducation, votre patience et surtout pour votre inestimable soutien; **PAPA, MAMAN**, votre fils vous remercie du fond du cœur et espère que ce travail vous rendra fière de lui;

A mon frère aîné **AMINE** qui m'a soutenu lui aussi durant les moments difficiles de mon cursus et qui a su être à l'écoute quand j'en avais le plus besoin ; sans oublier ma belle-sœur et mes deux petites nièces **LINA** et **SARAH**,

A ma sœur **SOUMIA**, sans qui ma vie n'aurait eu aucun sens, celle qui a su faire de mes jours des tranches de bonheur et des petites oasis de paradis, mon beau-frère et leur fils **MOHAMED CHIHAB**,

A ma petite sœur **NOUR EL HOUDA** qui me tapait sur les nerfs à sa douce manière, je n'ose imaginer ce qu'aurait été mon quotidien loin de toi,

A **YAHEN** merci pour tout, j'espère être présent pour toi comme tu n'as cessé de l'être pour moi, puisse ce modeste travail être le pionnier de plein d'autres qui viendront égayer un commun futur.

A **BILEL** mon binôme, mon ami, mon frère,

A tous mes amis(es) qui se reconnaîtront évidemment, vos noms seront gravés à jamais dans ma mémoire accompagnés de souvenirs inoubliables,

A **JELOULE** et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour rendre ces années d'études mémorables, merci.

ADEL

Dédicace

C'est avec une immense joie et un grand plaisir que je dédie ce modeste travail, à toute ma famille.

Plus particulièrement à mes très chers parents, qui ont éclairé ma route par leurs conseils, leurs sacrifices et leur affection ainsi que leur soutien moral et matériel.

A ma cher grande sœur et mon grand frère, à ma belle sœur, à mon adorable petit neveu Kenzy et à mon meilleur ami Mehdi.

A mon très cher binôme Adel et tous mes amis

Yusra Neila Meriem Islem Sabrina Kika Rym nassila... Noui Nadjib Chikos Moh Nassim Abdou Ryad Jeloul... et tous mes amis de l'école avec qui j'ai passé Cinq ans inoubliables.

Et enfin, à tous ceux et celles que j'estime sans que ma plume ne puisse les porter dans cette simple dédicace.

« Bilel »

Résumé

Le transfert embryonnaire est l'une des principales biotechnologies de la reproduction et représente la 2eme génération,

Dans ce but un lot de 3 génisse donneuses d'embryons ont été utilisé au moment de leurs arrivées à leur chaleur naturel en utilisant le protocole standard FSH32 (Stimufol ®) a double dose décroissante ; et l'utilisation de prostaglandine (Estrumate ®) ; l'observation des chaleurs l'insémination et la récolte on était réalisé 7jours plus tard. Les réponses au différents traitement ont été apprécié selon les critères suivants : intervalle PGF2 α – début de chaleur et le nombre de corps jaune palpé sur les ovaires ;

L'intervalle PGF2 α – début de chaleur était compris entre 40 et 48h, moyenne des corps jaune palpés était de 21 ; le taux de liquide récolté était de 81.18% ; aucun produit (embryon, ovocyte et zone pellucide vide) récolté.

Mots clés : transfert embryonnaire, superovulation, intervalle PGF2 α -début de chaleur, corps jaune palpés.

Abstract

Embryo transfer is one of major breeding biotechnology, the 2nd generation precisely;

For this purpose a set of 3 heifers embryo donor were used at the time of their natural heat using the standard protocol FSH32 (Stimufol ®) getting two decreasing dose during 4 days every day, and prostaglandin (Estrumate ®) at the 3rd day; heat observation insemination and harvest was made 7 days later. The responses to different treatment were determined according to the following criteria: PGF2 α interval - early heat and the number of corpora luteal palpated on the ovaries.

The interval PGF2 α - early heat was between 40 and 48h, average luteum palpated was 21; the rate of fluid collected was 81.18% and no product (embryo, oocyte and empty zona pellucida) harvested.

Keywords: embryo transfer, superovulation, interval PGF2 α -early heat corpora luteal palpated.

Résumé

ملخص:

نقل الأجنة واحد من أهم التكنولوجيات الحيوية للتكاثر و يمثل الحيل الثالث منها.

بهذا الصدد, استخدمت ثلاث عجل مانحة للأجنة و هذا عند وصول كل منها إلى شبقتها الطبيعي و عولجت ببروتوكول FSH32 (®STIMUFOL) مع PGF2 α (ESTRUMAT®), تمت معاينة شبق و التلقيح الاصطناعي ما بعد العلاج, أما حني الأجنة فقد تم بعد سبع أيام. تم تقدير الاستجابة لمختلف العلاجات حسب المعايير التالية: الفارق الزمني PGF2 α - ظهور الشبق و عدد الأجسام الصفراء الملموسة على المبيض .

الفارق بين PGF2 α - ظهور الشبق حصر بين 40 و 48 ساعة. معدل أجسام الصفراء الملموسة قدر ب 21 جسم, نسبة السوائل المسترجعة 81,18 % , أما في ما يخص المنتج فكان المحصول عقيم (لا جنين , لا بويضة و لا مناطق شفافة).

كلمات البحث: نقل الأجنة , فرط الاباضة , فارق PGF2 α - ظهور الشبق , الأجسام الصفراء الملموسة

Liste des abréviations

- A** : Androgènes
AETE : Agence européenne de transfert embryonnaire
AMH : Hormone antimüllérienne
BE : Bouton embryonnaire
CJ : Corps Jaune
CNIAAG : Centre national d'insémination artificielle et d'amélioration génétique
E₂ : Œstrogènes
eCG : Equin chorionic gonadotrophin
ET : Embryon transfer
FD : Follicules dominant
LBRA : Laboratoire des biotechnologies et des recherches liées à l'agronomie
FSH : Follicle stimulating hormone
GAP : Gonadotropine
GnRH : Gonadotrophin releasing hormone
h : Heure
hCG : Human chorionic gonadotrophin
hMG : Human menopausal gonadotrophin
IA : Insémination artificielle
FFPN :
IETS : International embryo transfer society
IGF : Insuline growth factor
IM : Injection en Intra musculaire
IV : Injection en Intra veineuse
j : Jour
LH : Luteinising hormone
mg : Milligramme
MOET : Multiple ovulation and embryo transfer
n° : Numéro
P₄ : Progestérone
PBS : Phosphate buffered saline
PG : Prostaglandine
Pgf2 α : Prostaglandine F2 α
PMSG : Pregnant mare serum gonadotrophin
SC : Injection en Sous cutanée
UI : Unite internationale
ZP : Zone pellucide

Liste des figures

Figure 01 :	<i>Intérêts du transfert embryonnaire (d'après Gordon, 1996).....</i>
Figure 02 :	<i>Différents types de follicules Figure</i>
Figure 03 :	<i>Ovocyte dans son follicule preovulatoire.....</i>
Figure 04 :	<i>Régulation de la folliculogénèse tonique, sécrétion de gonadotropines et facteurs de rétrocontrôle au cours des phases de recrutement, sélection et dominance</i>
Figure 05 :	<i>Représentation des principaux événements de la folliculogénèse terminale au cours de la phase folliculaire.....</i>
Figure 06 :	<i>Schéma de l'appareil génital femelle.....</i>
Figure 07 :	<i>Vagin artificiel pour bovins.....</i>
Figure 08 :	<i>Collecte par voie chirurgicale</i>
Figure 09 :	<i>Préparation pour l'injection épidurale en vue d'une collecte endo-cervicale</i>
Figure 10 :	<i>Introduction de la sonde Folley en vue d'une collecte endo cervicale</i>
Figure 11 :	<i>Injection du liquide de collecte.....</i>
Figure 12 :	<i>Récupération du liquide de collecte.....</i>
Figure 13 :	<i>Stabulation semi-entravée.....</i>
Figure 14 :	<i>Génisse ayant servi à l'essai.....</i>
Figure 15 :	<i>Schéma chronologique de l'expérimentation.....</i>
Figure 16 :	<i>Deuxième injection de FSH à 22h15).....</i>
Figure 17 :	<i>Palpation transrectale.....</i>
Figure 18 :	<i>Palpation transrectale en vue de l'appréciation du nombre de corps jaune</i>
Figure 19 :	<i>photo des matériels utilisés lors de la collecte</i>
Figure 20 :	<i>Nettoyage de la région péri-vulvaire.....</i>
Figure 21 :	<i>Essuyage de la région péri-vulvaire.....</i>
Figure 22 :	<i>Dilatation du col</i>
Figure 23 :	<i>introduction de la sonde FOLLEY.....</i>
Figure 24 :	<i>Plaque chauffante Minitube®</i>
Figure 25 :	<i>Loupe binoculaire inverser Nikon®.....</i>
Figure 26 :	<i>Milieu de transfert BoviPro Minitube®.....</i>
Figure 27 :	<i>Recherche des embryons dans le liquide récolté.....</i>

Liste des tableaux

- Tableau 01 :** Caractéristique du follicule à différents stades de son développement (DRIANCOURT *et al*, 2001 dans THIBAUT *et al*, 2001).....
- Tableau 02 :** Volume d'un éjaculat (ml) (IDRES, 2011)
- Tableau 03 :** Variations du volume de l'éjaculat avec l'âge (ALMQUIST *et al*, 1976 ; PEREZ *et al*, 1983).....
- Tableau 04 :** Aspect du sperme en fonction de sa concentration en spermatozoïdes (ROSENBERGER, 1979).....
- Tableau 05 :** Critère d'évaluation de la qualité du sperme chez le taureau (BORDAS *et al*, 1988).....
- Tableau 06 :** Protocole FSH-32.....
- Tableau 07 :** Critères d'appréciation et de classification des embryons.....
- Tableau 08 :** Intervalle PG-début des chaleurs
- Tableau 09 :** Nombre de corps jaune palpés.....
- Tableau 10 :** Taux de récupération du liquide injecté.....

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE.....	14
INTRODUCTION GENERALE	15
I. INTERETS DU TRANSFERT EMBRYONNAIRE CHEZ LA VACHE	15
II. HISTORIQUE DU TRANSFERT EMBRYONNAIRE CHEZ LA VACHE.....	17
II.1. Dans le monde.....	17
II.2. En Algérie.....	17
III. ANATOMIE DE L'APPAREIL GENITAL DE LA VACHE	19
III.1. Le sinus urogénital	19
III.2. Le vagin.....	19
III.3. L'utérus.....	20
III.4. L'oviducte.....	21
III.5. Les ovaires.....	21
IV. PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION CHEZ L'ESPECE BOVINE.....	23
IV.1. Puberté	23
IV.2. Cycle œstral	23
IV.3. Folliculogénèse	24
IV.3.1. Aspect morphologique de la folliculogénèse	24
IV.3.2. Phase de recrutement.....	25
IV.3.3. Phase de sélection.....	25
IV.3.4. Phase de dominance et évolution du follicule dominant.....	26
IV.3.5. Ovulation	27
IV.3.6. Notion de vague folliculaire	28
V. CHOIX DES ANIMAUX	29
V.1. Critères de choix de la donneuse	29
V.2. Critères de choix des receveuses	29
V.2.1. Choix de l'animal.....	29
V.2.1.1.La race.....	30
V.2.1.2.Les antécédents des animaux.....	30
V.2.1.3.La parité.....	30

Sommaire

V.2.1.4.L'état général des animaux.....	31
V.2.1.5.L'examen de l'appareil génital.	31
V.2.1.6.Aspect sanitaire	31
V.2.2. Le regroupement des animaux et leur préparation.....	32
V.2.2.1.La nutrition.....	32
V.2.2.2.L'environnement.....	32
V.2.2.3.Les critères de santé.....	32
VI. SYNCHRONISATIONS DES CHALEURS ET STIMULATION OVARIENNE.....	33
VI.1. Par double injection de prostaglandine	33
VI.1.1. Programme avec deux injections systématiques	33
VI.1.2. Programmes en une injection	34
VI.2. Utilisations de progestagènes	34
VI.2.1. Spirales vaginales	34
VI.2.2. Les implants	34
VII. LA SUPEROVULATION ET NATURES DES TRAITEMENTS HORMONAUX.....	35
VII.1. Gonadolibirine GNRH.....	35
VII.2. PMSG.....	36
VII.3. HMG.....	36
VII.4. Extraits hypophysaires (FSH).....	36
VIII. INSEMINATIONS DE LA DONNEUSE	38
VIII.1. Détections des chaleurs	38
VIII.2. Méthodes d'insémination	38
VIII.2.1. Inséminations naturelles ou saillie.....	38
VIII.2.2. Inséminations artificielles	38
VIII.2.2.1. Caractéristiques du sperme	39
VIII.2.2.2. Méthodes de prélèvements et d'analyse du sperme..	41
VIII.2.2.2.1. Méthodes des prélèvements.....	41
VIII.2.2.2.2. Analyse	41
VIII.2.2.3. Moment d'insémination	42
VIII.3. Processus de fécondation.....	43

IX.	RECOLTES, CONSERVATION DECONGELATION DES EMBRYONS.....	44
IX.1.	Récolte	44
IX.1.1.	Technique de récolte	44
IX.1.1.1.	Récolte invasive « chirurgicale »...44	
IX.1.1.2.	Récolte non invasive « endo-cervical »	45
IX.1.2.	Critères d'appréciation de la qualité des embryons	46
IX.2.	Conservation des embryons	46
IX.2.1.	Base de la cryobiologie	46
IX.2.2.	Milieux de conservation	47
IX.2.3.	Technique de conservation	47
IX.2.3.1.	Congélation lente	47
IX.3.	Décongélation et retrait du cryoprotecteur.....	48
X.	TRANSFERT EMBRYONNAIRE	49
	PARTIE EXPERIMENTALE	50
	Chapitre 1 : Matériels et méthode.....	51
I.	OBJECTIF DE L'ESSAI	52
II.	LIEU ET ETAPES DE L'ESSAI	52
II.1.	Lieu de l'essai	52
II.2.	Etapas de l'essai.....	53
II.2.1.	Superovulation, insémination des donneuses et appréciations de la réponse à la stimulation ovarienne	53
II.2.1.1.	Matériels, produits et techniques utilisés pour la superovulation.....	54
II.2.1.1.1.	Animaux.....	54
II.2.1.1.2.	Produits et protocole utilisés	54
II.2.1.1.3.	Insémination de la donneuse.....	57
II.2.1.2.	Appréciation de la réponse ovarienne par palpation transrectale.....	58

Sommaire

II.2.2. Récolte et manipulation des embryons	59
II.2.2.1. Matériels et produits utilisés.....	60
II.2.2.2. Techniques de récolte	61
II.2.2.3. Recherche et manipulation des embryons	64
II.2.2.3.1. Matériels et milieux utilisés	64
II.2.2.4. Appréciation et classification des embryons.....	66
Chapitre 02. Resultats et Discussions	67
I. INTRODUCTION.....	68
II. CHOIX DE LA DONNEUSE	68
III. TRAITEMENTS DE SUPEROVULATION	68
IV. INTERVALLE PG-DEBUT DES CHALEURS.....	68
V. LA SAILLE	69
VI. PALPATIONS OVARIENNES	70
VII. PRODUITS DE RECOLTE	71
VII.1 Taux de récupération de liquide injecté.....	71
VII.2 Résultats de récolte d'embryons	71
Chapitre 03. Conclusions et Recommandations	74
Chapitre 04. Références bibliographique	77

ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION GENERALE

Les biotechnologies de la reproduction sont apparues comme l'une des clés du développement des élevages en promouvant le potentiel génétique, face aux exigences du marché qui poussaient les élevages à assurer une production plus performante et compétitive.

Le premier résultat de ces biotechnologies de la reproduction était l'insémination artificielle (IA) qui est apparue il y a déjà de cela plusieurs décennies ; elle a permis de réaliser un progrès génétique remarquable et cela par large diffusion à la faveur de l'utilisation des techniques de cryoconservation de la semence ; mais l'insémination artificielle avait un inconvénient majeur qui se représente dans le résultat qui est de un à deux produits vivant par an et par le bénéfice restreint des caractères génétiques du mâle seulement

I. INTERET DU TRANSFERT EMBRYONNAIRE CHEZ LA VACHE :

L'avènement du transfert embryonnaire (TE) a mis à contribution l'apport génétique femelle d'élite en leur permettant d'avoir un plus grand nombre de descendance de qualité sanitaire contrôlée par an (THIBIER, 1990), utilisé comme vecteur du progrès génétique dans les schémas de sélection, le TE permet, dans les pays développés, une augmentation des performances de production au niveau individuel et donc à l'échelle de l'élevage, (MENISSIER, 1982). Dans les pays du tiers monde, le TE trouve ses avantages dans l'introduction de race génétiquement supérieures par l'utilisation de femelles bovines indigènes en tant que receveuses, les embryons transférés acquièrent, de ce fait, une immunisation passive relative aux germes présents dans leur nouvel environnement (YOUSSAO *et al*, 2000).

La réduction du lourd coût de transport et l'affranchissement des contraintes de quarantaine obligatoire par le biais de l'importation de paillettes d'embryons congelées au lieu d'animaux sur pieds ont facilité les échanges commerciaux internationaux promouvant ainsi le capital génétique d'une région à travers le monde (GERRIS *et al*, 2005).

La réduction de l'intervalle de génération contribue à une pression de sélection plus importante aboutissant à un progrès génétique plus rapide, ce dernier est exploité afin d'orienter les productions d'un élevage ou de les améliorer ou encore de repeupler un troupeau décimé par un abattage sanitaire (SCHERZER *et al*, 2007).

En dépit de l'impact qu'aura un programme de production d'embryon chez des génisses impubères, ces dernières peuvent être exclusivement destinées à être pourvoyeuse d'embryons durant leurs carrières reproductrices. Le TE permet ainsi d'exploiter au maximum le potentiel génétique d'une femelle d'élite en l'introduisant en cycle de reproduction plus précocement que prévu (vers 15 mois). Le rendement d'une vache à l'âge de 6 ans tourne autour de 3 veaux, ce même résultats peut être obtenu à l'âge de 2 ans grâce au TE (COLLEAU *et al*, 1998 ; GERRIS *et al*, 2009).

Les voies de recherches permises par le TE ne sont plus à énumérer, les travaux sur les embryons ont permis de créer des souches de laboratoires adaptables (sujets Knock Out) aux besoins de diverses expérimentations. Grâce à l'avancées des connaissances relatives à l'endocrinologie sexuelles chez les femelles les protocoles de TE ont pu être adaptés aux espèces et au sein de ces dernières à chaque race en fonction de ses types de productions et des conditions zootechniques dans lesquelles elles évoluent (Figure 01).

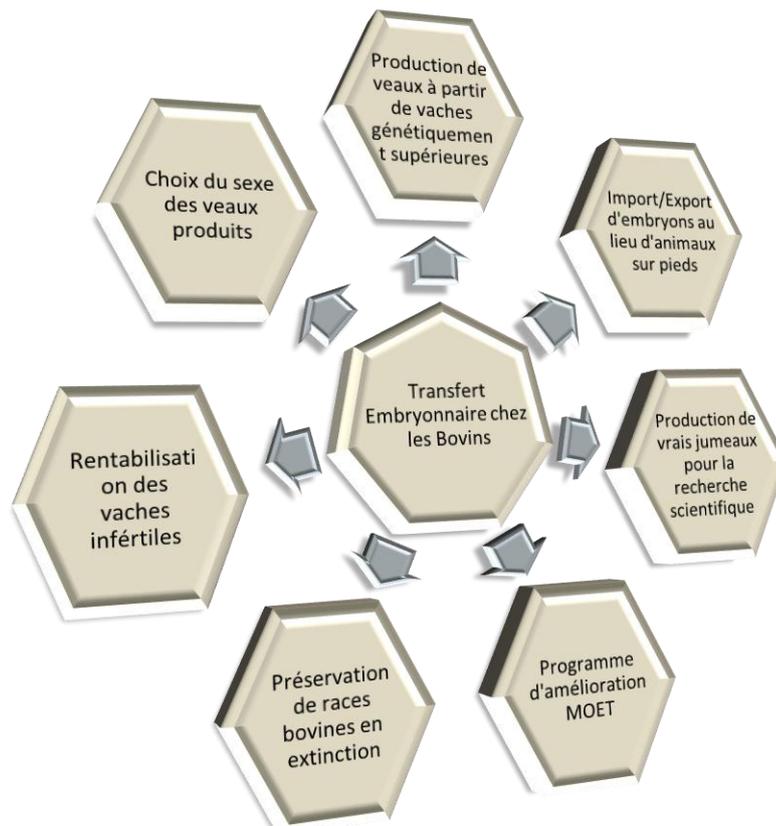


Figure 01: Intérêts du transfert embryonnaire (d'après GORDON, 1996)

II. HISTORIQUE DU TRANSFERT EMBRYONNAIRE CHEZ LA VACHE :

II.1 Dans le monde

Les premiers essais réussis de TE ont été réalisés par Heap en 1891 à partir de lapines donneuses de race Angora sur des lapines receveuses de race Belge (BETTERIDGE, 1981), ce n'est qu'en 1951 que le premier veau issu du TE frai est né à la faveur de l'avènement de la superovulation, favorisée par la découverte de l'eCG en 1928, les travaux sur la cryoconservation ont aboutis à la naissance du premier veau issu d'un transfert d'embryon congelé puis décongelé en 1973 (IDRES, 2011).

En France, les premiers travaux expérimentaux ont été menés entre 1976 et 1978 et ont aboutis à la naissance du premier veau le 24 Février 1979 à 17 h (veau charolais porté par une F.F.P.N) appartenant à monsieur Jean BRUYERE à St Paul en Jarey près de St Etienne dans la Loire, depuis le nombre de transplantations embryonnaires n'a cessé de croître passant de 500 en 1979 à 1000 en 1980 et 1500 en 1981 pour aboutir à près de 20.000 en 1990. Actuellement on ne compte plus le nombre de transplantations réalisées tant leur vulgarisation s'est faite auprès des éleveurs qui ont de plus en plus recours à cette biotechnologie afin de « dupliquer » leurs sujets d'élites. (IDRES, 2011)

II.2 En Algérie

L'Algérie accuse un retard indéniable en matière de biotechnologies de l'embryon, les quelques travaux effectués dans ce domaine constituent des sujets de thèses de doctorat, de mémoires de magister et de fin d'étude, c'est dire que le transfert embryonnaire, et toutes les étapes préalables lui étant attribuées, n'est qu'au stade expérimental.

En 1996, le CNIAAG, initie les premiers essais de production d'embryons *in-vivo*, il utilise pour cela de l'eCG et abouti à des embryons dégénérés (IDRES, 2011)

En 2003, Amara, dans le cadre d'un mémoire de magister, étudie les réponses aux traitements de superovulation des femelles laitières en testant un extrait hypophysaire le Pluset ® (Laboratoires Calier, S.A., Espagne) et abouti à des résultats pas très concluants (AMARA, 2003)

En 2004, Adel, dans le cadre d'un mémoire de magister, entreprend une étude comparative de deux extraits hypophysaires en vue de la production d'embryons, il compare ses résultats obtenus en utilisant le Stimufol ® (FMV ULG, Belgique) et ceux obtenus par Amara en 2003 qui a utilisé le Pluset ®, Adel conclut à la supériorité des résultats obtenus par le produit qu'il a utilisé (ADEL, 2004)

En 2006, Kaidi réalise, dans le cadre de son mémoire de fin d'études, une étude contributive au transfert embryonnaire chez la vache laitière et compare la réponse aux traitements de superovulation des vaches améliorées et des vaches de race locale (KAIDI, 2006)

Toujours en 2006, Bougar, rapporte les résultats de production et de transfert embryonnaire chez la race locale Cheurfa en utilisant le Stimufol ® comme extrait hypophysaire pour la superovulation, elle aboutit à des résultats encourageants corroborant ceux obtenus par Adel en 2004

En 2008, la première publication relative à la race locale paraît, entreprise par Ferrouk *et al.*, elle rapporte les premiers résultats de la production et du transfert embryonnaire issus de race locale Cheurfa.(FERROUK *et al*, 2008)

En 2010, Barka et Tcheandjieu réalisent, pour leur mémoire de fin d'étude, une synthèse des travaux effectués en Algérie ayant trait à la superovulation et au transfert embryonnaire.

En 2011, Idres Takfarines s'intéresse aux doses de Stimufol ® à utiliser chez les races locales afin d'assurer une réponse optimale en terme de superovulation toujours dans l'optique du transfert embryonnaire, pour ce faire, il compara deux doses, 32mg et 40mg et mit en exergue, en passant, plusieurs données sur la physiologie de la reproduction des femelles de races locale. (IDRES, 2011)

III. ANATOMIE DE L'APPAREIL GÉNITAL DE LA VACHE :

III.1 Le sinus urogénital :

Partie commune aux appareils urinaire et génital, le sinus urogénital se compose de deux parties : le vestibule du vagin d'une part et la vulve d'autre part. (VIGOT 1990)

Le vestibule du vagin : est un conduit large et impair d'une longueur de 8 à 10 cm dans lequel s'ouvre tout à la fois le vagin et l'urètre. Orienté obliquement en direction dorso-crâniale, il possède comme le vagin des parois très distensibles. L'urètre s'y ouvre ventralement juste en arrière de l'hymen. Caudalement, à mi longueur du vestibule s'ouvrent les deux orifices des glandes vestibulaires majeures ou glandes de Bartholin. Leurs sécrétions auraient pour rôle de lubrifier les voies génitales externes et de par leurs composants attireraient les partenaires sexuels. Ce système se trouve complété par des glandes vestibulaires mineures. L'irrigation du vestibule est assurée par les artères vaginale et honteuse interne. Son innervation provient du nerf honteux et du plexus pelvien. (VIGOT 1990)

La vulve constitue la partie externe de l'appareil génital femelle. Elle occupe la partie ventrale du périnée. Elle est constituée de deux lèvres qui délimitent la fente vulvaire. Chaque lèvre de la vulve comporte une partie cutanée externe, une partie muqueuse interne et un muscle constricteur responsable de la coaptation parfaite des lèvres vulvaires. L'irrigation de la vulve est assurée par des branches de l'artère honteuse externe. Son innervation provient principalement des nerfs honteux. (VIGOT 1990)

III.2 le vagin

C'est un conduit impair et médian, très distensible d'une longueur moyenne de 30 cm chez la vache se prolongeant vers l'avant du vestibule du vagin, il s'insère crânialement autour du col utérin. La muqueuse vaginale forme des plis longitudinaux peu visibles mais surtout des plis radiaires formant une collerette de trois à cinq replis entourant l'ouverture vaginale du col. Vers l'arrière, le vagin communique avec le vestibule vaginal par l'ostium du vagin dont le pourtour est marqué par un vestige de l'hymen, cloison mince et incomplète de développement variable plus souvent distinct chez la jument et la truie que chez les ruminants. (VIGOT1990)

III.3 l'utérus

Communément aussi appelé matrice (Métra), l'utérus est l'organe de la gestation. Organe creux, il se compose de deux cornes, d'un corps et d'un col. (VIGOT 1990) (Figure 06)

La paroi de l'utérus se compose de trois tuniques une séreuse ou périmètre, une musculeuse ou myomètre et une muqueuse ou endomètre. Le périmètre se prolonge sur les ligaments larges. Le myomètre se compose en fait de deux couches une superficielle et une longitudinal. Ces couches se prolongent au niveau du corps et du col mais relativement peu au niveau du vagin. Il existe de larges différences entre espèces. Les cornes utérines et le corps utérin sont fixés à la paroi dorsale de l'abdomen et du bassin par les ligaments larges. (VIGOT 1990)

L'irrigation de l'utérus est assurée principalement par l'artère utérine qui naît de l'artère iliaque interne. (VIGOT 1990)

Le col utérin ou cervix est peu discernable en surface. Le canal cervical est tapissé de plis muqueux longitudinaux fragmentés par 4 replis circulaires ou fleurs épanouies dont le premier crânial entoure l'ouverture du col dans le corps utérin et dont la dernière distale forme constitue l'ouverture vaginale du corps utérin. (VIGOT 1990)

D'une longueur de 35 à 45 cm, les cornes utérines se rétrécissent progressivement en direction des oviductes auxquels elles se raccordent sous la forme d'une inflexion en S. Elles ont en effet un diamètre de 3 à 4 cm à leurs bases et de 5 à 6 mm à leurs extrémités. Incurvées en spirale, leurs apex sont très divergents et situés latéralement à peu près dans l'axe de la spirale. Cette disposition positionne les ovaires à hauteur du col de l'utérus. Leur bord mésométrial (petite courbure) est concave et situé ventralement chez les ruminants. Leur bord libre ou grande courbure est convexe et situé à l'opposé du précédent. Les deux cornes sont unies à leur base par deux ligaments intercornuaux l'un ventral et l'autre dorsal plus court que le précédent. Intérieurement, les deux cornes débouchent séparément dans la cavité du corps utérin de part et d'autre du voile utérin, prolongation interne de la partie déparant les deux cornes. L'endomètre est gris rougeâtre et présente le plus souvent quatre rangées longitudinales de caroncules plus saillantes si la femelle a été gestante, dépourvues de glandes, arrondies ou ovalaires légèrement déprimées en leur centre chez les vaches, dont le

volume augmente de manière considérable pendant la gestation pour former avec le cotylédon fœtal un placentome. (VIGOT 1990)

III.4 l'oviducte

Encore appelé trompe utérine ou salpinx ou trompes de Fallope, il constitue la partie initiale des voies génitales femelles. Il reçoit l'ovocyte, s'y déroule la fécondation et les premiers stades du développement de l'embryon. Très flexueux, l'oviducte a une longueur de 30 cm chez la vache et un diamètre de 3 à 4 mm. Il se compose d'un infundibulum s'ouvrant sur la bourse ovarique, L'oviducte comporte une séreuse, une musculuse et une muqueuse. (VIGOT 1990)

III.5 les ovaires

L'ovaire subit au cours de la première moitié de la gestation une migration qui l'amène au voisinage du pubis. Son poids de 1 à 2 g à la naissance est de 4 à 6 g à la puberté et d'une quinzaine de g chez l'adulte (10 à 20 g). En général l'ovaire droit est 2 à 3 g plus lourd que l'ovaire gauche. Les dimensions de l'ovaire varient en fonction du développement de ses structures fonctionnelles. En moyenne, sa longueur est de 35 à 40 mm, sa hauteur de 20 à 25 mm et son épaisseur comprise entre 15 et 20 mm. Il a une forme aplatie, ovoïde en forme d'amande. Il comporte un bord libre et un bord sur lequel se fixe le mésovarium, zone du hile recevant une importante vascularisation. L'ovaire comporte une zone vasculaire centrale (médulla) et une zone parenchymateuse périphérique (cortex), L'ensemble est délimité par une albuginée d'une part et par un épithélium superficiel de cellules cubiques plus en surface. (VIGOT 1990)

La bourse ovarique est délimitée par le mésovarium d'une part, élément de suspension de l'ovaire) et par le mésosalpinx fixant l'oviducte à proximité de l'ovaire. (VIGOT 1990)

L'irrigation de l'ovaire est assurée par l'artère ovarique issue de la partie caudale de l'aorte abdominale. Elle délègue avant d'atteindre l'ovaire une petite branche utérine. Au terme de nombreuses ramifications elle atteint le hile de l'ovaire au travers du mesovarium. (VIGOT 1990)

L'ovaire renferme de manière plusieurs types d'organites physiologiques : les follicules d'une part et les corps jaunes d'autre part. Dans l'un et l'autre cas il en existe en effet de plusieurs types présentant chacun leurs caractéristiques anatomiques mais aussi hormonales. (VIGOT 1990)

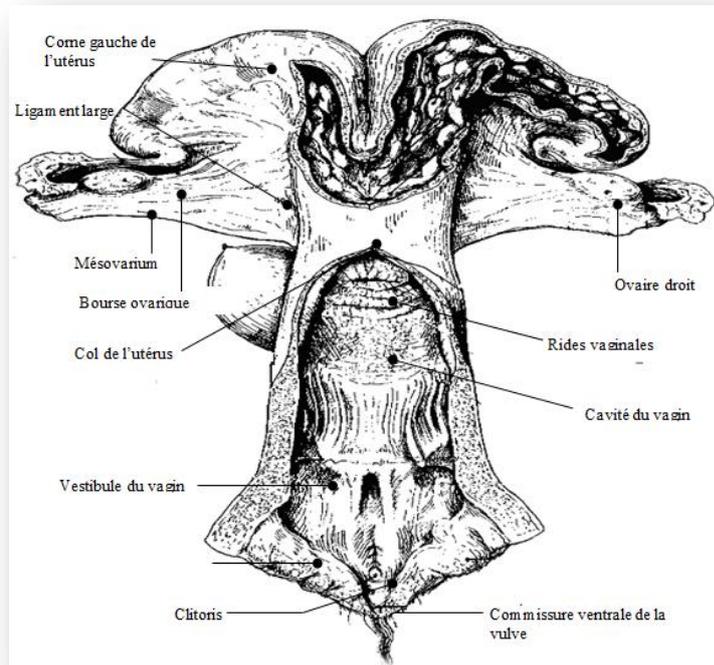


Figure 06: schéma de l'appareil génital femelle

IV. PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION CHEZ LES BOVINS :

IV.1 Puberté :

C'est la mise en marche du système endocrinien régissant la fonction de reproduction, ce qui aboutit à la production de gamètes fécondantes (mâle) et fécondables (femelle) cela en impliquant l'axe hypothalamo-hypophysio-gonadique (BONNES *et al*, 1988)

La puberté est acquise généralement lorsque les génisses atteignent les deux tiers de leurs poids adulte, approximativement entre 8 et 12 mois pour les races européennes (Mc DONALD 1980 ; HANZEN CH 2000 ; DISKIN *et al*, 2003 ; WOODS E *et al*, 2004) et 29 mois pour les brunes d'atlas (AMRANE A.K 1990)

IV.2 Cycle œstral :

La durée moyenne du cycle œstral de la vache est de 21 jours avec une marge de plus au moins 4 jours; le cycle se répartit en quatre phases : « œstrus, metœstrus, diœstrus et pro-œstrus.»

- L'œstrus : est la période d'acceptation sexuelle, elle dure approximativement 12 à 24 heures (HANZAN CH *et al*, 2000), et cela selon les facteurs qui l'influe (alimentation, âge, physiologie) ces derniers peuvent aussi influencer l'extériorisation des signes évocateurs comme le chevauchement d'où la difficulté de détection des chaleurs chez certains sujets.
- Le metœstrus : représente l'étape de maturation folliculaire et de l'ovulation ainsi que la formation du corps jaune, le metœstrus a lieu de J5 à J6 (HANZAN CH *et al*, 2000),
- Le diœstrus : dit aussi « phase lutéale » est caractérisé par la fonctionnalité du corps jaune et donc par l'élévation importante du taux de progestérone plasmatique, cette phase dure en moyenne 11 jours. (HANZAN CH *et al*, 2000),
- Le pro-œstrus : précède l'œstrus, dure 3 jours, il est caractérisé par la dégénérescence du corps jaune ainsi que par le début de la phase folliculaire du cycle suivant. (HANZAN CH *et al*, 2000),

Cette organisation du cycle en quatre phase est difficilement adaptable à la vache, vue la variabilité de l'expression des chaleurs, il est donc préférable de parler de « phase lutéale et phase folliculaire ».

IV.3 Folliculogénèse :

C'est un phénomène qui débute dès le moment où le follicule sort de sa réserve, ce dernier constitué lors de l'ovogénèse pendant la vie embryonnaire jusqu'au résultat final qui peut être l'ovulation ou l'atrésie ce qui est le cas dans 99,9% des follicules (involution) (MONNIAUX D *et al*, 2009)

La croissance folliculaire est caractérisée par sa durée qui est de 5 mois chez la vache, le faible nombre de follicules qui aboutissent à l'ovulation et par la simultanéité entre la croissance folliculaire et l'acquisition de la compétence ovocytaire (GREENWOLD GS 1972).

IV.3.1 Aspect morphologique de la folliculogénèse :

Le follicule passe par différentes étapes lors de son développement qui vont conduire à sa rupture ou bien à son atrésie, ces étapes et leurs caractéristiques sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau 01 : Caractéristique du follicule à différents stades de son développement (DRIANCOURT *et al*, 2001 dans THIBAUT *et al*, 2001)

Stade folliculaire	Nombre de cellules folliculaires	Structures en formation	Diamètre folliculaire (µm)	Diamètre ovocytaire (µm)
Follicule primordial	30 cellules aplaties	Membrane basale	35 - 50	25 - 35
Follicule primaire	Une couche de cellules (27 à 58) cuboïdale	Membrane de Slavjanski	40 - 60	30 - 40
Follicule secondaire	Couches multiples de cellules	Zone pellucide et thèques	200 - 300	60
Follicule tertiaire	Couches multiples de cellules	Cumulus oophorus		100 - 130
Follicule de DE GRAAF	Couches multiples de cellules et différenciation des cellules folliculaires en cellules de granulosa et de cumulus	Acquisition de la compétence ovocytaire et reprise de la méiose	2.10 ⁴	150

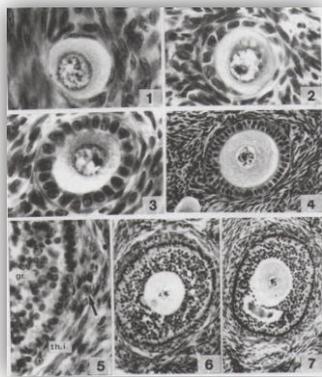


Figure 02 : Différents types de follicules

1 : Primordial ; 2 : Intermédiaire ; 3 : Primaire ; 4 : Secondaire ;
 5 : Présence d'une cellule épithélioïde dans la thèque interne,
 d'un follicule préantral et d'une granulosa ;
 6 : Préantral ; 7 : Follicule à antrum débutant.

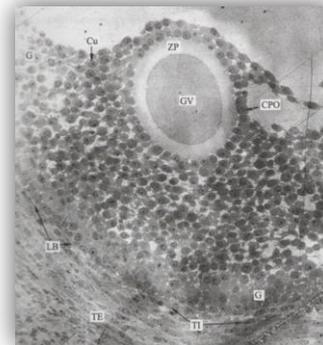


Figure 03: Ovocyte dans son follicule preovulatoire

VG : Vésicule Germinale ; ZP : Zone Pellucide ; CPO :
 Cellules péri-ovocytaires ;
 Cu : Cumulus Oophorus ; G : Granulosa ; TI : Thèque Interne ;
 TE : Thèque Externe ; LB : Lame Basale.

(MERMILLOD, 2001 dans THIBAULT *et al*, 2001)

IV.3.2 Phase de recrutement

Aussi définie comme étant l'entrée en croissance terminale d'une cohorte de follicules (FORTUNE, 1994), cette phase est induite, via un mécanisme aléatoire, par l'augmentation transitoire du taux de FSH (ROCHE et BOLAND, 1991).

Nous assistons, durant cette phase, à l'apparition d'une activité aromatasase dans la granulosa aboutissant à la formation d'œstrogènes à partir d'androgènes, à la stimulation de la production d'inhibine et de follistatine et enfin à l'inhibition de l'expression d'une protéine de liaison des IGF dans les cellules de la granulosa, rendant ce facteur plus biodisponible pour les cellules folliculaires, tout en sachant que l'IGF peut moduler l'action de la FSH sur le recrutement en augmentant la taille des cohortes recrutées. (THIBAULT et LEVASSEUR., 2001)

IV.3.3 Phase de sélection

La synthèse de l'œstradiol sous l'effet de l'augmentation des décharges pulsatiles de LH témoigne du début de la phase de sélection (DRION *et al*, 2000), cette phase s'accompagne aussi de la synthèse d'inhibine qui, accompagnée de l'œstradiol, exercent un rétrocontrôle négatif sur la production hypophysaire de FSH réduisant ainsi la sécrétion de

cette dernière jusqu'à des seuils inférieurs au minimum nécessaire au recrutement, s'en suit alors l'atrésie des follicules recrutés à l'exception de ou des follicules sélectionnés, le mécanisme du choix du ou des follicules ovulatoires n'est pas encore élucidé (ADAMS *et al.*, 1992). Afin d'essayer d'expliquer la nature des facteurs qui régissent la dominance de ou des follicules lors de la sélection, plusieurs hypothèses furent avancées, l'une suppose une intervention purement hypophysaire mettant en œuvre la sensibilité individuelle des follicules de la cohorte au niveau de FSH et de la chute de ce dernier sous l'effet de la double sécrétion d'inhibine et de l'œstradiol (DRIANCOURT *et al.*, 1991), la deuxième hypothèse s'appuie sur l'effet de la chute du taux de FSH et sur l'existence d'un facteur inhibiteur local produit par le follicule dominant de la cohorte et inhibant les divers proliférations cellulaires des follicules de taille inférieure (Aromatase, apparition des récepteurs de LH sur la granulosa) (DRIANCOURT, 2001), la dernière hypothèse, quant à elle, suppose l'existence d'une protéine régulatrice (FRP : Follicle Regulatory Protein) (ZEREGA *et al.*, 1982), cette hypothèse n'ayant pas été confirmée, elle reste toujours controversée.

IV.3.4 Phase de dominance et évolution du follicule dominant

Nous assistons, durant cette phase, au blocage du recrutement et à l'accroissement de la taille du follicule dominant à la faveur de son acquisition d'un mécanisme d'autostimulation interne, en effet, le follicule dominant sécrète de l'œstrogène qui amplifie la synthèse de l'IGF1, ce dernier entretient une sécrétion soutenue de l'œstrogène en stimulant l'aromatisation des endogènes. (WEBB *et al.*, 1992).

Cette phase est dite morphologique, car elle est exercée par le plus gros follicule présent sur l'un des ovaires, et fonctionnelle parce que le follicule dominant est la seule entité capable d'induire la régression et l'atrésie des follicules en croissance (FORTUNE, 1994) et d'inhiber le développement d'autres follicules.

La destruction du follicule dominant induit, si réalisée en début de vague folliculaire, un retard de régression de la cohorte de follicules de diamètre inférieur, par contre si elle survient en fin de vague folliculaire, nous observons un recrutement plus précoce lors de la prochaine vague folliculaire. (KO *et al.*, 1991).

La disparition du follicule dominant permet une nouvelle augmentation des taux de FSH, ce qui se traduirait par une nouvelle dominance d'autres follicules. (FORTUNE, 1994)

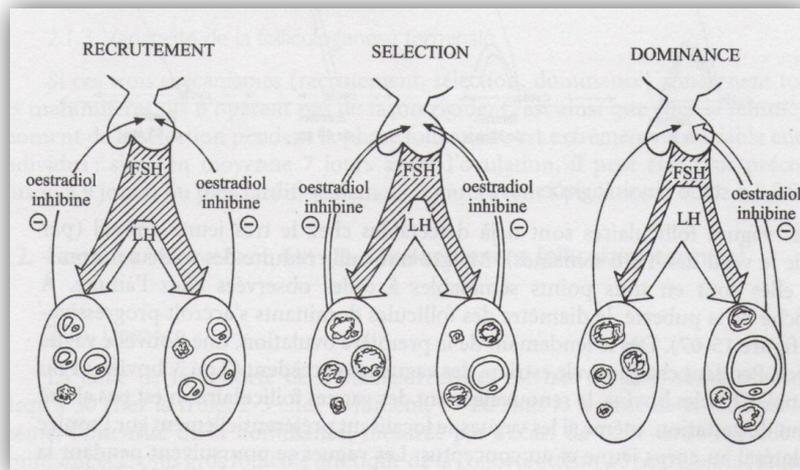


Figure 04 : Régulation de la folliculogénèse tonique, sécrétion de gonadotropines et facteurs de rétrocontrôle au cours des phases de recrutement, sélection et dominance (THIBAUT C., LEVASSEUR M.C., 2001)

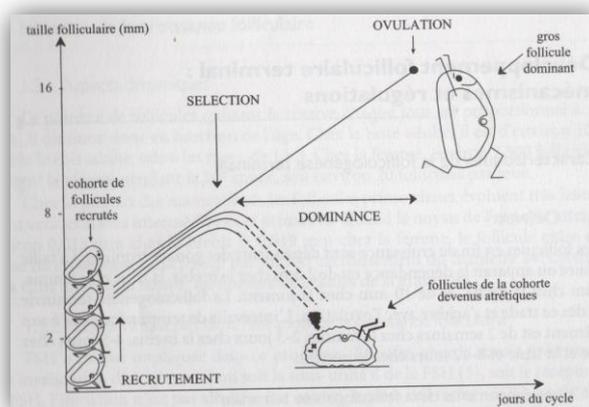


Figure 05 : Représentation des principaux événements de la folliculogénèse terminale au cours de la phase folliculaire (THIBAUT C., LEVASSEUR M.C., 2001)

IV.3.5 Ovulation :

Résulte de l'accroissement des taux d'hormones gonadotropes vers la fin de la phase folliculaire, le follicule dominant ayant acquis la possibilité de répondre à ces pics, subit de grands remaniements à fin d'aboutir à l'expulsion de l'ovule et la formation du corps jaune.

Cette expulsion est déclenchée par le pic de LH qui lui-même est induit chez les bovins par une œstradiolémie (supérieur à 12 pg/ml) qui provoque une inversion du rétrocontrôle négatif de l'œstradiol sur l'hypothalamus (DRION *et al*, 1996).

IV.3.6 Notion de vague folliculaire :

Le développement folliculaire se fait sous la forme de vague de croissance et de dégénérescence successives (HANZAN CH *et al*, 2000). La vague dure environ 7 à 9 jours, elle se caractérise par l'émergence de plusieurs follicules de diamètres plus ou moins égal à 5 mm .on observe 2 à 3 vagues par cycle œstral complet, ce n'est que cette dernière qui verra émerger un follicule dominant ovulatoire.

V. CHOIX DES ANIMAUX :

V.1 Critères de choix de la donneuse :

D'une part, quel que soit les différents critères de sélection, il faut toujours les associer au objectifs du programme (selon la demande) mais les plus essentiels restent toujours « la supériorité génétique et la probabilité de produire un nombre élevé d'embryon utilisable ».

D'autre part, la sélection de la donneuse doit prendre en compte :

- Le bon état générale de la donneuse car les vaches en bon état donnent de meilleurs résultat que les animaux malades ou mal en point ;
- Animaux sans problèmes de vèlage, tels que la rétention placentaire ;
- Historique d'une fécondité élevée ;
- Age et parité : production chez génisse inférieure à celle des vaches d'un embryon à deux (NIBART 1991 ; LAURIERE *et al*, 2001) ;
- La race : les résultats différent d'une race à une autre mais cela dépend du but du programme ;
- Les vaches choisis doivent être au moins à 60 ou 90 jours de post-partum et de bilan énergétique positif ;
- Tractus génital saint et ne souffre ni d'infection ni urovaginite ;
- Antiparasitaire et vaccins administrés au moins 30 jours avant le début du traitement de superovulation.

V.2 Critères de choix des receveuses :

Même si l'essentiel est pris de la donneuse (patrimoine génétique) les receveuses ont un rôle primordial dans la réussite du transfert embryonnaire car elles sont la clé du succès de l'opération (BROADBERT, 1991) et pour cela il faudra assurer un bon recrutement on se basant sur les critères suivants :

V.2.1 Choix de l'animal

Différents critères conduisent à la décision d'inclure ou d'exclure des animaux dans un programme de transfert embryonnaire.

V.2.1.1 La race

Les animaux choisis doivent être adaptés à l'environnement où a lieu le transfert, facilement disponibles et à un coût raisonnable. Dans les cas des races allaitantes, d'après Donaldson (1984), les races où le taux de gestation est le plus important après transfert sont les races Hereford (75%), Salers (57%), Charolaise (53%) et Longhorn (52%) (DONALDSON L. E. 1984). VAN WANGTENDONK DE LEEUW *et al*, (1997) ont, quant à eux, transféré 728 embryons de race blonde d'aquitaine sur des receveuses laitières, allaitantes ou mixtes. Ils n'ont pas trouvé d'influence significative du type de receveuse sur la réussite du transfert (RALL W.F. 1997).

V.2.1.2 Les antécédents des animaux.

On ne choisira pas d'animaux ayant des antécédents de troubles de la reproduction, une vache infertile à chaleurs normales (repeat-breeder), c'est-à-dire non gestante après plus de trois IA, ou des animaux dont on sait que les voies génitales sont peu perméables à un pistolet de transfert. Des antécédents de métrite doivent aussi inciter à la prudence.

V.2.1.3 La parité

BROADBENT *et al*, (1991) expliquent que les génisses sont préférables aux vaches car elles ne conduisent pas de lactation en même temps que la gestation, ce qui évite un potentiel stress nutritionnel. De plus, un utérus vierge est plus compatible avec un transfert embryonnaire : il n'a pas d'antécédents de gestation, de métrite ou de césarienne qui pourraient avoir provoqué des adhérences. Leurs inconvénients, toujours selon BROADBENT *et al*, (1991), est que le col peut être plus difficile à franchir et que la fréquence des dystocies est plus importante chez elles que chez les vaches (DONALDSON L. E. 1984).

Avant d'être mit à la reproduction, les animaux doivent bien sûr être cyclés, ce qui correspond au moment où ils ont atteint 40% de leur poids adulte. Il est couramment conseillé d'attendre qu'ils aient atteint 60% de leur poids adulte avant la mise à la reproduction. Ainsi, le poids moyen correspondant à 90% de cyclicité chez les génisses Charolaises est de 388kg (IDRES, 2011).

Un dernier avantage des génisses est d'être d'un coût d'achat moindre que les vaches pour des animaux de qualité identique avec en plus une fertilité plus importante. De plus, elles ont des besoins alimentaires moins élevés que ceux d'une vache qui produit du lait.

V.2.1.4. L'état général des animaux

On ne choisira pas des animaux trop maigres, chétifs ou à l'inverse trop gras qui s'avèrent en général être de mauvaises receveuses (état corporel inférieur à 1,5 ou supérieur à 4). Les variations des performances reproductrices en fonction de l'état corporel des animaux sont présentées dans le paragraphe traitant de l'alimentation des receveuses.

Les critères que nous venons de voir sont évalués à la simple vue de l'animal et grâce aux renseignements de l'éleveur. Les critères suivants relèvent d'un examen clinique par le vétérinaire.

V.2.1.5 L'examen de l'appareil génital.

L'animal ne doit pas être gestant, ce qui peut arriver s'il a subi un transfert peu de temps auparavant. Il se peut en effet qu'un animal manifeste des chaleurs en cours de gestation, ce qui peut conduire à une erreur de diagnostic (IDRES, 2011).

La receveuse subit ensuite un examen plus poussé pour évaluer la qualité de son appareil génital. Un cathétérisme du col utérin peut être réalisé. Il permet de vérifier la perméabilité des voies génitales de la femelle. On exclut ainsi les animaux porteurs d'anomalies congénitales, ou les animaux chez lesquels les transferts précédents ont pu laisser des séquelles. Les anomalies sont fréquentes chez les free-martins : corne utérine atrophiée, simple raccourcissement des cornes utérines, vagin aveugle.

Il convient également de vérifier que l'animal exprime correctement ses chaleurs et peut subir un traitement de synchronisation des chaleurs.

Un examen au spéculum est également recommandé pour vérifier l'absence de signes de métrite. Il faut enfin prendre garde de ne pas chercher à sélectionner des animaux trop tôt après le vêlage (moins de 50 jours), l'endomètre n'ayant pas retrouvé son état normal.

V.2.1.6. Aspect sanitaire

Les conditions sanitaires que doivent remplir les receveuses d'embryons. Elles doivent avoir séjourné pendant 6 mois au moins dans un cheptel bovin indemne de toute MLRC (maladie légalement reconnue contagieuse), notamment la brucellose, la tuberculose et la leucose bovine enzootique. Ces receveuses doivent également « avoir satisfait un examen clinique préalable à la mise en place des embryons ».

V.2.2 Le regroupement des animaux et leur préparation.

V.2.2.1 La nutrition :

L'alimentation est un facteur clé de la préparation des receveuses selon BROADBENT *et al*, (1991). En effet, une alimentation défectueuse peut être la cause de nombreux troubles de la reproduction en élevage bovin. La principale composante de la ration qui joue un rôle dans ce domaine est son niveau énergétique : il peut occasionner des chaleurs silencieuses, un retard d'ovulation, mais surtout une chute du taux de réussite en I.A. comme en transfert d'embryons (BROADBENT P. J *et al*, 1991).

V.2.2.2 L'environnement

Là aussi une certaine constance dans l'environnement est nécessaire pour assurer une bonne réussite du transfert.

Un stress par le froid génère une rapide augmentation des besoins alimentaires qui peut se traduire par une mobilisation des réserves et une chute de l'état corporel.

A l'autre extrême, une chaleur excessive peut conduire à un anœstrus, un faible taux d'ovulation et un stress de chaleur sur l'embryon lui-même. Ces effets peuvent en plus être exacerbés par une humidité importante.

Sous nos climats tempérés, ces effets sont en général minimes, mais BROADBENT *et al*, (1991) expliquent qu'en Ecosse, les comportements liés à l'œstrus sur des animaux au pré peuvent disparaître lors d'une forte pluie ou de vent important. Ils préconisent de garder les animaux en stabulation 6 semaines avant le transfert et jusqu'à huit semaines après (BROADBENT *et al*, 1991).

V.2.2.3 Les critères de santé

Le problème se pose pour les maladies sub-cliniques dans la mesure où on ne choisira pas un animal malade pour recevoir un embryon.

Avant de commencer tout traitement de synchronisation, BROADBENT *et al*, (1991) préconisent un traitement contre les parasites internes et externes (BROADBENT *et al*, 1991). La recherche des maladies légalement réputées contagieuses est quant à elle obligatoire.

VI. SYNCHRONISATIONS DES CHALEURS ET STIMULATION OVARIENNE :

La synchronisation des chaleurs implique le recours à des traitements capables de contrôler à la fois l'activité lutéale et la croissance folliculaire, le but étant d'aboutir, dans un laps de temps connu et maîtrisé, à l'expulsion d'un ou de plusieurs ovocytes fécondables.(IDRES ,2011)

VI.1 Une double injection de prostaglandines :

Cette technique facile à mettre en œuvre, économique, mais la détection des chaleurs est indispensable pour vérifier que le corps jaune palpé date bien de 7 jours. On peut aussi les utiliser 48 heures avant le retrait d'un implant ou d'une spirale. Leur effet lutéolytique permettrait de mieux synchroniser les ovulations (GRIMARD B *et al*, 1998).

Les prostaglandines F2 α sont des agents lutéolytique qui induisent une chute du taux de progestérone circulante et un relargage de gonadotropines par l'hypophyse, ce qui provoque un retour en chaleurs anticipé. Des corps jaunes trop jeunes donnent de mauvais résultats, d'où l'intérêt de pratiquer plusieurs injections, la seconde ayant toujours lieu sur un corps jaune âgé

Il existe plusieurs protocoles :

VI.1.1 Programme avec deux injections systématiques

C'est un protocole à double injection (12 jours de décalage) qui permet d'avoir un fort pourcentage d'animaux en diœstrus lors de la seconde injection. L'œstrus se produit entre deux et cinq jour après cette seconde injection.

Il faut vérifier au préalable par palpation des ovaires que les animaux sont cyclés, seuls aptes à répondre au traitement. Avec une insémination à 72 et une à 96 heures après la seconde injection, on a des taux de gestation satisfaisants, la meilleure méthode étant bien sûr d'inséminer sur chaleurs observées. (HANZEN C. 2009)

VI.1.2 Programme en une injection

On traite avec une seule injection tous les animaux qui ont un corps jaune et on insémine sur chaleurs observées.

D'autres facteurs sont susceptibles de faire varier le taux de réussite de la synchronisation avec cette méthode. Tout d'abord il faut que les vaches soient toutes cyclées pour que l'injection fasse effet. Or ceci n'est pas toujours le cas. Un défaut de rationnement après vêlage peut être à l'origine d'un anœstrus prolongé, (WENKOFF *et al*, 1986).

VI.2 Utilisation des progestagènes

Les progestagènes permettent la synchronisation de cycles en induisant un rétrocontrôle sur la sécrétion de LH par l'hypophyse. La levée de l'inhibition à la fin du traitement (lors du retrait des progestagènes) favorise l'induction de l'ovulation par libération importante de gonadotrophines mais aussi par augmentation du nombre de récepteurs à la LH sur les cellules de la granulosa. Les progestagènes sont disponibles en deux formes galéniques : les spirales vaginales et les implants auriculaires (HANZEN C. 2009).

VI.2.1 Les spirales vaginales (PRID ®)

Elles sont moins traumatisantes pour l'animal mais elles donnent une dispersion plus importante des débuts d'œstrus que les implants. La spirale contient 1,55 g de progestérone relarguée régulièrement pendant 10 à 12 jours.

VI.2.2 Les implants (Crestar®)

Ils peuvent présenter quelque danger à la pose pour l'opérateur, mais la synchronisation est plus précise. C'est la technique qui est utilisée de préférence, les complications éventuelles sont rares (perte de l'implant ou difficulté à le retirer). (HANZEN C, 2009).

VII. LA SUPEROVULATION ET NATURE DES TRAITEMENTS HORMONAUX

Le taux d'ovulation des femelles peut être légèrement augmenté pour améliorer leur prolificité naturelle, ou fortement stimulé (c'est la superovulation) pour produire soit un grand nombre d'ovocytes en vue de la fécondation in vitro soit plusieurs embryons pour les programmes de transfert d'embryons.

La superovulation peut être provoquée par un traitement hormonal à base de gonadotrophines (FSH, PMSG, hMG) ou de GnRH. La réponse obtenue présente une grande variabilité qui dépend de plusieurs paramètres (individus, activité ovarienne au moment du traitement, la race, la saison et de l'origine des hormones.)

Chez les bovins, divers traitements avec des préparations de FSH contenant un taux connu de LH, des analogues de GnRH ou du liquide folliculaire bovin ont été essayés pour déterminer celui qui provoquerait la superovulation mais avec le moins possible d'effets secondaires sur les profils endocriniens des animaux. PMSG, maintenant appelée eCG (equine Chorionic Gonadotropin) n'induit qu'une superovulation limitée chez les bovins. Le nombre d'embryons de bonne qualité produits par vache donneuse est comparable à celui obtenu avec FSH (CHUPIN D, 1988).

VII.1 La gonadolibérine (GnRH)

La GnRH s'est révélée inefficace pour provoquer une superovulation. Cependant, elle peut être utilisée en association à d'autres schémas de superovulation. En effet, certains échecs d'ovulation et de fécondation chez les animaux donneurs d'embryons ont été imputés à une absence de libération ou à une libération anormale de l'hormone LH lors de l'œstrus suivant un traitement de superovulation à base de PMSG. Cette situation est de nature à entraîner une plus grande disparité dans les ovulations observées lors de superovulation respectivement dans 45 et 91 % des cas au cours des 24 et 48 heures suivant le début de l'œstrus. Aussi, le recours à des traitements de synchronisation des ovulations tels que l'hormone LH, l'hCG ou la GnRH a-t-il été envisagé pour pallier à certains échecs de traitements de superovulation (HANZEN C, 2009).

VII.2 La Pregnant Mare Serum Gonadotrophin

La PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotrophin) extraite du sérum de jument gravide entre le 42ème et le 100ème jour de gestation possède une activité biologique correspondant classiquement à un mélange de 2/3 de FSH et de 1/3 de LH. Ce rapport dépend du stade de gestation de la jument. Elle est injectée par voie IM à une dose comprise entre 2.000 et 3.000 UI. La concentration de la PMSG est maximale dans l'organisme 15 à 32 heures après son injection. La PMSG est douée d'une double activité à la fois de type FSH et LH avec un rapport constant FSH/LH égal à 0.2.

La PMSG a une demi-vie particulièrement longue (120 heures) imputable à sa richesse en acide sialique (13 %) qui la protège de la dégradation hépatique et rénale. Aussi est-il indispensable de lui adjoindre l'injection de 1800 UI d'anticorps anti-PMSG (obtenus sur moutons) au moment des chaleurs. Ces anticorps ont pour objet d'inhiber l'action de la PMSG et ce faisant le développement d'une seconde vague de croissance folliculaire et d'éviter la formation de follicules kystiques.

La répétition des injections de PMSG à 1 voire deux mois d'intervalle est susceptible de réduire l'efficacité du traitement étant donné la réaction antigénique possible.

VII.3 La Human Menopausal Gonadotrophin

L'hMG (Human Menopausal Gonadotrophin) fournit des résultats comparables à ceux de la PMSG mais son coût est plus élevé.

VII.4 Les extraits hypophysaires :

Les extraits hypophysaires (d'origine porcine le plus souvent, pFSH, mais aussi bovine, bFSH, ou ovine : la FSH bovine est moins active que la FSH porcine) sont de plus en plus largement utilisés.

Récemment P-FSH a été modifié chimiquement avec un polyéthylène glycol (PEG) pour former des dérivés : PEGylated pFSH. Les résultats indiquent que la PEGylated pFSH est encore bioactifs bien que cette activité est réduite et l'élimination d'immunoréactivité par

PEGylation suggère cette modification mérite la création d'un produit utile dans l'induction de superovulation bovine (UCHIYAMA Y ; 2009)

Possédant une demi-vie plus courte (5 à 6 heures) que la PMSG, étant donné leur moindre richesse en acide sialique (5 %) ils doivent faire l'objet d'injections répétées. Leur concentration atteint une valeur maximale 3 heures après leur injection et ne sont plus décelables 12 heures après l'injection.

Leur utilisation répétée n'entraîne pas la formation d'anticorps contrairement à la PMSG. La société Merial (Bd Sylvain Dupuis 143 1070 Bruxelles) commercialise le Stimufol. Ce produit contient 500 µg de FSH porcine et 100 µg de LH porcine. Il est fabriqué par le laboratoire de Physiologie de la Reproduction de la Faculté de Médecine Vétérinaire.

Les doses sont comprises entre 32 et 50 UA (Unité Armour) administrées de manière fractionnée et décroissante en doses bi journalières (matin et soir) pendant 4 jours, la dose de 32 UA (6 UA, 5 UA, 3 UA, 2 UA) étant le plus souvent recommandée chez la vache laitière et celle de 40 UA chez la vache viandeuse. Les doses de FSH sont exprimées en µg Armour : une unité Armour est équivalente à 10 µg de FSH pure. Les FSH sont présentées sous forme lyophilisées et reconditionnées avant l'emploi au moyen de sérum physiologique. Une fois les dilutions réalisées, les flacons préparés sont congelés. La FSH décongelée se conserve sans dommage au réfrigérateur (4°C) pendant le traitement. Une fois décongelée, la solution ne peut être recongelée. Comme la BST, la FSH compte tenu de sa dégradation rapide dans l'intestin de l'homme ne présente aucun risque pour la santé humaine. La FDA américaine ne préconise aucun délai de retrait de lait ou d'abattage des animaux ainsi traités (HANZEN C, 2009).

VIII. INSEMINATION DE LA DONNEUSE

Acte à l'issue duquel la semence du mâle est déposée dans les voies génitales femelles, processus nécessaire à la rencontre des deux gamètes mâle et femelle, à leur fusion et au développement de l'œuf ainsi produit (BALTHAZART et FABRE-NYS, 2001).

VIII.1 Détection des chaleurs

La mise en place d'une bonne détection de l'œstrus est de nature à optimiser la fertilité des vaches, également profitable à la détection et au traitement des pathologies. Cette étape critique est considérée comme étant le point névralgique de la réussite de la plupart des biotechnologies de la reproduction (XU *et al*, 1998).

L'observation du début et de la durée des chaleurs revête d'une importance cruciale car ils conditionnent le moment optimum de l'insémination des donneuses d'embryons, ils permettent aussi, d'évaluer indirectement l'intensité de réponse aux traitements de superovulation (CALLESEN *et al*, 1993).

VIII.2 Méthode d'insémination

VIII.2.1 Insémination Naturelle ou saillie

La saillie reste, à l'heure actuelle, la méthode la plus employée sur le terrain Algérien, en dépit des progrès réalisés par l'IA en termes de diffusion génétique, l'un des problèmes majeurs rencontrés lors de l'utilisation de cette technique ancestrale, c'est le risque de diffusions de maladies et de tares véhiculées par le père est l'infertilité de ce dernier. Cela peut, induire en erreur les praticiens qui seront appelés à traiter des retours en chaleurs des femelles saillies par le même taureau (IDRES, 2011).

VIII.2.2 Insémination Artificielle

L'IA permet d'exploiter le capital génétique héréditaire détenu par les mâles d'élite à des fins d'amélioration génétiques des cheptels en augmentant le coefficient de diffusion, dans les pays où les élevages laitiers sont renouvelés exclusivement au moyen de l'IA, ils ont

estiment à 75% le taux de progrès génétique apporté par cette biotechnologie, à raison de 3% par an (BABIUK *et al*, 1989).

Les taux moyens de gestation après IA sont de l'ordre de 60% contre 65% à 70% par accouplement naturel, ajouter à cela les avantages réels apportés par la facilité de transport de paillettes de semence congelée qui ont révolutionnés et contribués à la diffusion de cette biotechnologie à travers le monde (MARTAL, 1998).

VIII.2.2.1 Caractéristiques du sperme de taureau

Prélevé dans des conditions les plus proches possible de la saillie naturelle, le sperme du taureau présente des caractéristiques chiffrables moyennes, avec des fourchettes permettant de définir un « sperme normal ». (COUROT, 1972 ; LAGNEAU, 1981)

Les principales variables considérées sont le volume, l'aspect, la consistance et la couleur.

Le volume : Pour un taureau de plus de deux ans, le volume moyen d'un éjaculat est compris entre 3 et 8 ml (LAING 1979 ; DEBAIL, 1985), en électroéjaculateur, le volume collecté est plus élevé atteignant parfois les 30 ml (IDRES, 2011) (tableau 02.)

Tableau 02: Volume d'un éjaculat (ml) (IDRES 2011)

	Vagin artificiel	Electro-éjaculation	Race
Austin <i>et al</i>, (1961)	2,8	6,3	Hereford
Clarke <i>et al</i>, (1973)	3,29	10,03	Australian milking zebu

Avec l'âge, le volume de l'éjaculat augmente jusqu'à deux ans parfois au-delà (IDRES, 2011), une augmentation du volume est aussi observée à l'occasion de deux prélèvements successifs avec une même méthode de collecte (ALMQUIST *et al*, 1976) (tableau 03)

Tableau 03 : Variations du volume de l'éjaculat avec l'âge
(ALMQUIST *et al*, 1976 ; Perez *et al*, 1983) (IDRES, 2011)

	Age du taureau (Semaines)	Volume moyen d'un éjaculat (ml)	Race
Almquist <i>et al</i> (1976)	53 - 68	4,3	Charolaise
	69 - 88	5,6	
	89 - 104	6,7	
Perez <i>et al</i> (1983)	(Mois)		F.F.P.N
	12 - 15	2,44	
	16 - 26	3,46	
	27 - 37	3,81	

L'aspect, la consistance et la couleur : Un sperme normal est de couleur blanchâtre à ivoire ou jaunâtre et de consistance crémeuse, son opacité varie en fonction de sa concentration en spermatozoïdes (IDRES, 2011) (voir tableau 04)

**Tableau 04 : Aspect du sperme en fonction de sa
concentration en spermatozoïdes**
(IDRES, 2011)

Consistance	Densité (Million par mm ³)
Crémeuse	> 1,0
Crémeuse à laiteuse	1,0 à 0,8
Laiteuse	0,8 à 0,6
Laiteuse à petit-lait	0,6 à 0,4
Petit-lait	0,4 à 0,2
Petit-lait à aqueuse	0,2 à 0,05
Aqueuse	< 0,05

VIII.2.2.2 Méthodes de prélèvement et d'analyse du sperme

VIII.2.2.2.1 Méthodes de prélèvement

La récolte du sperme constitue la première en vue de son utilisation. Le vagin artificiel est le moyen le plus utilisé quel que soit l'espèce animale. L'électro-éjaculateur est également d'application chez les bovins, ovins, canidés et les volailles. Chez la jument le sperme peut être directement recueilli dans le vagin. Enfin, chez le taureau, un massage des vésicules séminales peut être pratiqué. (IDRES, 2011)

Le vagin artificiel : est constitué de deux parties, Un cylindre extérieur en matériel rigide le plus souvent en caoutchouc dur et épais assurant l'isolation thermique ou en plastique muni d'une ouverture fermée par un bouchon, La chemise intérieure est en latex ou en caoutchouc artificiel, elle est remplie d'eau chaude à 41°-42°C en quantité suffisante pour obtenir une pression équivalente à celle du vagin de la vache.



Figure 07 : Vagin artificiel pour bovins (IDRES 2011)

L'électro-éjaculateur Consiste à induire l'émission de sperme par excitation électrique des nerfs érecteurs et éjaculateurs. Elle est réalisée sur animal debout ou couché. L'appareillage comporte une sonde rectale de forme ogivale munie d'électrodes bipolaires parcourues d'un courant d'intensité moyenne mais de bas voltage (THIBAUT, 2001).

Massage transrectal des vésicules séminales : très Peu utilisée, cette méthode est le plus souvent appliquée aux taureaux qui, faute d'érections normales, de lésions articulaires ou du refus du vagin artificiel, ne peuvent être récoltés au moyen d'un vagin artificiel (IDRES, 2011)

VIII.2.2.2.2 Analyse du sperme

L'évaluation de la qualité du sperme vise à identifier les animaux infertiles, à évaluer la fertilité d'un animal antérieurement infertile et à détecter les animaux à forte fertilité. (IDRES, 2011)

L'analyse du sperme passe par un examen macroscopique, dans lequel on juge le volume, l'aspect, la consistance, la couleur, la Viscosité le pH et le poids spécifique (rapport entre la concentration en spermatozoïdes et le volume du plasma séminal. Il est de 1.035 chez le taureau) (RASBECH, 1984).

Un examen microscopique dans lequel la concentration, la motilité massale et individuelle sont appréciées. (Tableau 05)

Tableau 05 : Critère d'évaluation de la qualité du sperme chez le taureau (BORDAS *et al*, 1988)

<i>Appréciation de la qualité (en %)</i>	<i>Motilité massale</i>	<i>Motilité individuelle</i>	<i>Nombre de spz par mm³</i>	<i>Anomalies totale (en %)</i>
Sperme normal	Début de vague à tourbillon (<i>Note 3 à 5</i>)	40 à 100	> 300,000	< 25
Sperme médiocre	Léger mouvements à mouvement net sans vagues (<i>Note 1 à 2</i>)	10 à 40	De 10,000 à 300,000	25 à 40
Sperme mauvais	Aucun mouvement (<i>Note 0</i>)	< 10	< 10,000	> 40

VIII.2.2.3 Moment d'insémination

L'utilisation de la prostaglandine permet de prédire la venue en chaleur des vaches dans les deux jours suivant l'injection, cet aspect est très important aux regards de la rigueur requise en vue de la réussite d'un programme de transfert embryonnaire, c'est pourquoi les animaux sont inséminés artificiellement, généralement 2 fois, 12 et 24 heures après le début des chaleurs observées ou systématiquement 56 (ou 60) et 72 heures après l'injection de prostaglandines, ou 36 et 48 heures après le retrait des implants (NIBART, 1991). Certains auteurs préconisent de ne réaliser qu'une seule IA entre 2 et 20 heures après le début des chaleurs (NIBART, 1991).

Cependant, DALTON *et al*, (2000) ont montré qu'une insémination artificielle réalisée 24 heures après le début de l'œstrus de vaches Holstein superovulées a permis d'accroître les taux de fécondation et d'embryons, par rapport à une insémination effectuée 0 ou 12 heures après le début de l'œstrus (les taux de fécondation ont été de 29 (0h), 60 (12h) et 81% (24h). La qualité des embryons, par contre, n'a pas été affectée par le moment de l'insémination.

VIII.3 Processus de fécondation

La fécondation aboutit à la formation, à la faveur de la fusion d'un spermatozoïde et d'un ovocyte, d'un zygote, cellule souche diploïde et totipotente, précurseur des différents tissus et organes (THIBAUT ET LEVASSEUR, 2001); deux étapes-repères sont à retenir lors de la fécondation, la pénétration du spermatozoïde après attachement et fusion des deux membranes cytoplasmiques et l'activation de l'œuf qui s'achève par la première division et la segmentation.

La pénétration par le spermatozoïde de l'ovocyte survient deux heures après expulsion de ce dernier, en résulte, l'émission du second globule polaire et la reprise de la divisions cellulaire aboutissant à la formation de deux blastomères 24 à 48 heures post-fécondation. (IDRES, 2011).

Les œufs qui atteignent le stade 2 blastomères et 4 blastomères dans, respectivement, les 36 et 48 heures après la fécondation, ont davantage de chances d'arriver au stade blastocyste et donc d'aboutir à une implantation, au-delà du stade des deux blastomères, les divisions de l'œuf aboutiront à la formation de deux populations cellulaires, l'une de petite taille, issue d'une division plus précoce, aboutira à la formation du bouton embryonnaire (ICM, *Inner Cell Mass*), et l'autre de grande taille, résultat d'une division plus tardive, constituera le trophoctoderme, on l'aura compris, les cellulaires, au-delà du stade 2 blastomères ont non seulement une vitesse de division asynchrone mais aussi un caractère totipotent indifférencié et ce, jusqu'au stade 8 blastomères. (BETTERIDGE et FLECHON, 1988, *In* LAFRI, 2003)

IX. RECOLTE, CONSERVATION ET DECONGELATION DES EMBRYONS BOVINS

IX.1 Récolte

Après leur sortie de l'oviducte (J₄-J₅), les embryons sont collectés dans l'utérus avant leur éclosion (qui a lieu à J₉), La collecte est donc réalisée entre J₆ et J₈ après IA et presque toujours à J₇ (NIBART, 1991).

IX.1.1 Techniques de récoltes

IX.1.1.1 Récolte invasive « chirurgicale »

Réalisée sous anesthésie générale la récolte invasive était, autrefois, la seule technique de collecte des embryons, à la faveur d'une incision au niveau de ligne blanche en avant du pis, l'utérus était extériorisé, une incision d'un cm de long était pratiquée à la base de la corne utérine pour permettre l'introduction d'un cathéter à deux voies (sonde de FOLLEY). Le ballonnet était ensuite gonflé.

Le liquide de récolte était injecté via une aiguille à bout mousse au sommet de la corne utérine et récupéré par l'orifice situé à la base du ballonnet qui assure l'étanchéité. Après récolte, le ballonnet est dégonflé, l'utérus et les plans chirurgicaux sont suturés. Cette technique a pour avantages un taux de récupération élevé des embryons (70 à 80 %), la possibilité de juger la réponse ovarienne au traitement de superovulation par un comptage direct des corps jaunes. Elle fut pratiquement abandonnée étant donné la lourdeur de sa mise en œuvre mais aussi la difficulté de la pratiquer plusieurs fois chez un même sujet (CURTIS *et al*, 1991).



Figure 08: Collecte par voie chirurgicale (IDRES T, 2011)

IX.1.1.2 Récolte non invasive « endo cervicale »

Munie d'une chemise sanitaire, une sonde est introduite dans l'utérus après nettoyage et désinfection de la vulve. Deux types de sondes sont utilisées, la sonde IMV et celle de Han, l'habitude des opérateurs dicte l'utilisation de l'une ou l'autre avec des taux de collecte qui se rapprochent sensiblement. (MAPLETOFT *et al*, 1998).

Afin d'éviter le reflux du liquide de récolte dans le vagin, la sonde est fixée dans la corne utérine par un ballonnet gonflable. Les cornes utérines sont ensuite rincées à l'aide de tampon phosphate PBS, une anesthésie épidurale basse a l'avantage de limiter les mouvements de l'animal lors de la manipulation des cornes assurant ainsi la sécurité de l'opérateur.



Figure 09: Préparation pour l'injection épidurale en vue d'une collecte endo-cervicale (Clichés personnels)



Figure 10 : Introduction de la sonde FOLLEY en vue d'une collecte endo-cervicale (Clichés personnels)

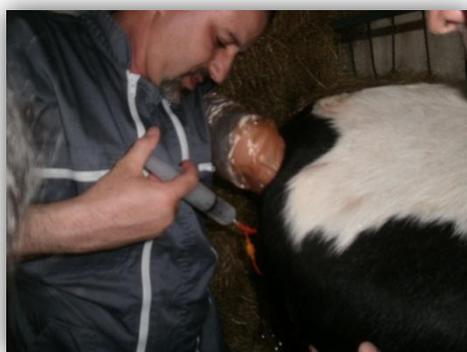


Figure 11 : Injection du liquide de collecte (Clichés personnels)



Figure 12 : Récupération du liquide de collecte (Clichés personnels)

IX.1.2. Critères d'appréciation de la qualité des embryons

Se basant sur l'évaluation des caractéristiques morphologiques de la zone pellucide et des blastomères, l'appréciation de la qualité des embryons après leur collecte a pour but de classer ces derniers en vue de leur utilisation biotechnologique future (transfert frais ou congélation).

L'évaluation morphologique fait classiquement référence à celle proposée par ELDBSEN en 1978. En pratique, huit éléments d'observation peuvent être retenus. Ils concernent la membrane pellucide (sphéricité, épaisseur, aspect fissuré ou non), le blastocyste en général (régularité de son aspect général, degré d'identification de ses différentes structures à savoir le trophoblaste, le bouton embryonnaire et la cavité blastocoelique) et les cellules blastocytaires (aspect des contours cellulaires et degré de variation de taille entre les cellules, présence de cellules détachées dans l'espace vitellin, présence de vacuoles dans les cellules ou de granulations à leur surface).

IX.2. Conservation des embryons

La grande variabilité de réponses individuelles aux traitements de superovulation est, actuellement, le problème auquel peu de solutions concrètes ont pu être proposées, une fois un schéma de transplantation embryonnaire mis en place, il est fréquent d'obtenir trop d'embryons pour le nombre de receveuses préparées, ou, à l'inverse, d'avoir préparé trop de receveuses pour une maigre collecte.

La conservation des embryons est très vite apparue comme une solution intéressante, venant à bout des gaspillages d'embryons surnuméraires ou à la réquisition de receveuses, qui, à la fin ne se verront pas recevoir d'embryons. (GUIGNOT *et al*, 2005).

Elle permet la constitution d'un stock d'embryons utilisables servant à conserver des lignées génétiques productives ou rares et à faciliter les échanges internationaux. (IDRES, 2011)

IX.2.1. Base de la cryobiologie

La conservation des embryons pendant des durées importantes (de quelques semaines à plusieurs années) n'est envisageable que si son organisme est complètement bloqué, c'est là le but essentiel de la congélation, la réduction au maximum des mouvements moléculaires et l'inhibition des réactions chimiques et enzymatiques. La plus part des systèmes biologiques

ne montrent, en effet, aucune détérioration lorsqu'ils sont conservés à des températures suffisamment basses. (MOREIRA *et al*, 2005).

IX.2.2. Milieux de conservation

Les cryoprotecteurs sont des composés organiques; généralement des alcools de faible poids moléculaire comme le glycérol, le DMSO (Diméthylsulfoxyde), l'éthylène glycol ou le propane-diol. Ils vont se substituer à une partie de l'eau intracellulaire, permettant ainsi une déshydratation partielle des cellules de l'embryon et limiter la formation de cristaux de glace intracellulaire. (VAJTA, 2000)

En fonction de leurs capacités à entrer dans la cellule et leur activité osmotique, les cryoprotecteurs peuvent être classés en trois groupes ;

- *Les cryoprotecteurs pénétrant la cellule* : généralement de faible poids moléculaires, glycérol (92.1), DMSO (Diméthylsulfoxyde), (78.13), éthylène-glycol (62.07) et le 1.2 propanediol (76.1).
- *Les cryoprotecteurs ne pénétrant pas la cellule et osmotiquement actif* : c'est le cas du sucrose, glucose (181.1), tréhalose (378.3), galactose (180.2) et le sucrose (342.3).
- *Les cryoprotecteurs ne pénétrant pas la cellule et osmotiquement inactif* : De poids moléculaire supérieur à 50, 000, l'amidon hydrox éthylique (7.34), polyvinylpyrrolidone (7.34), le hyaluronate de sodium (46.78) et l'alcool polyvinylique (34.109).

IX.2.3. Techniques de conservation

IX.2.3.1. La congélation lente

Basée sur l'équilibration progressive entre les cryoprotecteurs et le compartiment aqueux de l'embryon, la congélation lente utilise le glycérol, l'éthylène glycol, le DMSO ou encore le propane-diol, à la concentration de 10 % environ, ce qui équivaut à 1 à 1,5 M soit en une seul étape ou disposés dans plusieurs bains de concentrations croissantes (ex. :0,5, 1 puis 1,5 M, avec environ 5 minutes dans chaque bain), afin d'éviter les chocs osmotiques importants. (IDRES, 2011)

Après leur conditionnement dans des paillettes de 0,25 ml, les embryons subissent une réfrigération puis un refroidissement selon différents paliers de température décroissante. (CURTIS, 1991)

Dans l'appareil de congélation préalablement refroidi, la température descend, dans un premier temps, jusqu'à - 7° C à la vitesse de 1 à 3° C/min, les paillettes sont maintenues à cette température pendant 5 minutes environ, avant l'induction de la cristallisation «seeding». (IDRES, 2011)

De - 7° C à - 30° C, la température descend très lentement (0,1 à 0,3° C/min) pour permettre la déshydratation des embryons. En fonction des protocoles, l'arrêt de la descente progressive de température se fait entre - 25° C et - 35° C. Les paillettes sont ensuite rapidement plongées dans l'azote liquide à - 196° C.

IX.3. Décongélation et retrait du cryoprotecteur

Obtenue après agitation des paillettes dans de l'eau à 20°C jusqu'à fonte de la glace, le cryoprotecteur peut être éliminé de deux manières :

- En rinçant les embryons dans trois bains successifs ayant des concentrations en glycérol décroissantes (7,5%, 5% et 2,5%) pendant 5 minutes environ pour chaque bain, puis passage dans du PBS pendant trois minutes (LEHN-JENSEN et GREVE, 1981)
- En faisant passer les embryons pendant 10 à 20 minutes dans une solution de sucrose à 1 M puis dans du PBS (LEHN-JENSEN, 1983).

X. TRANSFERT EMBRYONNAIRE CHEZ LA VACHE

Une fois les embryons récoltés, classés et conditionnés, ils sont mis en place dans les receveuses selon deux méthodes, à savoir, la méthode dite chirurgicale et celle faite en endocervicale ;

La méthode chirurgicale est effectuée sur un animal debout localement anesthésié (épidurale et anesthésie par infiltration), une incision au niveau du flanc gauche permet l'accès à l'abdomen et l'extériorisation de la matrice, une fois l'ovaire porteur du CJ identifié, l'opérateur ponctionne la paroi de la corne utérine à l'aide d'une aiguille à pointe mousse puis procède à l'injection de l'embryon dans la lumière cornuale, des plans de sutures sont réalisés pour le péritoine, les plans musculaires et la peau. (IDRES, 2011).

La méthode non chirurgicale ou endocervicale, emprunte les voies naturelles, en effet, au moyen d'un pistolet de transfert, l'embryon est mis en place le plus haut possible dans la corne utérine ipsi-latérale de l'ovaire porteur du CJ, de meilleurs résultats sont rapportés avec le pistolet télescopique qui épouse la forme des courbures de la corne utérine permettant ainsi une mise en place plus appropriée de l'embryon.

Des mesures d'hygiène très rigoureuse sont nécessaires lors du transfert de l'embryon afin d'éviter toute infection ou éventuelles réaction inflammatoire qui nuira inéluctablement au micro-climat de l'embryon dont sa survie dépend.

La mise en place de l'embryon doit se faire de manière délicate en poussant le piston avec le pouce et veiller à ne pas masser la matrice (contrairement à ce qui se fait lors de l'IA), le retrait du dispositif doit aussi se faire avec délicatesse afin d'éviter de léser la paroi utérine de la receveuse. (IDRES, 2011)

REALISATION
EXPERIMENTALE

Chapitre 01.

Matériel et Méthodes

La transplantation embryonnaire, autrefois dénommée improprement « inovulation » car il s'agit de transfert d'embryon et non d'ovules, est une technique qui n'est qu'à ses débuts en Algérie et ne connaît que peu d'essor sur le terrain ! Néanmoins, les étapes qui la précèdent telles l'induction et la synchronisation des chaleurs, la stimulation ovarienne et l'insémination artificielle sont des techniques d'usage courant dans le contrôle de la reproduction dans les élevages bovins en Algérie.

I. OBJECTIFS DE L'ESSAI :

Notre travail consiste à réaliser un transfert embryonnaire sur des génisses elles-mêmes issues de transfert embryonnaire réalisé auparavant par le CNIAAG et le laboratoire LBRA de l'université de Blida sous la responsabilité du professeur KAIDI dans la propriété de M. LAHYANI.

II. LIEU ET ETAPES DE L'EXPERIMENTATION :

II.1. Données générales sur les lieux de l'expérimentation :

Le travail a été réalisé au niveau du complexe de l'élevage bovin LAHYANI et fils au niveau de la commune de H'TATBA au lieu-dit TEKTEKA ; ce complexe s'est spécialisé, depuis plusieurs années, dans l'élevage de bovins laitier « Holstein » importé du Canada, actuellement, une diversification de la production est envisagée avec l'introduction de bovins à viande « Charolais ».



Figure 13 : Stabulation semi-entravée (clichés personnels)

II.2. Etapes de l'essai:

L'essai a été réalisé sur trois génisses ; la première génisse qui était en chaleur et qui a fait l'objet de notre essai est la numéro 930 (figure 14); c'est une pie noire Holstein ; ces génisses sont nées suite à un TE en utilisant des embryons sexés femelles.



Figure14 : Génisse ayant servi à l'essai (clichés personnels)

II.2.1. Superovulation, insémination des donneuses et appréciation de la réponse à la stimulation ovarienne :

Le nombre d'embryons produits est, pour une grande part, conditionné par le nombre d'ovulations induites. Ces dernières sont facteurs de l'état de la population folliculaire présente au moment de l'instauration du protocole de stimulation ovarienne (Présence ou non d'un follicule dominant mais aussi et surtout du nombre de follicules dit « recrutables »)

La FSH ayant une demi vie relativement courte, deux injections bi-journalières espacées de 12 heures durant quatre jours à doses décroissantes étaient nécessaires afin d'induire la superovulation. Manquer une injection ou se tromper de dosage compromettrait tout le protocole.

II.2.1.1. Matériel, produits et techniques utilisés pour la superovulation :

II.2.1.1.1. Les animaux :

Le jeudi 04/04/2013, la génisse 930 à commencer a manifesté des signe de chaleur, ce même jour elle a commencé à chevauché ces congénères tout en manifestant des beuglements. Le lendemain vendredi 05/04/2013, cette génisse c'est laisser chevaucher, Signe reconnu comme début de chaleur ; nous avons donc pris cette date comme chaleur de référence.

Au dixième jour après les chaleurs de référence soit le lundi 15/04/2013 le traitement de superovulation a été entamé à 10h15.

Produits et protocoles utilisés : Le protocole de superovulation comprenait une série d'injections d'extraits hypophysaires et de prostaglandine selon un schéma bien précis représentées dans la figure 15.

II.2.1.1.2. Produits et protocole utilisés :

➤ **Produits utilisés**○ **Extraits hypophysaires :**

STIMUFOL ® (ULg FMV PhR, Sart-Tilman, Belgique) est un extrait hypophysaire comprenant deux fractions, de la follitropine et de la lutropine d'origine porcine sous forme lyophilisée à reconstituer avant l'emploi.

Conditionnement : En boite de deux flacons :

Un flacon de lyophilisat : constitué de 500 µg de follitropine porcine (pFSH) et de 100 µg de lutropine porcine (pLH).

Un flacon de solvant composé de :

Chloride de sodium	90mg
Parahydroxybénzoates de méthyle	10mg
Parahydroxybénzoates de propyle	2,5 mg
Solution de reconstitution physiologique apyrogène	10 ml

Dose totale : Exprimée par la quantité totale d'hormone administrée à la femelle, le producteur préconise une dose de 450 µg à 500 µg pour les vaches et de 320 µg à 360 µg pour les génisses, soit en 08 doses identiques ou bien fractionnées en 08 doses décroissantes durant 04 jours à raison de 02 injections espacées de 12 heures.

Conservation :

Une fois reconstitué, le produit peut être conservé durant 04 jours entre +2°C et +8°C à l'abri des rayons du soleil.

Le producteur préconise aussi des mesures d'asepsie adéquates pour la manipulation du produit, tout en relevant un effet indésirable, celui d'une éventuelle baisse de la production laitière en cas d'utilisation de la Follitropine ® chez les vaches en cours de lactation, le délai d'attente pour la consommation des produits des animaux soumis au traitement est, quant à lui, nul.

○ Prostaglandine :

Le protocole dicté par le producteur comprenait une injection simple ou double de prostaglandine à la 5^{ème} ou à la 5^{ème} et à la 6^{ème} injection de FSH, et ce, le troisième jour du traitement de superovulation.

Nous avons utilisé, lors de notre essai, le Cloprosténol (ESTRUMAT ® Schering-Plough) qui est un analogue de synthèse de la prostaglandine F2 α.

ESTRUMAT ® se présente sous forme d'une solution stérile incolore et transparente contenant 236 µg de Sodium de Cloprosténol conditionné dans un flacon unidose de 2ml ou multidoses de 10 ml.

Nous avons administré à la femelle traitée, comme indiqué par le fabricant, 02 ml par injection, soit un total de 4ml lors du traitement de superovulation.

➤ **Protocole**

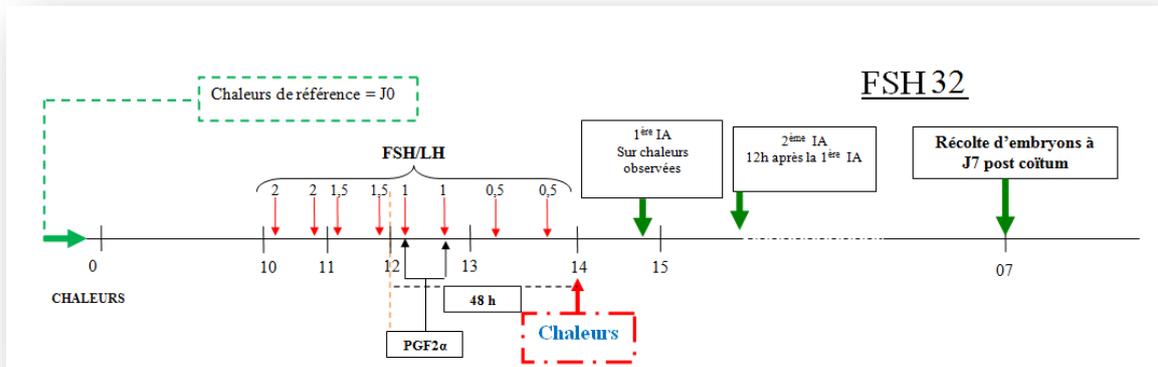


Figure 15 : Schéma chronologique de l'expérimentation

Durant les quatre jours de l'application du traitement de superovulation, la génisse était mise à l'écart des autres vaches pour mieux la manipuler ; elle a reçu sa première injection d'extrait hypophysaire à 10h15 matin

L'opération est reprise le soir à 22h de façon à ne pas faire de retard sur l'injection et cela en respectant les 12h d'intervalle ce qui veut dire 22h15.

Au troisième jour du traitement, la génisse reçoit, en plus de sa dose de FSH, une dose de PGf2α le matin et une autre le soir, appliquant ainsi le protocole dicté par le fabricant.

Protocole : FSH 32

A J₁₀ des chaleurs de référence, le protocole de superovulation a débuté selon le calendrier ci-dessous :

Tableau 06 : Protocole FSH-32

Jours		STIMUFOL ®		ESTRUMAT ®	
		<i>Matin (10h15)</i>	<i>Soir (22h15)</i>	<i>Matin (10h30)</i>	<i>Soir (22h30)</i>
J₁₀	Lundi 15 avril 2013	6 mg (2 ml)	6 mg (2 ml)	--	--
J₁₁	Mardi 16 avril 2013	5 mg (1,5 ml)	5 mg (1,5 ml)	--	--
J₁₂	Mercredi 17 avril 2013	3 mg (1 ml)	3 mg (1 ml)	2 ml	2 ml
J₁₃	Jeudi 18 avril 2013	2 mg (0,5ml)	2 mg (0,5ml)	--	--



Figure 16 : Deuxième injection de FSH à 22h15 (clichés personnels)

II.2.1.1.3. Insémination des donneuses :

Au lendemain des dernières injections de FSH, c'est-à-dire au 15^{ème} jour de l'essai, la génisse concernée a subi la première insémination 12 heures après le début des chaleurs soit vers 18h ; la deuxième insémination a eu lieu à 12 heures d'intervalles le lendemain.

Chaque insémination a été réalisée avec deux paillettes de semence sexée femelle de taureaux de race pie noire Holstein, les paillettes nous ont été fournies par le CNIAAG (Centre National d'Insémination Artificielle et d'Amélioration Génétique)

II.2.1.2. Appréciation de la réponse ovarienne par palpation transrectale des ovaires :

Etant les seuls révélateurs d'une ovulation, les corps jaunes étaient comptés et appréciés afin d'avoir une idée sur la qualité de la réponse des ovaires aux protocoles de superovulation.

La palpation transrectale (figure 17) des ovaires est une pratique quasi journalière qui permet un diagnostic facile, rarement défaillant, et une dextérité qui rend le travail aisé, dans notre essai, nous avons exploité cette technique afin de comptabiliser les structures présentes sur chaque ovaire, ces dernières nous renseignaient sur la qualité de la réponse de chaque femelle au traitement de superovulation qui lui a été instauré. (IDRES, 2011)

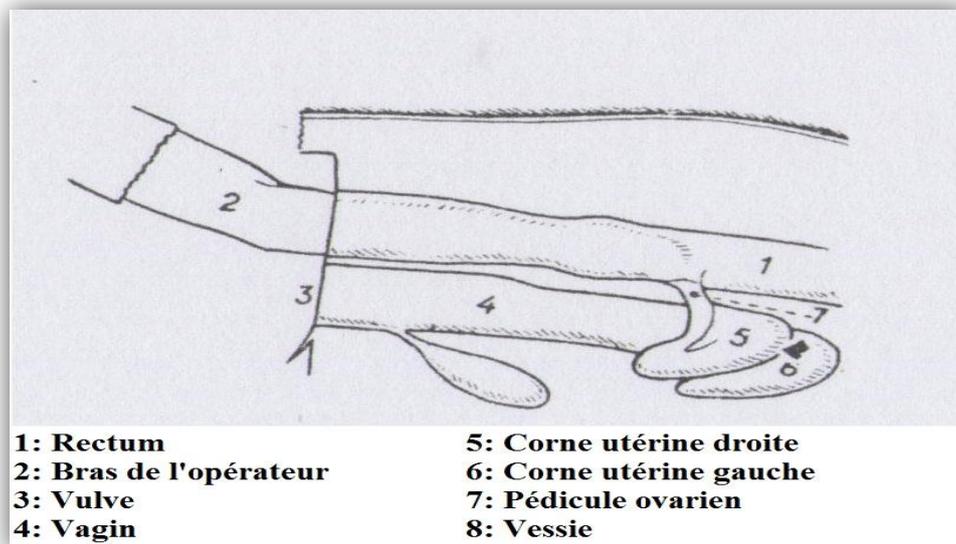


Figure 17 : Palpation transrectale (IDRES ,2011)

Au préalable de la récolte, un opérateur expérimenté fouille la donneuse afin de dénombrer les corps jaunes présents sur chacun de ses ovaires.

Un aide contentienne la vache pendant que l'opérateur vide le rectum de cette dernière de son contenu de matières fécales (figure 18) ; à la faveur d'un léger balayage, la palpation du cervix est possible (premier repère anatomique palpable lors de fouilles rectales), l'opérateur avance de 2 ou 3 cm en avant de l'extrémité distale du cervix le laissant ainsi

glisser dans le creux de sa main, une fois cette dernière posée sur le corps de l'utérus, l'opérateur dévie sa main sur le côté droit (ou gauche, tout dépend de son habitude de manipulations) en cherchant l'ovaire.

Dès que l'ovaire est localisé, l'opérateur fait un mouvement de rotation de la main de sorte à ramener l'ovaire dans le creux de cette dernière tout en prenant le pédicule ovarien entre l'index et le majeur, la palpation peut alors être faite avec le pouce qui contourne toute la surface de l'ovaire



Figure 18 : Palpation transrectale en vue de l'appréciation du nombre de corps jaune (clichés personnels)

II.2.2. Récolte et manipulation des embryons

La dernière étape de notre essai, après la superovulation et l'appréciation de la qualité de cette dernière, était la récolte des embryons.

II.2.2.1. Matériel et produits utilisés

Le jour de la collecte, l'animal est placé dans un box individuel, propre avec une litière en paille épaisse et sèche, contentionné par un aide, subis une anesthésie épidurale haute avec un volume de 3 cc de Xylocaïne ® à 2% mis en place à l'aide d'une aiguille, Terumo ® montée sur une seringue jetable de 5 cc, dans l'espace qui sépare la dernière vertèbre sacrée de la première vertèbre coccygienne, pour éviter les contractions rectales et utérines pouvant gêner l'opérateur.



**1 - Sonde FOLLEY 2 – Mandrin 3-Dilatateur du cervix 4- Xylocaine® 2%
5- Seringue a 50cc 6 – Seringue de 10cc 7- Gants de fouille rectale 8- pinces
hémostatique et ciseau 9 – Seau**

Figure 19 : photo des matériels utilisés (clichés personnels)

Après vidange du rectum de la femelle des matières fécales qu'il contenait, on nettoie la vulve et la région péri-vulvaire (périnée, anus, pointes des fesses, puis en descendant, l'intérieur des cuisses jusqu'au plis mammaires) avec de l'eau, dans un premier temps, puis de la Bétadine ® diluée, ensuite, toute la région est séchée au papier essuie-tout.



Figure 20 : Nettoyage de la région péri-vulvaire (clichés personnels)



Figure 21 : Essuyage de la région péri-vulvaire (clichés personnels)

II.2.2.2. Technique de récolte

Cathétérisme du col

Nous introduisons par voie rectale l'avant main muni d'un gant de fouille Polysem ® et saisissons le col, le dilatateur de cervix (de diamètre Ch 12 en inox inoxydable Réf : 19001/1000 Minitüb Tiefenbach-Germany) muni d'une chemise sanitaire (Minitüb ®) est introduit via le vagin, une fois les premiers anneaux cervicaux passés nous essayons de faire des mouvements rotatoires dans la lumière du canal endocervical, essayant ainsi de le dilater au maximum (figure 22). Le dilatateur est retiré et la sonde de Folley (Ch 15 Worrlein Gr) munie, elle aussi, d'une chemise sanitaire et montée sur un mandrin en acier inoxydable est introduite (figure 23).



**Figure 22 : Dilatation du col
(clichés personnels)**



**Figure 23 : introduction de la sonde
FOLLEY (clichés personnels)**

Mise en place de la sonde de récolte

Saisissant fermement le col par son extrémité proximale, nous le poussons vers l'avant laissant le vagin former une sorte de cône sans replis ; la vulve est alors rincée avec une solution antiseptique et essuyée avec du papier « essuie-tout », réduisant ainsi au minimum le nombre de germes pénétrant le vagin et l'utérus.

Nous avons utilisé une sonde de FOLLEY de diamètre 15 (Minitüb ®), sonde à ballonnet 100% silicone, munie d'un mandrin très fin en acier inoxydable lui conférant une rigidité nécessaire lors du cathétérisme du col, la sonde de Folley mesure 30 cm et possède, à l'une de ses extrémités, des orifices latéraux d'où sort et revient le liquide de récolte, et à l'autre extrémité, deux conduits séparés qui longent la sonde, l'un jusqu'au ballonnet servant à inflater ce dernier et l'autre jusqu'aux orifices et sert à véhiculer le liquide de récolte.

La sonde est glissée le long du plafond vaginal, évitant, de ce fait, le méat urinaire, jusqu'à l'exocol, une fois le premier anneau cervical franchi, le col est ramené vers soi, rendant ainsi le cathétérisme plus aisé qu'à bout de bras, la sonde est maintenue entre le pouce et l'index, le col, quant à lui, est saisi à pleine main et orienté dans toutes les directions, nous évitons ainsi une éventuelle pénétration accidentelle de la cavité péritonéale par suite d'une toux de l'animal ou d'un tout autre geste brusque.

Une fois la sonde dans le corps de l'utérus, nous faisons glisser la sonde doucement (centimètre par centimètre) en cherchant à placer son extrémité, au moins, à un travers de main de la bifurcation des cornes utérines.

L'assistant gonfle le ballonnet avec 10 cc d'air, vu le diamètre relativement petit des cornes utérines de la génisse, ce qui assure le maintien de la sonde dans la corne utérine et son étanchéité, la perfusion de la corne peut alors commencer.

Perfusion de la corne utérine

A l'aide d'une seringue de 50mL, l'assistante injecte, pour commencer, 20 mL de liquide de collecte (PBS BoviPro MiniTube ®), ce qui met la corne légèrement sous pression et permet ainsi de la déplier faisant circuler le liquide jusqu'à la jonction utéro-tubaire, après un léger massage de la corne, le liquide injecté est réaspiré dans la seringue et déversé dans un flacon maintenu à 37°C dans un bain-marie, l'opération est répétée mais avec des volumes croissants (à l'exception de la dernière injection ,où on remplit la seringue avec 20ml de liquide de récolte et 30ml d'air ,ce dernier sera injecter en dernier pour faire tourner le liquide dans la corne pour assurer une collecte maximale .), permettant ainsi un gonflement progressif de la corne à chaque perfusion,

Changement de corne

Nous avons, pour ce faire, procédé de deux manières, toutes deux s'étant avérées efficaces, après dégonflage du ballonnet, la première technique consiste à ramener la sonde vers soi jusqu'à ce que nous sentions, avec, bien évidemment la main gauche, le premier anneau du ballonnet entrer dans le col, nous remettons, à ce moment, le mandrin en place et nous nous engageons dans l'autre corne utérine, la seconde technique, quant à elle, consiste à faire glisser légèrement l'extrémité de la sonde sur l'espace intercornual et sentir le décrochement de cette dernière quand elle quitte la corne, le mandrin est réintroduit et la sonde réengagée dans l'autre corne.

Dans cette deuxième technique, nous avons veillé à bien vérifier l'emplacement de la sonde avant de nous réengager car le voile utérin se prolonge dans le corps de l'utérus bien au-delà de la scissure palpable des cornes.

II.2.2.3. Recherche et manipulation des embryons

L'observation, la manipulation et le conditionnement des embryons, requièrent un ensemble de matériel de laboratoire spécifique à chaque étape.

II.2.2.3.1. Matériel et milieux utilisés

Les flacons en verre contenant le liquide de perfusion sont laissés à décompter pendant 10 à 15 minutes sur plaque chauffante à 37°C (figure 24), après quoi, le liquide est siphonné de sorte à ne laisser que les 2/10^{èmes} du contenu du flacon.

Le décantât est ensuite versé dans des boîtes de Pétri quadrillées et mises sous une loupe binoculaire Nikon ® (figure 25), la recherche des embryons peut alors commencer.

L'opérateur peut procéder de la manière qui lui convient le mieux, il faut juste, qu'à la fin de la recherche, tous les carrés soient passés en revue et de préférence plusieurs fois par des opérateurs différents, ceci limite le risque d'erreur et de fatigue.

Une fois l'embryon repéré, il est monté dans une paillette 0,25 mL et déposé dans une cupule contenant du Holding Medium Bovi Pro ® (figure 26) et déposée sur une plaque chauffante maintenue à 37°C.

Tout au long du travail, la température entourant l'embryon devait être maintenue à 37 °C, le cas échéant, la qualité des résultats auraient été lourdement compromise, ceci était possible grâce à une plaque chauffante (Minitube ®), la température ambiante était, quant à elle, assurée par le chauffage du laboratoire.

L'observation des embryons s'est faite d'abord sous une loupe binoculaire performante (Nikon ®).



**Figure 24 : Plaque chauffante Minitube®
(clichés personnels)**



**Figure 25 : Loupe binoculaire inverser
Nikon® (clichés personnels)**



**Figure 26 : Milieu de transfert Bovipro
Minitube® (clichés personnels)**



**Figure 27 : Recherche des embryons dans le
liquide récolté (clichés personnels)**

II.2.2.4. Appréciation et classification des embryons

Afin de pouvoir apprécier et classer les embryons trouvés, nous nous sommes référés, aux critères morphologiques de qualité et de viabilité dictés par la société internationale de transfert embryonnaire « I.E.T.S », reportés dans le tableau 07 ci-dessous.

Tableau 07 : critères d'appréciation et de classification des embryons (IDRES ,2011)

<i>Classe</i>	<i>Appréciation</i>	<i>Critères de qualité</i>
1	Excellent ou Bon	<u>Embryon de 7 jours d'âge le jour de la collecte</u> De forme sphérique avec des blastomères polygonaux, symétriques d'aspect compacte et de texture et de couleur homogènes
2	Moyen	<u>Embryon accusant un retard de développement de 1 à 2 jours</u> Blastomères sphériques de tailles variables plus claires ou sombre que la normale, embryon au stade morula avec quelques défauts (Cellules détachées de l'espace périvitellin, quelques cellules dégénérées).
3	Médiocre	<u>Embryon présentant des anomalies multiples</u> Présence d'une masse cellulaire homogène d'apparence viable Cellules de tailles différentes, dégénérées et détachées, vésicules volumineuses et en grand nombre.
4	Mort dégénéré ou	Cellules dégénérées et arrête de développement à un stade précoce.

Chapitre 02.

Résultats et discussions

I. INTRODUCTION

L'intérêt de ce travail réside dans l'étude des résultats pouvant être obtenus à partir de la génisse donneuse issue de transfert embryonnaire. Ce travail s'inscrit dans un projet de production d'embryon par le laboratoire LBRA de Blida en collaboration avec le CNIAAG.

II. CHOIX DE LA DONNEUSE

Cette donneuse a été sélectionnée car étant elle-même issue d'un TE sexé et donc considérée comme génisse à haut potentiel génétique.

III. TRAITEMENTS DE SUPEROVULATION

Plusieurs travaux ont été entrepris en vue de déterminer des traitements optimaux de superovulation adaptés aux races locales en Afrique (CHICOTEAU, 1989 ; BIANCHI *et al*, 1989 ; BLANVILLAIN, 1993) et au Maghreb (MAZOUZ *et al*, 1994 ; ELAIDI *et al*, 1996 ; ELAIDI *et al*, 1997 ; AMARA ; 2003 ; ADEL, 2004 ; FERROUK, 2008).

En Algérie, des essais de superovulation, à base d'eCG, ont été entrepris en 1996 au CNIAAG (Centre Nationale d'Insémination Artificielle et d'Amélioration Génétique) se soldant par l'obtention d'embryons dégénérés (IDRES, 2011). Une autre étude utilisant un extrait hypophysaire (Pluset ® ; Laboratoires Calier, Espagne) sur 12 donneuses a eu pour résultat la production de 72 CJ au total avec une moyenne de 06 CJ par vache (AMARA, 2003). De même que ADEL (2004) a comparé l'effet de deux extraits hypophysaires, le Pluset ® et le Stimufol ® sur 18 vaches et a abouti à des réponses ovariennes satisfaisantes avec 6,58 CJ en moyenne par vache.

IV. INTERVALLE PG-DEBUT DE CHALEUR

L'intervalle entre l'injection de PG et le début des chaleurs est d'après l'anamnèse environ de 48h (tableau 08), ce qui est un résultat supérieur de ceux obtenus dans plusieurs travaux ;

Tableau 08 : intervalle PG-début des chaleurs

Intervalle PG-début de chaleur	≈ 48h
--------------------------------	-------

IDRES T (2011) a obtenu dans ses recherches un intervalle de 37,27 h pour la totalité de l'effectif utilisé, avec une moyenne de 39,00 h pour le groupe FSH-32 et 35,79 h pour le groupe FSH-40 ; FERROUK et al. (2008) ont obtenu un intervalle de $39,5h \pm 3,26h$

Un intervalle moyen PG-Début des chaleurs de 42h dans un troupeau de vaches de race Montbéliarde a été rapporté dans une étude antérieure (LAIZEAU, 2009). Cet intervalle est caractérisé par une variabilité considérée comme l'un des facteurs limitant la production qualitative des embryons.

En effet, tout retard au début des manifestations œstrales est synonyme de retard de maturation ovocytaire et plus précisément, de maturation nucléaire (HUNTER *et al*, 1984). De plus, comme les IA sont réalisées systématiquement à des heures fixes lors de cycles maîtrisés, des anomalies de fécondation peuvent être observées justifiant la qualité inférieure des embryons récoltés sur des vaches manifestant tardivement ou de manière très variables leurs chaleurs.

V. LA SAILLE

La fécondation des ovocytes émis est tributaire, entre autre, de la qualité de la semence utilisée, du moment et du nombre d'inséminations artificielles effectuées.

Généralement, 02 IA sont préconisées : 12h et 24h après le début des chaleurs observées ou 56h et 72h après injection de PG ou enfin 36 et 48 heures après le retrait des implants (NIBART, 1991). Cependant, certains auteurs ont démontré qu'une seule IA est suffisante si l'œstrus est détecté avec beaucoup de rigueur (LACAZE *et al*, 1992).

Le taux de fertilisation, après IA, des vaches mono-ovulantes (n'ayant pas subi de superovulation) est de l'ordre de 85-95% alors que pour les vaches superovulées, il n'est que de 65-75% (HASLER, 1992).

Dans notre expérimentation, la donneuse utilisée a été inséminée avec de la semence sexée femelle issue de taureaux d'élite (KARONA BONAIR) de race pie noire Holstein dont la fertilité a été prouvée par des évaluations macroscopique et microscopique réalisées au niveau du CNIAAG.

Dans notre travail, comme dans la plupart des expérimentations décrites dans la bibliographie, les donneuses étaient inséminées 12h et 24h après le début des chaleurs.

VI. PALPATIONS OVARIENNES

A la palpation transrectale, on a enregistré 21 corps jaune ; 10 au niveau de l'ovaire droit et 11 dans l'ovaire gauche (tableau 09).

Tableau 09 : Nombre de corps jaune palpés

	Ovaire gauche	Ovaire droit
Nombre de CJ palpé	11	10

Nos résultats sont approximatifs à ceux obtenus par IDRES (2011), qui se représente par une moyenne de corps jaunes de $21,33 \pm 2,50$ pour le groupe FSH-32 et de $18,86 \pm 3,44$ pour le groupe FSH-40 ; ces derniers sont largement supérieurs à ceux rapportés chez les races améliorées se situant entre $10,30 \pm 1,30$ et $14,70$ (CHUPIN en 1988 ; GUILBAULT *et al*, 1991 ; HUHTINEN *et al*, 1992), pour FERROUK *et al*, (2008), le nombre de CJ palpé était de $7,5 \pm 3,26$ largement inférieur au notre ce qui prouve la diversité à la réponse au traitement de superovulation qui peut être différente d'une race à une autre, d'un animal à un autre et même d'une collecte à une autre.

En Afrique, des moyennes de 6,50 CJ et de 14,40 CJ ont été rapportées, respectivement, chez la race Baoulé au Soudan (CHICOTEAU, 1989) et de 6,90 CJ chez la race Baoulé au Burkina-Faso traitée avec 32mg de FSH (BIANCHI *et al*, en 1989).

Afin d'expliquer la faiblesse de leurs résultats, les auteurs précédemment cités avancent les hypothèses suivantes : des extraits de FSH inappropriés aux races locales étudiées (lots d'extraits hypophysaires, dont le rapport LH/FSH est souvent variable ou des doses insuffisantes pour des réponses optimales), des excès de poids et des BCS importants au moment de l'instauration des traitements et enfin, des conditions d'élevage souvent incontrôlables et difficiles à standardiser surtout en milieu villageois.

En Algérie, une étude comparant deux molécules de FSH (Stimufol® ULg FMV PhR, Sart-Tilman, Belgique et Pluset®, Laboratoires Caliers, Espagne) de laboratoires différents sur un effectif total de 12 vaches s'est soldée par une moyenne de 4,66 CJ (AMARA, 2003).

Cette étude a été renouvelée une année plus tard à l'issue de laquelle une moyenne de 7 CJ a été obtenue (ADEL, 2004). Pour la Brune de l'Atlas, des moyennes de 7,5 CJ et 9,5 CJ ont été rapportées (KAIDI, 2006 ; FERROUK *et al*, 2008). Rappelons qu'en raison du faible nombre de donneuses utilisées (2 à 4 pour chaque expérimentation), il est difficile de tirer des conclusions définitives.

VII. PRODUIT DE RECOLTE

VII.1 Taux de récupération de liquide injecté

Le taux de récupération de liquide injecté est défini par la formule suivante :

$$\text{Taux de récupération} = \frac{\text{Volume aspiré}}{\text{Volume injecté}} \times 100$$

Le tableau 10 récapitule les taux de récupération du liquide injecté dans chaque corne utérine.

Tableau 10 : Taux de récupération du liquide injecté

Donneuse	Volume injecté (ml)		Volume récupéré (ml)		Total volume récupéré (ml)	Taux de récupération (%)
	Corne gauche	Corne droite	Corne gauche	Corne droite		
1	250	255	210	200	410	81,18

VII.2 Résultats de récolte d'embryons :

En dépit de la très bonne réponse aux traitements de superovulation constatée après dénombrement des corps jaune présents sur les ovaires; aucun produit (embryon, ovocyte et zone pellucide vide) n'a été repéré.

Lors de notre essai, les résultats obtenus étaient négatifs, plusieurs facteurs peuvent être responsables ; pour cela on a mis au point quelques hypothèses et suggestions pour mieux apprécier les résultats :

➤ Une ovulation prématurée :

C'est une anomalie largement rapportée dans la littérature qui peut se produire chez les vaches superovulées. CALLESEN *et al*, (1987) ont démontré que, dans une certaine proportion de bovins superovulées, l'ovulation peut se produire à un moment où d'autres follicules n'ont pas atteint la taille de follicule ovulatoire. Ils raisonnaient que le contenu LH ou la LH-like activité de certains lots de FSH-P et l'ECG peut induire l'ovulation des larges follicules qui sont présents au moment de l'entrée en vigueur de la superovulation. Cette ovulation résulte dans la présence d'une source de production de progestérone dans les étapes ultérieures du traitement de superovulation, en particulier au moment de l'IA. Ces jeunes corps jaunes (CL départ) ne sont pas sensible à la prostaglandine (PGF2 α) injection administrée dans le cadre du traitement de superovulation. La présence d'un taux élevé de progestérone (> 1rig/ml), (KAFI, MCGOWAN, 1997) durant la période pré-ovulatoire, peut entraîner l'échec de l'expression de œstrus et / ou l'échec d'un pic de LH. Il peut également perturber le processus de reprise de la méiose (FOOTE et ELLINGTON, 1988). L'incidence de l'ovulation prématurée chez les bovins superovulées a été signalée approximativement à 13% (CALLESEN *et al*, 1987). CALLESEN *et al*, (1987) a rapporté que le traitement FSH-P induit moins d'ovulations prématurés (9%) que le traitement avec ECG (14%) et l'incidence d'ovulations prématurés était plus élevé chez les génisses (21%) que chez les vaches (3%). Cela peut être attribué à une plus grande possibilité de la présence d'un follicule dominant capable d'ovulation au moment du début de traitement de gonadotropine chez les génisses ;

➤ Régression lutéale prématurée

A été rapporté (BOOTH *et al*, 1975; BRAND *et al*, 1978; BETTERIDGE *et al*, 1982) chez les bovins superovulées et est un phénomène reconnu chez les caprins (EPPELSTON, 1982). Une diminution significative de la concentration de progestérone approximativement 5 jours après l'insémination artificielle (IA) a été définie comme régression lutéal prématurée (KAFI, MCGOWAN, 1997). L'incidence déclarée de cette anomalie varie de 3,7 (BRAND *et al*, 1978) à 10% (LAMMOND et GADDY, 1972) chez les vaches superovulées. Le

phénomène de régression lutéale prématurée a été observée étant accompagné d'un taux d'ovules / embryon récupération pauvres (5% dans un groupe avec une régression du CJ contre 40% dans un groupe avec normal du CL) (BOUTERS *et al*, 1980) et la récupération d'un pourcentage élevé (77%) d'embryons de pauvre qualité (BOUTERS *et al*, 1980; MCGOWAN *et al*, 1985). Apparemment, cette anomalie n'est pas associée à un traitement de superovulation spécifique. La raison pour l'apparition prématurée de régression lutéale n'est pas claire. Une aberration dans la folliculogénèse ou la libération prématurée d'une hormone lutéolytique peut être responsable de régression lutéal prématurée ;

- Salpingite : Inflammation des trompes de Fallope qui aboutit à l'obstruction bilatérale du salpinx et de cela bloqué le passage des ovocytes et la continuité de son acheminement.

Chapitre 03.

Conclusion et recommandations

Ce projet de fin d'étude nous a permis tout d'abord de nous initier à la recherche.

Le sujet choisi 'Transfert Embryonnaire' au départ était un rêve que nous avons pu réaliser.

Certes nous avons travaillé sur une seule vache ; mais il faut savoir que le coût des hormones pour le traitement d'un seul animal avoisine les 10 000 DA, sans compter les autres consommables décrits dans la partie matériel et méthodes.

L'objectif de ce travail était d'apprécier la réponse d'une génisse au traitement de superovulation appartenant à un éleveur privé et non pas dans une station expérimentale.

En dépit de:

- L'intervalle considéré plus ou moins dans les normes supérieures (48 H) entre l'injection de PGF2alpha et le début des chaleurs
- Le taux assez élevé de récupération de liquide injecté pour la collecte des embryons d'environ de 81%
- De la très bonne réponse de cette génisse à la superovulation (21 CJ) constatée après dénombrement des corps jaune présents sur les ovaires
- Aucun produit (embryon, ovocyte et zone pellucide vide) n'a été repéré.

Nous pouvons énumérer pêle-mêle plusieurs facteurs qui peuvent être impliqués ; tels :

- la saison,
- l'alimentation (carences en énergie),
- les réserves des follicules préantraux,
- le diamètres des follicules,
- la présence d'un follicule dominant au moment de la mise en place du traitement de superovulation,
- L'âge de l'animal
- La perméabilité des trompes de Fallope
- La nature du traitement de superovulation
- Le moment de mise en place du traitement de superovulation

C'est sur ces différents facteurs que les efforts devront être déployés dans les travaux de recherches à venir. Ce qui est aussi important, c'est de vulgariser cette technique, pour qu'elle puisse être utilisée chez les éleveurs en complémentarité à l'insémination artificielle qui touche actuellement plus de 50% cheptel bovin amélioré.

Ceci ouvrira les voies aux autres biotechnologies tel que : le sexage, le clonage, la transgénèse, la fécondation in-vitro et les manipulations chirurgicales des embryons.

Chapitre 04.
Références bibliographiques

A

- **ADAMS G.P., MATTERI R.L., KASTELIC J.P., GINTER J.O.,**(1992), *Association Between Surges Of Follicle Stimulating Hormone And The Emergence Of Follicular Waves In Heifers*, Journal of Reproduction and Fertility, 94, 177-188.
- **ADEL D** (2004), *étude comparative de deux extraits hypophysaires dans la production d'embryons chez les bovins*, (Thèse magister). Université Sâad Dahleb. Blida (Algérie). 104p.
- **ALMQUIST J.O., BRANAS R.J., BARBER K.A.,** (1976), *Post Puberal Changes In Semen Production Of Charolais Bulls Ejaculated At High Frequency And The Relation Between Testicular Measurements And Sperm Output*. Journal of Animal Science, 42, 670-676.
- **AMARA M.R.,** (2003), *Etude Des Réponses Du Traitement De Superovulation Chez La Vache En Vue Du Transfert Embryonnaire*, (Thèse magister). Université Sâad Dahleb. Blida (Algérie). 163p
- **AMRANE A.K.,** (1990). *Recueil des travaux sur les populations bovines locales effectués à l'Institut Technique des Elevages –Ferme démonstratives et de production de semences- station de Fetzara –Annaba-*.
- **AUSTIN J.W., HUPP E.W., MURPHY R.L.,**(1961), *Comparison Of Quality Of Bull Semen Collected In The Artificial Vagina And By Electroejaculation*, Journal Of Dairy Science, 44, 2292-2297.

B

- **BABIUK L.A., PHILLIPS J.P.,** (1989), *Animal Biotechnologies, Comprehensive biotechnology*, 1st Supplement Pergamon Press, Oxford, 260p.

- **BALTHAZART J., FABRE-NYS C., (2001).** *L'éthologie du comportement sexuel:L'accouplement.* In: Thibault C ET Levasseur MC (Edits). *La reproduction chez les mammifères et l'homme.* Ellipses, INRA, Paris, pp.85-107.
- **BETTERIDGE K.J., FLECHON J. E., (1988),** *the anatomy and physiology of pre-attachment bovine embryos.* Theriogenology, 29, 155-187.
- **BETTERIDGE, K.J., SUGDEN, E.A., EAGLESOME, M.D., RANDALL, G.C.B., MITCHELL. D., 1982.** Plasma progesterone levels in superovulated cattle in relation to hatched embryo sizes, ovulation rates and premature regression of corpora lutea. Anim. Reprod. Sci. 4, 207-212.
- **BIANCHI M., CHICOTEAU P., CLOE C., BASSINGA A., 1986**
- **BLANVILLAIN C., 1993.** Expérience du Crta dans le domaine du transfert d'embryons. Amélioration génétique des bovins de l'Afrique de l'Ouest. Rome, Italie, Fao, p. 199-203. (Etudes Production et santé animale n°110)
- **BONNES G., DESCTAUDE J., DROGOUL C., GADOUD R., Le LOC'H A., MONTMEAS L. et ROBING. (1988),** *Reproduction des mammifères d'élevage*, 1^{ère} édition, Paris
- **BOOTH, W.D., NEWCOMB, R., STRANGE, H., ROWSON, L.E.A., 1975.** Plasma oestrogen and progesterone in relation to superovulation and egg recovery in the cow. Vet. Rec. 97, 366-369.
- **BORDAS C., LACROIX C., MIGNON P., (1988),** *l'examen microscopique du sperme et l'interprétation de ses résultats dans le contexte de la monte naturelle en zone charolaise,* Recherche de Médecine Vétérinaire, 16 (N° spécial 617 « Bovin allaitant Charolais »), 528.
- **BOUTERS, R., MOYAERTS, I., CORYN, M., SPINCEMAILLE, J., VANDEPLASSCHE, M.. 1980.** Premature regression of the corpora lutea in superovulated cows. Therio. 14, 207-216.
- **BRAND, A., TROUNSON, A.O., AARTS, M.H., DROST, M., ZAAYER, D.. 1978.** Superovulation and non-surgical embryo recovery in the lactating dairy cow. Anim. Prod. 26,55-60.
- **BROADBENT P. J., STEWART M., DOLMAN D. F. 1991:** Recipient management and embryo transfer - *Theriogenology* - 35 (1), 125-129.

C

- CALLESEN, H., GREVE, T., HYTTEL, P., 1987. Premature ovulations in superovulated cattle. *Therio.* 28, 155-166
- CHICOTEAU P (1989). Adaptation physiologique de la fonction sexuelle des bovins Baoulé en milieu tropical soudanien. Thèse de doctorat, université de paris créteil.
- CHUPIN D., (1988), *Superovulation par PMSG ou FSH pour le transfert embryonnaire.* Colloque Société Française d'Etude de la fertilité. Masson édition Paris 26, 213-232.
- CLARKE R.H., HEWESTON R.W., THOMPSON B.J., (1973), *Comparison Of Bovine Semen Collected By Artificial Vagina And Electroejaculation From Bulls With Low Libido,* 49, 240-241.
- COLLEAU J.J., HEYMAN Y., RENARD J.P., (1998), *Les biotechnologies de la reproduction chez les bovins et leurs applications réelles ou potentielles en sélection.* INRA, Production Animale, (1998), 11 (1), 41-56.
- COUROT M., (1972) *L'insémination Artificielle Bovine, Perspectives D'amélioration Des Résultats,* In, *Maîtrise De La Reproduction Dans L'espèce Bovine,* I.T.E.B-UNCEIA Paris, 124.
- CURTIS J.L., (1991), *Cattle Embryo Transfer Procedure: An Instructional Manual For The Rancher, Dairyman, Artificial Insemination Technician, Animal Scientist And Veterinarians.* Academic Press, INC: San Diego, California, 128p.

D

- DALTON JC, NADIR S, BAME JH, NOFTSINGER M, SAACKE RG (2000). The effect of time of artificial insemination on fertilization status and embryo quality in super ovulated cows. *J. Anim. Sci.* 78: 2081-2085
- DEBAIL J., (1985), *L'examen Du Mâle,* Bulletin GTV, 4, 7-18.

- **DISKIN M.G., MACKEY D.R., ROCHE J.F., SREENAN J.M.** (2003). *Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle*. *Animal Reproduction Science.*, 78: 345- 370.
- **DONALDSON LE** (1984). Cattle breed as a source of variation in embryo transfer. *Theriogenology*. 21 :1013-1018
- **DRIANCOURT M.A.,** *Follicular dynamics in sheep and cattle*. *Theriogenology*, (1991), 35, 55-79.
- **DRIANCOURT M.A.et al,**(2001), *La fonction ovarienne*, dans: Thibault C, Levasseur, M.C, *La reproduction chez les mammifères et l'homme*, éditions Ellips INRA, (2001), 273-298.
- **DRION P.V. et al,**(2000), *Le développement folliculaire chez la vache, Mécanismes hormonaux au cours du cycle et du post-partum*, Article de synthèse, *Annale de Médecine vétérinaire.*, (2000), 144, 385-404.
- **DRION P.V., ECTORS F.J., HANZEN Ch., HOUTAIN Y.J., LONERGAN P., BECKERS JF.** (1996) : *Régulation de la croissance folliculaire et lutéale: Ovulation, corps jaune et lutéolyse*. *Le Point Vétérinaire*, Vol 28, numéro spécial « Reproduction des ruminants

E

- **ELAIDI L, ECTORS F, LAKHDISSI H** (1996b). Premiers résultats de transplantation embryonnaire chez la race bovine « Oulmez-Zaer ». «Reproduction et production laitière». III Eme Journées Scientifiques du Réseau Biotechnologies Animales de l'AUPELF-UREF. pp. 301-304.
- **ELAIDI L, ECTORS F, LAKHDISSI H** (1996a). Effet de différents traitements sur la réponse à la superovulation chez la race bovine « Oulmez Zaer ». «Reproduction et production laitière». III ème Journées Scientifiques du Réseau Biotechnologies Animales de l'AUPELF –UREF. pp.295-299.

- **ELAIDI L.,** ECTORS F., LAKHDISSI H., (1997), *Effet De Différents Traitements Sur La Réponse A La Superovulation Chez La Race Bovine « Oulmes Zaer »*, Reproduction et production laitière.
- **ELDSEN R.P.,** NELSON L.D., SEIDEL G.E Jr.,(1978), *Superovulating Cows With Follicles Stimulating Hormone And Pregnant Mare Serum Gonadotrophin*, Theriogenology, 9, 17-26
- **EPPLESTON, J.,** 1982. Embryo transfer procedures in the goat: Physiological and procedural differences insuperovulation and transfer between sheep and goats. In: Shelton. Traunson, Moore, James (Eds.), Embryo transfer in cattle, sheep and goats. Australian Society Reproductive Biology. pp. 41-43.

F

- **FERROUK M.,** GHARBI I., ADEL D., LAFRI M., TOUATI K., KAIDI R., GUETARNI D., (2008), *Production And Transfer Of Embryos In Algerian « Cheurfa »Bovine Breed*, African Journal of Agricultural research Vol 3 (4), pp 320-323.
- **FOOTE, R.H.,** ELLINGTON, J.E., 1988. Is a superovulated oocyte normal?. Therio. 29, 11 1-123
- **FORTUNE J.E.,** (1994), *Ovarian follicular growth and development in mammals*, Biology of Reproduction, (1994), 50, 225-232.

G

- **GERRIS J.,** ADAMSON G.D., De SUTTER P., RACOWSKY C., (2009), *Single Embryo Transfer*, Cambridge University Press: Cambridge, 327p
- **GERRIS J.,** OLIVENNES F., De SUTTER P., (2005), *Assisted Reproductive biotechnologies*, The Parthenon Publishing Group: Washington D.C, 397
- **GORDON I.,** (1996), *Reproduction in Cattle and buffaloes*. Vol I, Cab International, UK.

- **GREENWALD G.S.**, (1972), *Maturation of eggs and follicles* (Editorial). Am. J. Anat, 137p, 1-4.
- **GRIMARD B**, BONNET A, PONSART C, ROSSO V, HUMBLLOT P. *Effet du nombre d'inséminations sur la fertilité à l'oestrus induit de vache allaitante Charolaises synchronisées. Elevage et insémination, 1998, 286, 3-10*
- **GRIMARD B.**, HUMBLLOT P., PAREZ V., MIALOT J.P., THIBIER M.(1992), *Synchronisation de l'œstrus chez la vache charolaise: facteurs de variation de la cyclicité prétraitement, du taux d'ovulation après traitement et du taux de fertilité à l'œstrus induit. Elevage et insémination, 250, 5-17.*
- **GUIGNOT F.**, 2005. *Cryoconservation des embryons des espèces domestiques. INRAProd. Anim. 18, 27-35.*
- **GUILBAULT, L.A.**. GRASSO, F., LUSSIER, J.G., ROUILLIER, P., MATTON, P., 1991. Decreased superovulatory response
-

H

- **HANZEN C. 2009** : La production d'embryons in vivo dans l'espèce bovine. Cours de thériogénologie [Ulg](#) - [Faculté de Médecine Vétérinaire](#) - [MyUlg](#) - [CVU Comptes rendus](#)
- **HANZEN CH.**, LOURTIE O., DRION P.V.. (2000), *Le développement folliculaire chez la vache. 1. aspect morphologique et cinétique*, Annales de Médecine vétérinaire, 144, 223-235
- **HASLER**, J.F., 1992. Current status and potential of embryo transfer and reproductive technology in dairy cattle. J. Dairy Sci. 75, 2857-2879.
- **HUHTINEN M.**, RAINIO V., AALTO J., BREDBACKA P., MAKI-TANILA A. (1992). *Increased Ovarian Responses In The Absence Of A Dominant Follicle In Superovulated Cows. Theriogenology. 37, 457-463.*
- **HUNTER**, R.H.F., WILMUT, I., 1984. Sperm transport in the cow: Peri-ovulatory redistribution of viable cells within the oviduct. Rep. Nutr. Dev. 24, 597-608.

I

- **IDRES T** (2011) Superovulation en vue du transfert embryonnaire chez la race locale Brune de l'Atlas- : Comparaison entre deux doses de FSH, 32mg et 40mg

J

- **JORDT (T.)** et **LORENZIN.. (E.)**, 1990 Multiple superovulations in NDama heifers. Trop. Anim. Hlth. Pro& 22 : 178-184.

K

- **KAFI M., MCGOWAN M.R.** (1997). *Factors Associated With Variation In The Superovulatory Response Of Cattle*. Animal Reproduction Science, 48, 137-157.
- **KAIDI N** (2006) étude contributive au transfert embryonnaire chez la vache laitière et la comparaison entre la réponse aux traitements de superovulation des vaches améliorées et des vaches de race locale ;
- **KO J.C.H., KACSTELIC J.P., DEL COMPO M.R., GINTHER J.O.**, (1991), *effect of ovarian follicular dynamics during the estrus cycle in heifers*. Journal of Reproduction and Fertility, 91, 511-519.

L

- **LACAZE S., COUPET H., BLATTES M., PERRIN V., HENNEQUIN M., 1992.** Influences of artificial insemination number and bull on the percentage of transferable embryos in superovulated dairy cows. C.R. 8 e Colloque AETE Lyon, 174
- **LAFRI M., (2003) *Optimisation Des Traitements De Superovulation Dans Le Cadre Du Transfert Embryonnaire Chez Les Bovins* (Thèse doctorat). Institut National Agronomique –Alger- (Algérie). 188p.**
- **LAGNEAU F., (1981), *Examen De La Fonction Génitale Du Taureau*, Publication ENVA**
- **LAING J.A., (1979), *Fertility and infertility in domestic animals*, 3rd edition, Baillière Tindall, London, 262 p**
- **LAIZEAU J.S. (2009). *Facteurs de variation de la production d'embryons chez la vache laitière de race Montbeliarde*. Thèse de Doctorat vétérinaire, Faculté de Médecine de Créteil (France).**
- **LAMMOND, D.R., GADDY, R.G., 1972.** Plasma progesterone in cows with multiple ovulations, J. Reprod. Fertil. 29, 307-311.
- **LAURIERE P., MANIERE J., CHASTANT S., GRIMARD B. (2001). *Facteurs De Variation De La Production D'embryons Chez Des Vaches Charolaises Superovulées En Région Bourgogne*. Rencontre Recherche Ruminants. 361-364.**
- **LAVOIR M., FORTUNE J.E. (1990), *Follicular dynamics in heifers after injection of PGF2 α during the first wave of follicular development*, Theriogenology, (1990), 33, 270.**
- **LEHN-JENSEN H., (1983), *Survival Of Cow Blastocysts Using Cooling Rates Of 1°C/Min To -25°C Before Plunging*. Theriogenology. 19-183.**

M

- **MAPLETOFT R.J., STOOKEY J.M.** (1998). *General Sanitary Procedures And Welfare Considerations Associated With In-Vivo Production Of Embryos*. Manual of the International Embryo Transfer Society. 3^{ème} édition. 55-
- **MARTAL J., CHENE N., HYUNH L. et al.,** (1998), IFN-tau : a novel subtype I IFN. *Structural characteristics, non-ubiquitous expression, structure-function relationships, a pregnancy hormonal embryonic signal and cross-species therapeutic potentialities*, *Biochimie*, 80, 755-777.
- **MAZOUZ A., LOTFI N., ELAICH R., LAKHDISSI H., HACHI A., ELAIDI L.,** (1994), *La Technique De Transfert D'embryons Bovins Chez Les Eleveurs : Moyen D'accroître Le Progrès Génétique*, *Reproduction et production laitière*.
- **MC DONALD L.E.,** (1980). *Reproductive Patterns of cattle*. *Veterinary Endocrinology and Reproduction*. Third Edition: 377-396.
- **Mc GOWAN, M.R., BRAITHWAITE, M., JOCHLE, W., MAPLETOFT, R.J.,** 1985. Superovulation of beef heifers
- **MENISSIERF.,** 1982. In ITEB Editions, *La transplantation embryonnaire chez les bovins*. Paris, France. 95-104.
- **MONNIAUX D. et al.,**(2009), *Développement folliculaire ovarien et ovulation chez les mammifères*, *INRA, Production animale*, 22 (2), 56-79.
- **MOREIRA F da Silva and R METELO** Relation between Physical Properties of the Zona Pellucida and Viability of Bovine Embryos after Slow-freezing and Vitrification; *Animal Reproduction* ,Department of Agrarian Sciences, University of the Azores, Angra do Heroísmo, Portugal; *Reprod Dom Anim* 40,205–209(2005)

N

- **NIBART M.**, (1991). *Le Transfert Embryonnaire Et Les Biotechnologies Appliquées: Bissection Et Sexage*. Recherche Médecine Vétérinaire. 167, 261-290

O

- **OUTTARA (M.)** (1989) Le transfert d'embryons au Sénégal Résultats préliminaires. Actes Colloque Réseau Africain des Biosciences, Yamoussokro (Côte d'Ivoire) p : 371-375)

R

- **RALL W.F.**, 1997. Field trial to compare pregnancy rates of bovine embryo cryopreservation methods : vitrification and one-step dilution versus slow freezing and three-step dilution. *Theriogenology*, 48, 1071-1084.
- **RASBECH N.O.**, (1984), *The male and fertility in domestic animals*, In, Courot M., (1984), *The male in farm animal reproduction*, Martinus Nijhoff Publishers, 2-2
- **ROCHE JF.**, **BOLAND M.P.** -(1991)-*Turnover of dominant follicles in cattle of different reproductive states*. *Theriogenology*, (1991). 35, 81-90. Synchronisation des chaleurs, méthodes et facteurs de réussite en élevage allaitant. *In*

S

- **SCHERZER J**, **RA FAYRER-HOSKEN** ,**L Ray** ,**DJ HURLEY** and **GL HEUSNER** *Advancements in Large Animal Embryo Transfer and Related Biotechnologies* (2007).

T

- **THIBAUT C., LEVASSEUR MC.,-**(2001)- *La reproduction chez les mammifères et l'homme*, INRA éditions : Paris 928p.
- **THIBIER M.** 1990. In Merieux Editions, 6èmeréunion AETE, Lyon,67-81

U

- **UCHIYAMA Y, HOSOE M, SATO T, TAKAHASHI T . 2009:** Biological and immunological characteristics of porcine follicle-stimulating hormone chemically modified with a polyethylene glycol derivative. Niigata Prefectural Livestock Research Center, Sanjo City, Niigata 955-0143, Japan.

V

- **VAJTA G.** 2000. *Vitrification Of The Oocytes Andembryos Of Domestic Animals.* Animal Reproduction Science, 60/61, 357-364.
- **VAN WAGTENDONK DE LEEUW A.M., DEN DAAS J.H.G., RALL W.F.,** 1997. Field trial to compar pregnancy rates of bovine embryo cryopreservation methods : vitrification and one-step dilution verses slow freezing and three-step dilution. Theriogenology, 48, 1071-1084.
- **VIGOT**, livre de Robert BARONE : Anatomie comparée des mammifères domestiques Tome 4, Splanchnologie II (1990) pp 269 à 447.

W

- **WEBB R, GONG JG, LAW AS.** *Control of ovarian function in cattle. J. Reprod Fert.,1992;Suppl45:141-156.*
- **WENKOFF, M. In Morrow D.A. 1986:** *Current therapy in theriogenology* 2nd Edition Saunders, W.B., Philadelphia, USA. 158-162
- **WOODS E.J., BENSON J.D., AGCA Y., and CRISTR J.K., (2004),** *Fundamentals cryobiology of cells and tissue, Cryobiology, 48, 146-156.*

X

- **XU Z.Z., MCKNIGHT D.J., VISHWANATAH R., PITT C.J., BURTON L.J. (1998).** *Estrus Detection Using Radiotelemetry or Visual Observation And Tail Painting For Dairy Cows On Pasture. Journal of Dairy Science, 81, 2890-2896.*

Z

- **ZERGA G.S. et al,(1982),** *Identification of protein(s) secreted by the pre-ovulatory ovary which suppresses the follicle response to the gonadotropins. Journal of Clinic Endocrinology and metabolism, (1982), 54, 1091-1096.*

Y

- **YOUSSAO A.K.I.**, AHISSOU A., TOURE Z., LEROY P.L., 2000. Productivité de la race Borgou à la Ferme d'élevage de l'Okpara au Bénin. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 53 : 67-74.

Résumé

Le transfert embryonnaire est l'une des principales biotechnologies de la reproduction et représente la 2eme génération,

Dans ce but un lot de 3 génisses donneuses d'embryons ont été utilisé au moment de leurs arrivées à leur chaleur naturel en utilisant le protocole standard FSH32 (Stimufol ®) a double dose décroissante ; et l'utilisation de prostaglandine (Estrumate ®) ; l'observation des chaleurs l'insémination et la récolte on était réalisé 7jours plus tard. Les réponses au différents traitement ont été apprécié selon les critères suivants : intervalle PGF2 α – début de chaleur et le nombre de corps jaune palpé sur les ovaires ;

L'intervalle PGF2 α – début de chaleur était compris entre 40 et 48h, moyenne des corps jaune palpés était de 21 ; le taux de liquide récolté était de 81.18% ; aucun produit (embryon, ovocyte et zone pellucide vide) récolté.

Mots clés : transfert embryonnaire, superovulation, intervalle PGF2 α -début de chaleur, corps jaune palpés.

Abstract

Embryo transfer is one of major breeding biotechnology, the 2nd generation precisely;

For this purpose a set of 3 heifers embryo donor were used at the time of their natural heat using the standard protocol FSH32 (Stimufol ®) getting two decreasing dose during 4 days every day, and prostaglandin (Estrumate ®) at the 3rd day; heat observation insemination and harvest was made 7 days later. The responses to different treatment were determined according to the following criteria: PGF2 α interval - early heat and the number of corpora luteal palpated on the ovaries.

The interval PGF2 α - early heat was between 40 and 48h, average luteum palpated was 21; the rate of fluid collected was 81.18% and no product (embryo, oocyte and empty zona pellucida) harvested.

Keywords: embryo transfer, superovulation, interval PGF2 α -early heat corpora luteal palpated.

ملخص:

نقل الأجنة واحد من أهم التكنولوجيات الحيوية للتكاثر و يمثل الحيل الثالث منها.

بهذا الصدد, استخدمت ثلاث عجل مانحة للأجنة و هذا عند وصول كل منها إلى شبقها الطبيعي و عولجت ببروتوكول FSH32 (STIMUFOL®) مع PGF2 α (ESTRUMAT®), تمت معاينة شبق و التلقيح الاصطناعي ما بعد العلاج. أما حني الأجنة فقد تم بعد سبع أيام. تم تقدير الاستجابة لمختلف العلاجات حسب المعايير التالية: الفارق الزمني PGF2 α - ظهور الشبق و عدد الأجسام الصفراء الملموسة على المبيض .

الفارق بين PGF2 α - ظهور الشبق حصر بين 40 و 48 ساعة. معدل أجسام الصفراء الملموسة قدر ب 21 جسم. نسبة السوائل المسترجعة 81,18 % , أما في ما يخص المنتج فكان المحصول عقيم (لا جنين , لا بويضة و لا مناطق شفافة).

كلمات البحث: نقل الأجنة , فرط الإباضة , فارق PGF2 α – ظهور الشبق , الأجسام الصفراء الملموسة