

71P 52 100



UNIVERSITE PARIS VAL DE MARNE
UER SCIENCES
Av. du général de GAULLE
94010 CRETEIL cedex

IEMVT

10 rue Pierre CURIE
94704 M-ALFORT cedex

D.E.S.S.

PRODUCTIONS ANIMALES ET TECHNOLOGIES AGRO-ALIMENTAIRES EN
REGIONS CHAUDES .

RAPPORT DE STAGE : Insertion de la transplantation embryonnaire
dans les techniques modernes de maîtrise de
la reproduction chez les bovins .
Application à un projet de programme de recherche au BURKINA-FASO .

par Pierre J. CHICOTEAU
docteur vétérinaire

I983-84



D.E.S.S.

PRODUCTIONS ANIMALES ET TECHNOLOGIES AGRO-ALIMENTAIRES EN REGIONS
CHAUDES .

RAPPORT DE STAGE : Insertion de la transplantation embryonnaire
dans les techniques modernes de maîtrise de
la reproduction chez les bovins .
Application à un projet de programme de
recherche au BURKINA-FASO .

par Pierre J; CHICOTEAU

lieu du stage : UNCEIA , rue Jouët , Maisons-Alfort .

période de stage : mai-juillet 1984.

rapport présenté oralement le .10.84

AVANT-PROPOS .

. Le stage que j'ai effectué au début de l'été 1984 avait comme objectif une initiation aux techniques du transfert d'embryons et la mise en place scientifique d'un programme de transfert embryonnaire qui sera *réalisé* sur le terrain au BURKINA-FASO . Cette recherche entrant dans le cadre de la recherche sur la trypanotolérance- et non à des fins zootechniques de production - . Ce travail présente à nos yeux un triple intérêt :

- effectuer des transferts croisés entre trypanorésistants et trypanosensibles...
- obtenir des animaux issus de trypanorésistants immunologiquement free pour la trypanosomose .
- sélectionner et diffuser le caractère de trypanotolérance .

. Dans la rédaction de ce rapport nous essaierons de bien souligner ces différents aspects .

. Ce stage s'est déroulé sur différents plans :

- une participation aux activités de l'équipe de transfert de l'UNCEIA dirigée par le Dr NIBART .
- une prise de contact avec une équipe d'IA en Vendée - travail de l'inséminateur et visite du centre d'insémination de la Vendée - .
- un entraînement à l'abattoir de Bressuire (79) .
- une recherche bibliographique effectuée tant à l'UNCEIA qu'à l'EMVT orientée dans deux directions - la technique proprement dite et les caractères de reproduction des races autochtones du BURKINA-FASO .

. J'en profite donc pour remercier toutes les personnes qui m'ont aidé dans le déroulement de ce stage . Je pense , en particulier au Dr PAREZ , ancien directeur de l'UNCEIA et enseignant au DESS qui m'a beaucoup éclairé , au DR THIBIER directeur de l'UNCEIA qui m'a accueilli dans ses services , au Dr NIBART chef de l'équipe de transfert d'embryons qui m'a si gentiment accueilli dans son équipe et guidé tout au long de ce stage , à toute l'équipe de transfert d'embryons , et à l'UNCEIA en général .

PLAN .

- Avant-propos	-----	3
- Plan	-----	4
- Introduction	-----	5
- Généralités : définition	-----	7
historique	-----	9
situation actuelle	-----	10
maîtrise des technologies de base	--	II
- La production d'embryons :		
le choix de la donneuse	-----	13
la superovulation	-----	17
la fécondation des ovocytes	-----	24
la collecte des embryons	-----	26
- L'embryon :		
l'isolement des embryons	-----	35
l'évaluation des embryons	-----	36
la conservation à court terme	-----	41
les voies de recherche actuelles	---	42
- Le transfert :		
le choix de la receveuse	-----	44
la synchronisation des chaleurs	----	47
les techniques de transfert	-----	49
le diagnostic de gestation	-----	55
- Résultats globaux , coûts et intérêts	-----	56
- Conclusion	-----	62
- Bibliographie	-----	64
- Annexes	-----	73
- Quelques propositions pour le programme de transfert d'embryons du C.R.F.A. à BOBO-DIOULASSO	-----	82

INTRODUCTION

. Il y a deux volets dans le transfert d'embryons ; le premier consiste à prélever un embryon ou des embryons sur une femelle dite donneuse , le deuxième consiste à remettre en place ce ou ces embryons dans l'utérus d'une ou plusieurs femelles dites receveuses ; le troisième volet qui pourrait être mis en avant serait l'embryon en lui-même , a priori la seule différence , c'est la visualisation de cette étape (néanmoins actuellement , de nombreux travaux de recherche sont menés sur l'embryon) . Dans le cadre de cette étude très brève , nous nous contenterons d'examiner l'aspect technique global du problème en ayant toujours comme optique la mise en place sur le terrain africain (c'est pour cela que nous attacherons peu d'importance aux techniques de recherches nouvelles qui sont d'un intérêt réduit dans la réalisation de ce projet) . Dans une première partie nous donnerons quelques généralités ayant trait à l'historique , à la situation actuelle de cette technique , aux définitions ... , ensuite nous aborderons la production d'embryons , nous continuerons par l'étude de l'embryon , nous poursuivrons par la description de la technique de transfert proprement dite , enfin nous terminerons sur quelques considérations sur les résultats globaux , les coûts et les intérêts de cette technique . Le protocole et l'organisation du travail seront envisagés en annexe, et la description de notre projet au BURKINA-faso fera l'objet d'un dossier à part . Enfin il faut signaler que quelques points n'ont été cités que pour mémoire pour deux raisons : ce sont des points qui n'ont pas été abordés dans le cadre de notre stage et ce sont des points qui ne présentent pas d'intérêt dans le cadre de notre projet .

GENERALITES .

. DEFINITION

. HISTORIQUE

. SITUATION ACTUELLE

. MAITRISE DES TECHNOLOGIES DE BASE

DEFINITION .

. Dans la littérature , plusieurs définitions ont été proposées . Nous allons vous en proposer quelques-unes :

- " La transplantation d'embryons consiste à induire chez une femelle , dite receveuse , une gestation par la greffe dans son tractus génital d'un ou de plusieurs embryons provenant d'une femelle dite donneuse " (Pinard P.58)

- " La transplantation d'embryons consiste à prélever sur une femelle donneuse 'd' , ayant subi éventuellement un traitement préalable de poly-ovulation , un ou plusieurs embryons âgés de 6 à 10 jours et à transférer ce(s) dernier(s) dans l'appareil génital d'une ou de plusieurs femelles receveuses 'r' , dont les cycles sexuels sont en synchronisation parfaite avec celui de la donneuse " (Franck M. , Plat J.C.26)

- " La transplantation embryonnaire est une nouvelle méthode de reproduction artificielle qui consiste à prélever sur une femelle dite donneuse , préalablement soumise à polyovulation et fécondation artificielles , un nombre variable d'embryons qui sont transférés dans l'appareil génital de femelles receveuses dont les cycles sexuels sont en parfaite synchronisation avec celui de la donneuse .
Ceci permet , dans la pratique , de multiplier la descendance de donneuses ayant un bagage génétique de haut niveau ou une valeur commerciale élevée .
Ceci apporte , du même coup , une valeur ajoutée importante aux receveuses . " (Plat J.C. , Leymonie P.60)

- " Le transfert embryonnaire est une méthode de reproduction artificielle qui consiste à prélever , après fécondation , le ou les embryons dans l'appareil génital d'une femelle , dite , donneuse , pour les transplanter dans l'appareil génital d'une ou de plusieurs femelles , dites receveuses , dans lequel le ou les embryons vont se développer jusqu'à la naissance. Si la donneuse est une vache super-ovulée , cette méthode permet d'augmenter sa descendance par nourrice interposée ; on pourrait obtenir un résultat équivalent en prélevant à chaque cycle sexuel l'embryon d'une donneuse non super-ovulée " (Nibart M. , Bolyssou B.53)

.Ces différentes définitions insistent sur des points différents , mais le schéma de base reste le même : les notions de transfert d'une femelle à une autre , de donneuse et de receveuses , la notion de reproduction artificielle , la notion de synchronisation et de super-ovulation qui sans être fondamentales restent indispensables à la mise en place de ces techniques sur le terrain . Il faut également noter le choix de ce terme par analogie avec le terme anglais : embryo transfer . Il est vrai qu'à ce stade de développement la notion d'oeufs fécondés nous semble plus exact que celle d'embryons . Quant à savoir s'il s'agit de transfert ou de transplantation nous retiendrons le terme de transfert d'embryons comme consacré par l'usage .La première définition nous semble scientifiquement bien exacte mais elle reste très générale ; quant aux autres elles vont jusqu'à tracer le protocole expérimental chez la vache et en deviennent trop spécialisés .

HISTORIQUE . (58-67) .

- I672 DeGraaf reconnaît un blastocyste de lapin
- I840 Description de l'oeuf d'ovin
- I845 description de l'oeuf de chien
- I854 Description de l'oeuf de biche
- I890 Walter Heape , premier transfert réalisé avec succès chez le lapin .
- I897 Description de l'oeuf de porc
- I911 Description de l'oeuf de chat
- I927 Hammond réalise la première synchronisation par ablation du cprp jaune .
- I928 Description de l'oeuf d'homme
- I930 Vulgarisation de l'insémination artificielle par les soviétiques .
- I931 Description de l'oeuf de bovin
- I934 Premier transfert d'embryons chez les petits ruminants
- I939 Description de l'oeuf de cheval
- I949 Dowling , première tentative de transfert d'embryons chez les bovins .
San Antonio , Texas , première conférence sur le transfert d'embryons .
- I951 Premier transfert d'embryons chez le porc .
Willet réalise les première synchronisation à l'aide de progestérone .
Willet obtient le premier veau issu d' une transplantation chirurgicale par la ligne blanche d'un embryon J5 collecté à l'abattoir .
- I965 Sugie bipasse le col avec succès .
- I966 Rowson réussit la première transplantation par voie cervicale
- I971 Testart propose la voie transvaginale .
- I974 Premier transfert chez le cheval .
- I976 Premier tranfert chez le pabouin .
- I978 Premier transfert chez l'homme .
- I979 le premier aout , début du programme national français ; fin de ce programme le 31 décembre 1981 .
- I984 Il y aurait 120000 gestations par transfert d'embryons chez les bovins (Seidel)

SITUATION ACTUELLE .

. Seidel g.e. et Seidel S.M. citent l'évolution du nombre de transferts embryonnaires suivante (I2) :

. Gestations par transferts d'embryons de part le monde

- 1978	10.000
- 1980	25.000
- 1982	50.000
- 1984	120.000
- 1986	150.000
- 1988	200.000
- 1990	250.000

. Seidel S.M. cite la distribution mondiale suivante (6Ia) :

- moins de 50 TE..... Colombie , Vénézuéla , Equateur
- de 200 à 500 TE..... Argentine , Guatemala , Irlande ,
Mexique , Suisse
- plus de 1000 TE..... Belgique , Allemagne de l'ouest
- de 2000 à 5000 TE... Australie , Canada , Grande-Bretagne ,
France
- plus de 30.000 TE...U.S.A.

. Nous ne nous étendrons pas sur les structures administratives des différentes équipes qui pratiquent le transfert d'embryons de part le monde : sociétés privées , écoles ou instituts de recherches , coopératives , vétérinaires libéraux ; nous citerons seulement les différentes équipes qui " officient" en France .

. Le transfert d'embryons en France a débuté par la mise en place d'un programme national regroupant 4 laboratoires INRA , les services techniques de l'UNCEIA , 4 unions de coopératives d'élevage et d'insémination artificielle : Midatest , OGER , UCEF , URCEO , et une société privée (IMV) . Ce programme est arrivé à son terme depuis 2 ans déjà . Les équipes constituées par Midatest , OGER et URCEO continuent à fonctionner ; et d'autres groupes se sont formés : France-Embryons (société privée) , EGS , le GIE Nord-Est embryons et plus récemment deux équipes se sont formées l'une au sein de l'union Auvergne , Limousin , Charentes , l'autre dans l'union régionale Alpes , Rhône (52) ●

. Le transfert d'embryons est une technologie sophistiqué qui implique la maîtrise de nombreuses techniques plus courantes. Si cet aspect n'est pas flagrant , vu le niveau de développement , dans notre élevage national - et encore ce n'est pas évident - ; il n'en est pas de même lorsque l'on se penche sur les techniques d'élevage en terrain africain . La bonne connaissance du troupeau , sa gestion correct.... conditionnent de manière très importante la réussite d'un programme de transfert d'embryons .

Dans ces techniques , nous pouvons citer :

- la détection des chaleurs
- la synchronisation des chaleurs
- la santé et l'hygiène du troupeau
- la gestion du troupeau
- l'insémination artificielle
- voire même la recherche des groupes sanguins (filiation)
et l'avortement de convenance

LA PRODUCTION D'EMBRYONS

- . LE CHOIX DE LA DONNEUSE
- . LA SUPEROVULATION
- . LA FECUNDATION DES OVOCYTES
- . LA COLLECTE DES EMBRYONS

LE CHOIX DE LA DONNEUSE .

(10.19.26.29.42.48.53.55bis.58.60.62a.62b.67.78.)

. Il convient tout d'abord de ressituer le transfert embryonnaire dans un contexte plus général ; en effet le choix de la donneuse se fera avant tout sur des qualités génétiques qui prendront en compte un individu et ses qualités par rapport à toute une population . Il est important de souligner ce point que nous n'aborderons pas dans le cadre de ce rapport .

. Il faut choisir un individu sur des critères de sélection génétique mais aussi sur des caractéristiques individuelles de reproduction et d'état général .

. Les critères du choix individuel .

- les aptitudes reproductrices .

- recherches des anomalies chromosomiques .

- la fécondité , que l'on appréciera , avant tout , à l'aide des commémoratifs : (60)

% dans les races laitières on retiendra un intervalle vélage -première chaleur inférieur à 60 jours . Un intervalle vélage-insémination fécondante inférieur à 80 jours . Et moins d'I,5 dose d'insémination pour les gestations précédentes

% dans les races à viandes on retiendra un intervalle vélage-vélage de 365 jours . Un intervalle vélage-première chaleur qui est fonction des conditions d'élevage et qui tempérera l'appréciation du critère précédent .

- on se référera aux travaux de GREVE (29) , cf tableau IV a .

-l'examen gynécologique . Il doit être très minutieux et considérer tout le tractus génital sur les plans anatomiques , physiologiques , et pathologiques . On éliminera toute donneuse qui présentera :

% à l'examen anatomique des cloisons , des brides , des ptôses vaginales , des doubles cervix , des anomalies (freemartinisme , maladies des génisses blanches) , hypoplasie ovarienne .

TABLEAU IVa (29) .

effet de l'intervalle entre vélage et superovulation sur la réponse , le nombre , la qualité , et le taux de récupération des embryons .

	INTERVALLE EN JOURS											
	-60			60-120			120-180			-180		
	n	\bar{X}	SE	n	\bar{X}	SE	n	\bar{X}	SE	n	\bar{X}	SE
CL	43	7.2	0.8	50	6.6	0.7	15	9.9	1.2	16	9.0	1.4
TE	44	5.5 ^a	0.8	51	5.4 ^a	0.7	20	9.9 ^b	1.4	23	6.7 ^{ab}	1.3
VE	44	3.2	0.6	51	3.0	0.5	20	5.4	1.2	23	3.7	0.9

CL nombre de corps jaunes , TE nombre total d'oeufs , VE embryons vivants . Différence significative entre les moyennes de chaque ligne p 0.05 (a,b)

TABLEAU IVb (55 bis°)

la production d'embryons en fonction de l'état sanitaire de la donneuse . Résultats du programme national .

donneuse	CJ	emb.	tx coll.	emb. trans.	viabilité	
n105	5.7	2.1	38%	0.9	42%	problèmes
N241	7.4	4.3	58%	2.9	67%	pas de pr
N346	7.0	3.6	53%	2.3	63%	total

TABLEAU IVc (29)

effet de l'age sur la superovulation , le nombre et la qualité des oeufs .

	GROUPES D'AGE								
	2 à 5 ans			5 à 8 ans			plus de 8 ans		
	n	\bar{X}	SE	n	\bar{X}	SE	n	\bar{X}	SE
CL	52	8.6 ^a	0.7	27	6.7 ^a	1.1	24	5.4 ^b	0.9
TE	60	7.0 ^a	0.8	31	6.1 ^a	1.0	23	3.7 ^b	0.7
VE	60	4.0 ^a	0.6	31	2.9 ^{ab}	0.7	23	2.4 ^b	0.5

.. Pourcentage lorsque P < 0,05

% à l'examen physiologique des adhérences et des cicatrices du tractus , une involution utérine incomplète , une atrophie ou un dysfonctionnement ovarien . Certains auteurs (58) proposent un dosage de la progestérone plasmatique sur deux cycles .

% à l'examen pathologique vaginite , cervicite , métrite , pyomètre , salpingite , ovarite , kyste , etc...

. Tous ces examens se résument en pratique à un examen vaginal et à une palpation transrectale précis - on pourrait s'interroger sur l'intérêt de deux palpations à II jours d'intervalle - . DELEFORGE (I9) cite un test pour évaluer la perméabilité des oviductes qui pourrait présenter un intérêt certain .

- l'état général . Les facteurs importants à considérer sont :

- les troubles carenciels liés à l'alimentation ou au parasitisme .
- les maladies métaboliques (fièvre vitulaire , acétonémie , vache grasse ...)
- les états infectieux ...

. Tous ces facteurs entraînent une baisse importante de la réponse à la superovulation . HAHN (cité en 58) propose la mesure de trois paramètres - TGO , glucose , cholestérol total . Et DELEFORGE (I9) envisage un flushing des donneuses . On se reportera enfin à une étude de NIBART et coll (55 bis) au tableau IVb .

- les facteurs intrinsèques .

- l'âge ; la limite théorique inférieure est de 4 à 6 mois , âge de la maturité sexuelle (nous n'épilguerons pas sur les recherches permettant de superovuler et de collecter des veaux) ; mais en pratique on superovule des génisses de plus de 15 à 16 mois . La limite supérieure théorique n'existe pas mais ce sont plutôt les facteurs indésirables à la reproduction qui font réformer les donneuses . Il faut considérer le transfert embryonnaire comme une méthode permettant de rendre plus efficace la reproduction des meilleures sujets et non comme une thérapeutique de l'infertilité (voir cependant en 55 bis) - cf GREVE, Tableau IV C (29) .

- le stade de production . La période optimale pour la superovulation d'une vache se situe dans l'intervalle 60-80 jours après le vélage (à relier à la durée de l'anoestrus post-partum) . En race laitière , on considère comme indispensable de constater un cycle sexuel normal avant toute stimulation hormonale . En race à viande système allaitant , ce critère est à tempérer en fonction du mode d'élevage .

. En conclusion de ce chapitre nous pouvons citer les critères qui nous semblent facilement accessibles et qui conditionnent grandement un programme de transfert embryonnaire : (62a)

- vaches de 3 à 10 ans (3 à 6 (19))
- pas de problèmes de vélage
- un veau par an
- 1 à 2 IA / gestation (moins de 1,5 IA/gestation(53))
- cycle régulier
- pas d'anomalie à la palpation trans-rectale et à l'examen vaginal .

LA SUPEROVULATION .

(I5.58.28.2.77.53.60.7.43.26.I6.67.29.7I.73.78.48.42.I2.55bis)

. Les termes de superovulation et de polyovulation sont employés indifféremment par les auteurs francophones . Nous utiliserons plutôt le terme de superovulation déjà consacré par l'usage chez les anglophones .

- L'intérêt de la superovulation .-

. Il est techniquement possible de prélever à chaque cycle l'oeuf d'une vache . Mais les difficultés techniques , les coûts , et les lourdeurs de la manipulation ont poussé les chercheurs à la mise au point de solutions plus efficaces ... la superovulation reste la solution de choix . Ceci suppose que soit amené à un stade préovulatoire le plus grand nombre possible de follicules . soit ceux dont le développement a été accéléré , soit ceux dont la dégénérescence a été empêchée .

- Les hormones de superovulation .-

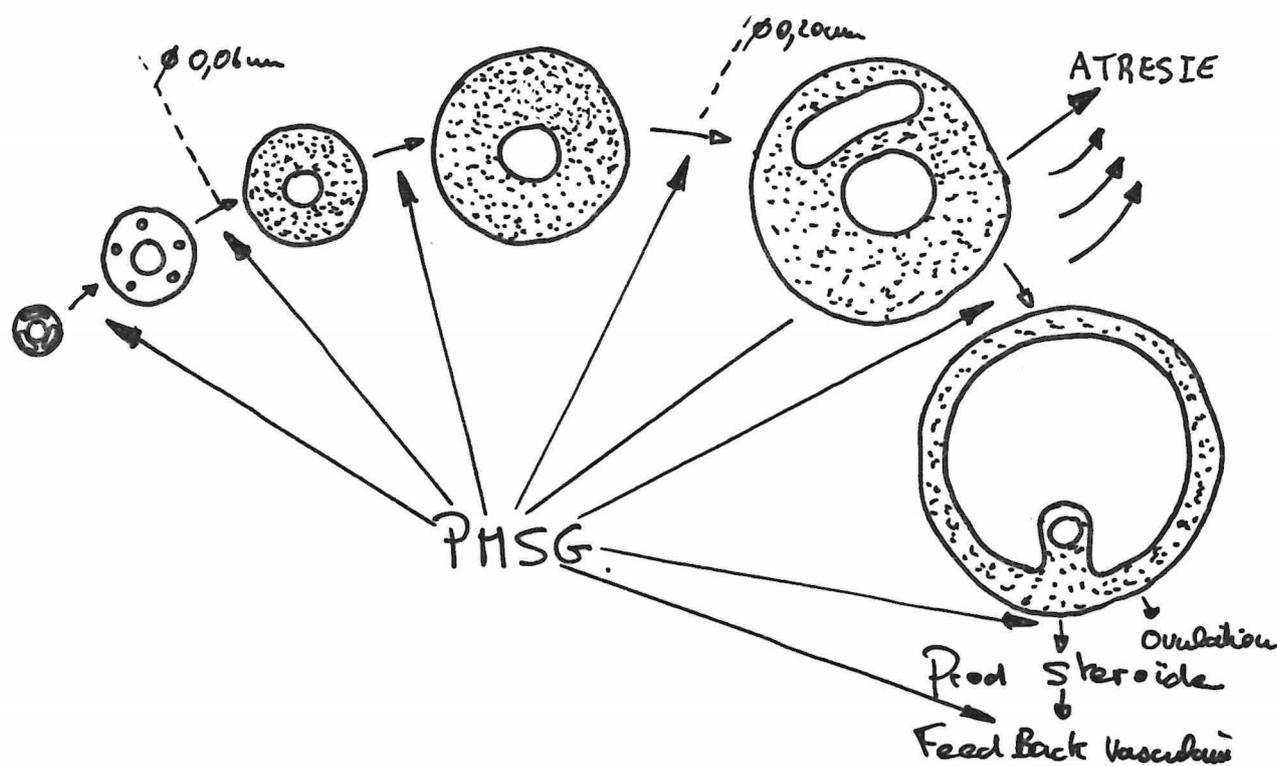
(58.60.2.77.I5.53.28)

. Toute préparation possédant une activité FSH peuvent être utiliser ; par exemple l'HMG (extrait de l'urine des femmes ménopausée) ...qui ne donne pas de résultat supérieur à la "FSH" et la PMSG et pour un prix dix fois supérieur . Les produits les plus couramment employés sont :

- la PMSG (pregnant mare serum gonadotropine) extraite du sérum de jument gravide , classiquement utilisée en médecine vétérinaire . C'est une hormone gonadotrope , de nature glycoprotéique qui possède une double activité LH et FSH . La PMSG possède une demi-vie très longue (importance de l'acide sialique dans la fraction glucidique) I20 heures (SAUMANDE et DUBOIS cités en 53) .
- les extraits bruts d'hypophyses de mammifères domestiques (baptisés FSH hypophysaire) . La FSH est une hormone gonadotrope de nature glycoprotéique généralement extraite de l'hypophyse de porc . Sa demi-vie est très courte : 20 à 70 mm (KOHLER cité in 53) , 6 heures (I5) ...; et nécessite une utilisation beaucoup plus fréquente que la PMSG .

. Il n'est pas dans notre intention de pousser plus en avant ces quelques données sur les hormones de superovulation sur les plans structuraux et biochimiques .

SCHEMA IV a (28.2b). Diagramme schématisant les sites d'action de la PMSG.



TABEAU IVd (77d). Comparaison des embryons obtenus de vaches superovulées ou non .

	vaches normales		vaches superovulées	
	n°emb. transf.	%90j	n°emb. transf.	%90j
emb. normaux	52	73	239	64
emb. retardés	6	17	53	21
% retardés	10		18	

TABEAU IVe (53). Stimulation ovarienne . Jour du cycle en phase lutéale .

jour du cycle	n°femelles	n°ovulations	références
5 à 7	16	5;0	Gordon & Boland 1978
8 à 11	134	12,9	Nelson & al. 1979
12 à 14	49	10,2	Steenan & Beehan 1977

- le principe de l'action des hormones de superovulation.

. A un moment donné , la population folliculaire de l'ovaire comporte tous les stades : du follicule primordial jusqu'au follicule cavitaire . Ces hormones vont augmenter la vitesse de croissance et de maturation des follicules , freiner les phénomènes d'atréisie et permettre à un grand nombre de follicules d'arriver jusqu'au stade de follicule de DE GRAAF ? . Il y aura donc un plus grand nombre d'ovulations . (cf schéma IV a (28.2b))
cf tableau IV d (77d)

- le protocole d'utilisation.

(I5.26.28.53)

. Tout d'abord , il convient de rappeler la différence de demi-vie entre la FSH et la PMSG : là où une injection de PMSG suffit (traitement de 5 jours environ) il faut des injections biquotidiennes de FSH . L'une et l'autre de ces substances sont associés à la prostaglandine PGF2alpha ; celle-ci a , en-effet outre son effet lutéolytique , la particularité de réduire l' intervalle de temps entre la première et la dernière ovulation (26) .

- Quand faut-il superovuler ? (I5) . On pensait tout d'abord intervenir pendant la croissance folliculaire normale : entre J16 et J21 ; on obtient effectivement une superovulation mais il est difficile de prévoir la date de venue en chaleur de la donneuse et donc de préparer les receveuses . On procède donc plutôt à un traitement pendant la phase lutéale du cycle (entre J8 et J13) ; la venue en chaleur est maîtrisée par des prostagandines (PGF2alpha) . Tableau IV d (53)
- Combien de temps faut-il stimuler ? (I5) . La phase finale de croissance folliculaire est de 4-5 jours , on peut envisager la même chose ... Dans les traitements en phase lutéale , il est possible de faire varier cette durée . Un intervalle de 2 jours entre PMSG et PGF2alpha , qui correspond à 4-5 jours entre PMSG et oestrus , permet la plus forte proportion d'animaux stimulés et le plus petit nombre de follicules inutilisés .

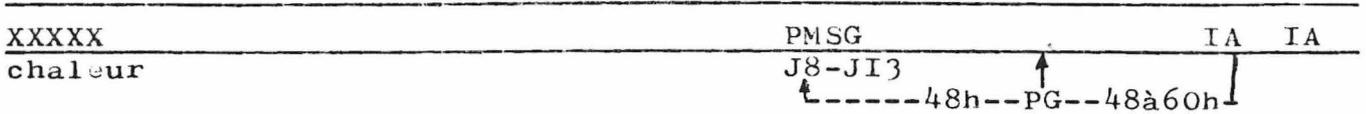
. Vus ces différents aspects , on peut maintenant mettre en place un protocole : cf schéma IV b (I5.26.28) .

- FSH ou LH .

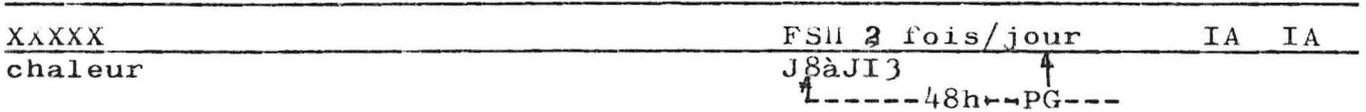
. Globalement on peut dire que l'Amérique du nord utilise de la FSH et l'Europe de la PMSG ; ceci étant essentiellement du aux circuit commerciaux . Relativement peu d'essais comparatifs

SCHEMA IVb (I5.26.28) . Schémas de traitement .

✦PMSG phase lutéale .



✦FSH phase lutéale .



✦PMSG cocktail .

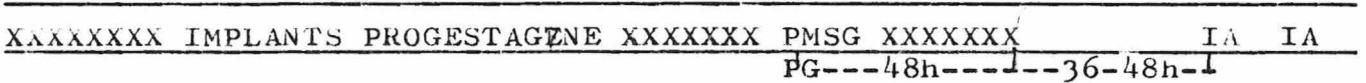


TABLEAU IVf(I5.I6) . Comparaison FSH et PMSG ?

REFERENCES	PMSG					FSH				
	dose	N°	C.J.	embry.		dose	N°	C.J.	embry.	
				Tot. mau.					Tot. mau.	
Elsden & al. 1978	1800	9	6,4	3,1	2,9	32	24	11,7	8,6	6,7
				94%					78%	
INRA 1980	2500	28	8,1 ±7,4	6,0 ±6,4	3,3 ±4,6	50	30	11,1 ±6,7	8,6 ±6,7	4,4 ±4,3
				55%					51%	
Crister & al. 1980	1700	102	10,1 ±0,5	5,4 ±0,3	3,1	50	68	10,6 ±0,7	4,7 ±0,3	1,5 ±5,1
				42,4 ± 4,0					58,3 ± 5,1	



ont été effectués (cf tableau IV f (I5.I6)). On peut noter un avantage pour la FSH , néanmoins la présence sur les marchés européens de PMSG et la quasi absence de FSH ainsi que le confort d'utilisation (une seule injection) laissent encore de beaux jours à la PMSG .

- les facteurs de variation .

(77.7.29.I5.67)

. GREVE (29) classe les facteurs de variation en:

- facteurs exogènes

- le traitement proprement dit . Nous n'y reviendrons pas , nous aurions pu , au travers des expériences citées illustrées le choix de la dose (I500 UI à 2000 UI de PMSG , 50 mg de FSH) , le moment de l'initiation du traitement ...GREVE cite le jour d'administration , la dose et l'origine de l'hormone , l'intervalle entre le début du traitement et les chaleurs , la durée du traitement FSH .

- la répétition du traitement , cf schéma IVc (77c.I5)

On peut noter une érosion de la réponse au fur et à mesure des traitements successifs ; il est néanmoins possible de restaurer un niveau correcte d'ovulation en changeant d'agent .

- effet saison (cf tableau IVg (7))

- l'utilisation de PMSG-anti serum , cette technique vise à l'utilisation d'un serum anti afin de contre-carrer les effets néfastes à long terme de la PMSG... cette technique est encore à l'état expérimental .

- conduite du troupeau et insémination artificielle (cf chapitre suivant)

- jour de la collecte

- gestion du troupeau , alimentation des animaux ...

- facteurs endogènes

- choix de la donneuse (cf chapitre précédent)

- variation inter-raciales (cf tableau IVg (77c))

- age de la donneuse (cf chapitre précédent : le choix de la donneuse)

- nombre de vélages (idem)

- vaches ou génisses ? les génisses sont préférées essentiellement à cause de leur fertilité supérieure : le tractus génital est propre !

- la lactation

SCHEMA IVc (77c.I5) . Répétabilité du traitement de superovulation .

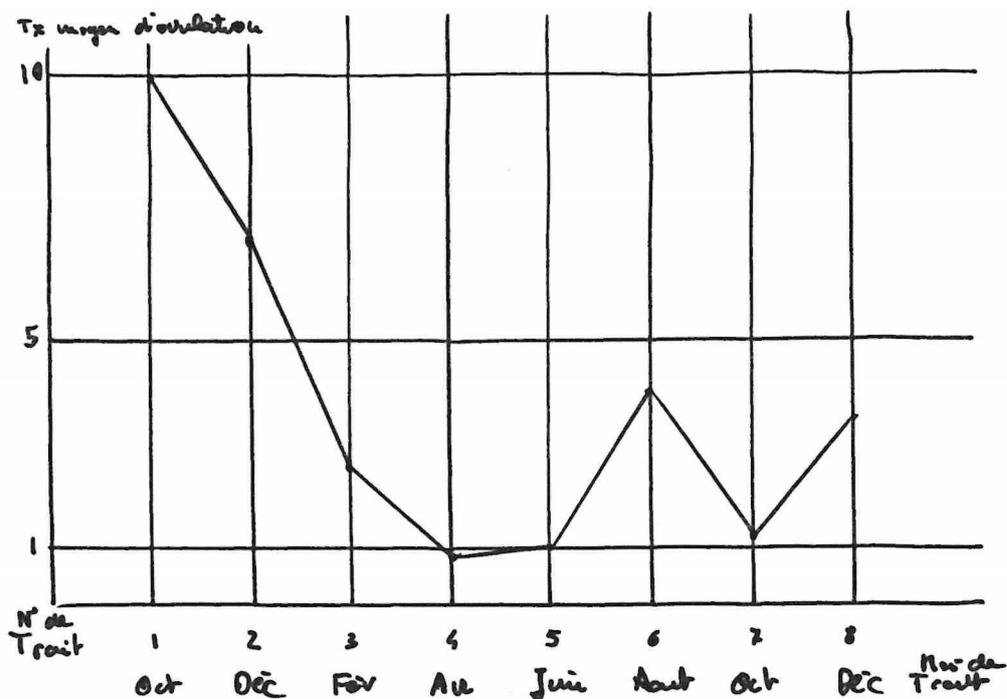


TABLEAU IVg (7) . Effet saison .

	hiver	printemps	été	automne	références
N° donneuses	32	32	26	28	
ovulation/trait.	9,5	9,7	8,8	10,5	ADRI non pub.
% don. à plus 3 ov.	68,8	65,6	61,5	64,3	
N° donneuses	56	55	93	81	
ovulation/don.	10,2	9,9	8,4	8,6	Beehan & al. Non Pub.
N° donneuses	105	189	104	184	
ovul/reponse	12,5	12,7	14,9	12,5	Shea & al; 1976
% don. plus 4-5ov. (palp.)	87,6	88,3	91,0	81,5	

TABLEAU IV h (77c) . Variations inter-raciales .

sensibilité	racas	index	type de production
Basse	FF	1	lait
	limousine	2,19	viande
	normande	2,20	mixte
	charolais	2,50	viande
	blonde	3,65	viande
haute	maine-a.	3,80	mixte

- l'intervalle entre vélage et initiation de la super-ovulation .
- l'équilibre hormonal de la donneuse
- la croissance folliculaire

. L'ensemble , ou quasiment de ces facteurs endogènes ont été évoqués dans le chapitre consacré au choix de la donneuse .

LA FECONDATION DES OVOCYTES . (53.8I bis .26.I6.67.60.29)

. . Pratiquement cette fécondation est effectuée par insémination artificielle (N.B. contrairement à l'espèce humaine où la fécondation a lieu in vitro , chez les animaux de rente elle a lieu in vivo). Il est intéressant de savoir le ou les moments opportuns pour l'insémination et le nombre de doses idéal . Plusieurs études ont été réalisées à ce propos . PLAT , FRANCK , LEYMONIE (26.60) recommandent au minimum (60) une insémination 6 à 9 heures après le début des chaleurs et une deuxième I2 à 15 heures après la première , en recommandant également l'utilisation de doses triples ou quadruples , voire même (26) trois inséminations à I2 , 24 , 36 heures , la deuxième avec une double dose . A l'opposé , et après expérience (I6.29) d'autres auteurs préconisent une insémination unique I2 heures après le début des chaleurs arguant (29) que l'utilisation de doses de bonne qualité et une technique d'insémination correcte sont plus important que le nombre de doses et d'inséminations . Les publications récentes s'accordent pour dire que des doses simples suffisent . NIBART et BOUYSSOU (53) évoquent le décalage du pic de LH chez les animaux polyovulés et constatent que l'on ne connaît pas la date exacte des ovulations et proposent de tenir compte de ce phénomène dans la répartition des IA , par exemple 2 , I2 et 24 heures après le début des chaleurs (BETTERIDGE cité en 53) ou plus simplement au début des chaleurs et la deuxième I2 à I8 heures après ... En fait les publications les plus récentes proposent (8I bis) deux IA à dose unique I2 et 24 heures après le début des chaleurs .

RESUME DES TRAVAUX DE WEST , WEST , RISLEY , DONALDSON (8I bis)
sur l'effet du nombre d'IA et du nombre de doses sur le pourcentage d'oeufs fécondés .

- expérience 1° : 120 vaches ont été inséminées au hasard avec une seule dose à 00, 12 et 24 heures après le début des chaleurs . Le pourcentage de fécondation était respectivement de 59,4% , 64,7% ; 62,7% pour les vaches inséminées une , deux , ou trois fois (P:0,858) .

- expérience 2° : La même expérience a été menée sur un échantillon de 210 vaches en procédant à une IA double à 12 heures ; le pourcentage d'oeufs fécondés a été de 58% , 73% , 77% (2^{sup}I p:0,005 et 3^{sup}I p:0,003) .

- expérience 3° : dans la troisième expérience on a inséminé 90 vaches soit avec deux IA simples soit avec une IA double et une IA simple ; les résultats sont pour les pourcentages de fécondation 67,6 et 69,9% (p:0,547)

. Les auteurs concluent à l'opportunité de deux IA simples à 12 et 24 heures après le début des chaleurs .

LA COLLECTE DES EMBRYONS .

(13.70.48.78.58.60.83.7.84.12.55bis.26.63.71.2.45.76.28.53.40.67.50.21.77d)

- PRINCIPE DE LA COLLECTE . La collecte est l'opération qui consiste à aller prélever les oeufs chez la donneuse . C' est une opération délicate . Plusieurs techniques ont été proposées au cours de la mise au point de la technologie " transfert d'embryons " :

- à l'abattoir , on prélève le tractus dans son entier ; il ne reste plus qu'à le "laver" pour récupérer les embryons.

- La voie chirurgicale . On accède à l'utérus par une laparotomie ; on pénètre ; à travers la paroi , dans la lumière de l'utérus et là aussi on procède à un lavage

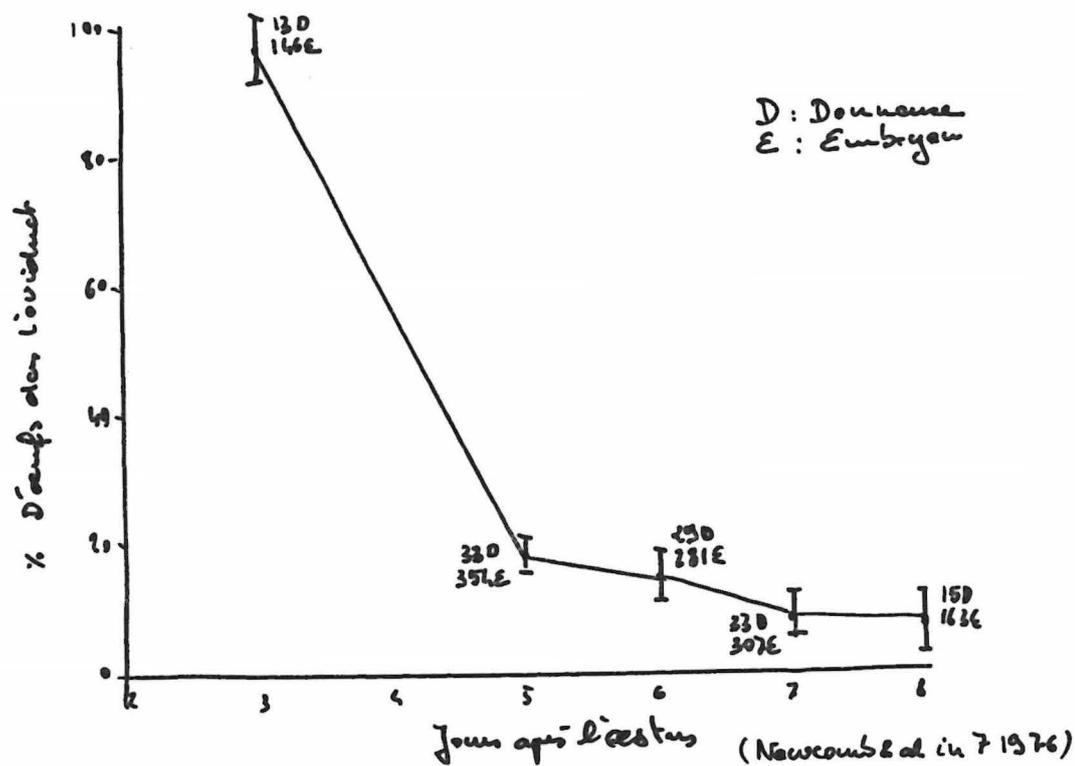
^{du tractus.}
- la méthode de Testud (81)
. Ces trois techniques sont abandonnées au profit de la voie "cervicale" qui respecte les structures anatomiques . Également dans cette technique , on procède à un lavage .

- QUAND COLLECTER ? . (58.7.84.83.60) Après un long séjour dans l'ampoule de l'oviducte , l'embryon atteint normalement l'utérus en 96 heures , au stade 8-12 cellules . La collecte par lavage ne peut être efficace qu'à partir du 6^o jour ; ceci constitue la limite inférieure (cf schéma IVd(7)) . La limite supérieure généralement admise est J12 , au delà la manipulation des embryons devient très délicate - fragilité - , et les résultats baissent ^{il faut noter l'importance de l'embryon à J6 pour le succès de CJ (trophoblaste)} . L'embryon sort de la zone pellucide à J9 environ ; cette membrane constitue une bonne barrière mécanique et une bonne barrière sanitaire ; c'est pourquoi , on pratique généralement les transferts avant J9 . Sur les terrains la plupart des collectes sont effectuées à autour de J7 .

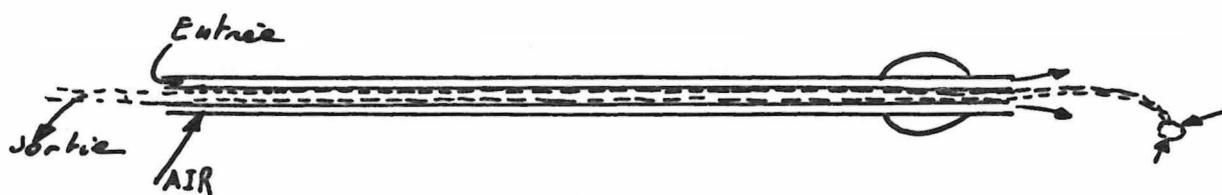
- AVEC QUOI COLLECTER ? (7.58.26.63.64.71.2.45.76.)

- Les sondes de Collecte . Nous n'allons pas faire la liste de toutes les sondes de collecte qui existent ou qui ont existé . Elles se classent en rigides , souples ou semi-rigide , en une voie , deux voies ou trois voies (une voie pour l'air qui gonfle le ballonnet , une voie aller , une voie retour ou bien une voie aller-retour , dans la sonde à une voie citée , c'est la voie aérienne qui est supprimée) , sur la position du ballonnet - plus ou moins en avant - , sur la position de l'orifice de retour très haut dans l'appareil génital avec une arrivée assez

SCHEMA IV d (7) . La localisation des oeufs de J2 à J8 .



SCHEMA IV e . La sonde INRA-IMV (Schéma)



SCHEMA IV f . La sonde allemande , NEUSTADT-AISCH (Schéma)

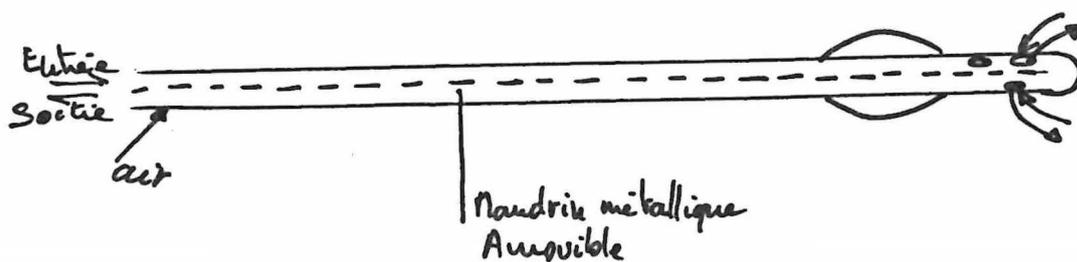


TABLEAU IV i (2.45.Nibart communication personnelle) . La composition du PBS modifié .

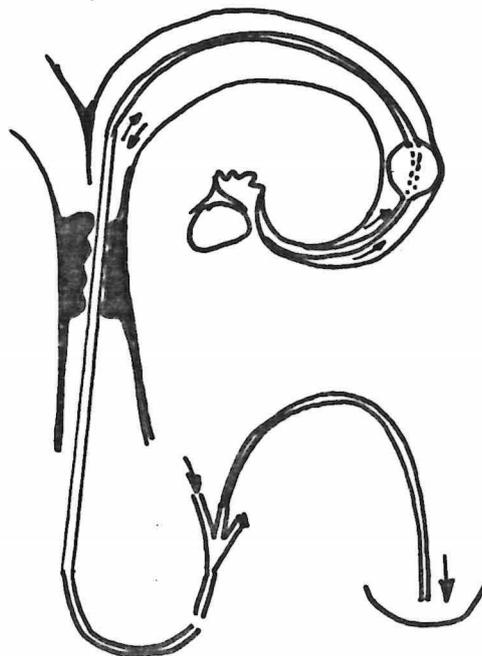
- eau deminéraliséeI litre
- Na Cl8 g
- CH3COCOONa0,036 g
- KCl0,20 g
- Na2HPO4.....I,150 g
- KH2PO40,2 g
- Glucose anhydreI,0 g
- MgCl2.....0,1 g
- CaCl2.....0,1g
- albumine bovine pure2 g
- Pénicilline100 000 UI
- Streptomycine50 mg

ce qui donne du PBS à 2g/l BSA , une pression osmotique de 290 milliosmoles , et un pH de 7,4 .

TABLEAU IV j (53) . Nombre d'ovulations : CJ comptés par palpation et après abattage .

nombre de donneuses	40	X
N° ovulations (palpation)	378	9,45
N° ovulations (abattoir)	450	11,25
N° embryons collectés	254	6,35
taux de collecte (254/450)	56,4%	

SCHEMA IV g (83) . Principe de la technique in vivo.



basse ou vis versa ... Nous citerons néanmoins et décrierons les deux types de sondes manipulées lors du stage . Tout d'abord la sonde INRA-IMV c'est une sonde semi-rigide à 3 voies , avec le retour très en avant (cf schéma de principe IVe (sources IMV)) . Ensuite la sonde "allemande" , c'est une sonde souple en caoutchouc , équipée pour la mise en place d'un mandrin métallique , à deux voies avec un ballonnet sub-terminal (cf schéma de principe IVf) . Je pense qu'il est exact de dire que chaque sonde a ses avantages et ses inconvénients ... il convient à chaque manipulateur de choisir son matériel en fonction de ses goûts , de son habileté , du type d'animal collecté...

- Les milieux de collecte . Il existe de nombreux milieux ^(voir également l'annexe 14) ; nous citerons uniquement le PBS modifié (phosphate buffered saline) (cf tableau IVi (2.45. Nibart communication personnelle)) . Ce milieu permet la collecte et la conservation des embryons à court terme . C'est le milieu le plus couramment employé . La quantité employée est variable suivant les équipes ; on peut cependant noter que la quantité de liquide employée par voie cervicale est plus importante que les quantités qui étaient employées par voie chirurgicale ou à l'abattoir . On peut citer à titre indicatif la quantité préconisée par l'équipe de l'UNCEIA : 450-500 ml par corne .

COMMENT COLLECTER ? (58.40.53.28.60.26.71)

- . Nous allons détailler le protocole point par point :
 - l'appréciation de la réponse par palpation transrectale on estime , par ovaire , le nombre de corps jaunes et de follicules non ovulés . Cet examen sous-évalue souvent le nombre d'ovulations , surtout lorsque la réponse est importante . (cf tableau IVj (Heyman cité en 53)) .
 - nettoyage et désinfection de la vulve et vidange du rectum .
 - anesthésie épidurale basse et légère - 4 à 5 ml de xylocaïne 2% .
 - mise en place de la sonde dans une des deux cornes .
 - lavement de cette corne avec un milieu de récolte (PBS) tiédi et récolte dans des flacons siliconés . Les quantités sont à adapter "au toucher " . Un point important est à soulever : le massage de la corne collectée avec

- douceur . Certains auteurs marquent une préférence pour une récupération du liquide par pression plus que par gravitation . En général la quasi totalité du milieu de collecte est récupéré - 96,93% (40). cf Schéma IVg (83)
- dégonflement du ballonnet
 - on retire la sonde et on la rince .
 - on renouvelle l'opération pour la deuxième corne .
 - on termine par une injection intrautérine d'antibiotiques.
 - on fait une injection de prostaglandines , soit immédiatement (26) , soit en JI8 ou JI9 , afin de ne pas laisser d'embryons fécondés chez la donneuse .

- Les résultats . (28.60.55bis.I2.2I.50.67.53.58)

. Il est inutile de faire de longs développements à ce propos , il suffit de consulter les tableaux IVk, l, m, n et le schéma IVh . Je me suis attaché à fournir des résultats sur de grands échantillons . On notera l'importance des non-réponses , et la progression des résultats français au sein du programme national .

= Les clés d'une bonne collecte . (77.83)

. SEIDEL G.E. jr et coll. (77d) les résumet de la manière suivante :

- il faut qu'il y ait des oeufs dans l'utérus ...
- une bonne contention et une bonne épidurale
- des instruments en bon état
- de grands volumes de liquide de collecte et quelqu'un de compétent pour la recherche des embryons
- l'habileté , l'entraînement et l'assurance du manipulateur .

TABLEAU IV K (67) . Analyse de fréquence de la production d'embryons lors d'une première collecte .

N° bons embryons	N° collectes	fréquence
0	39	24.2%
I	7	4.3%
2	12	7.5%
3	3	1.9%
4	8	5.0%
5	9	5.6%
6	9	5.6%
6	9	5.6%
7	9	5.6%
8	11	6.8%
9	5	3.1%
10	8	5.0%
11	5	3.1%
12	7	4.3%
13	1	0.6%
14	4	2.5%
15	6	3.7%
16	5	3.1%
17	6	3.7%
18	3	1.9%
19	1	0.6%
20	1	0.6%
21	1	0.6%
26	1	0.6%
total	161	100%

TABLEAU IV 1 (21) . Paramètres statistiques de la production d'embryons .

paramètres	total	bons	%bons
minimum	0	0	0
maximum	70	37	100
total	12699	5680	49,309
moyenne	10.1	4.5	46.1
médiane	8	3	50
mode	0	0	0
variance	91.3	30.3	1,190.6
<i>erreur standard</i>	0.27	0.16	1.06
N° de cas	1,263	1,263	1 070.

TABLEAU IV m (50) . Production d'embryons , résultats et évolution .
 (résultats du programme national : 1214 donneuses)

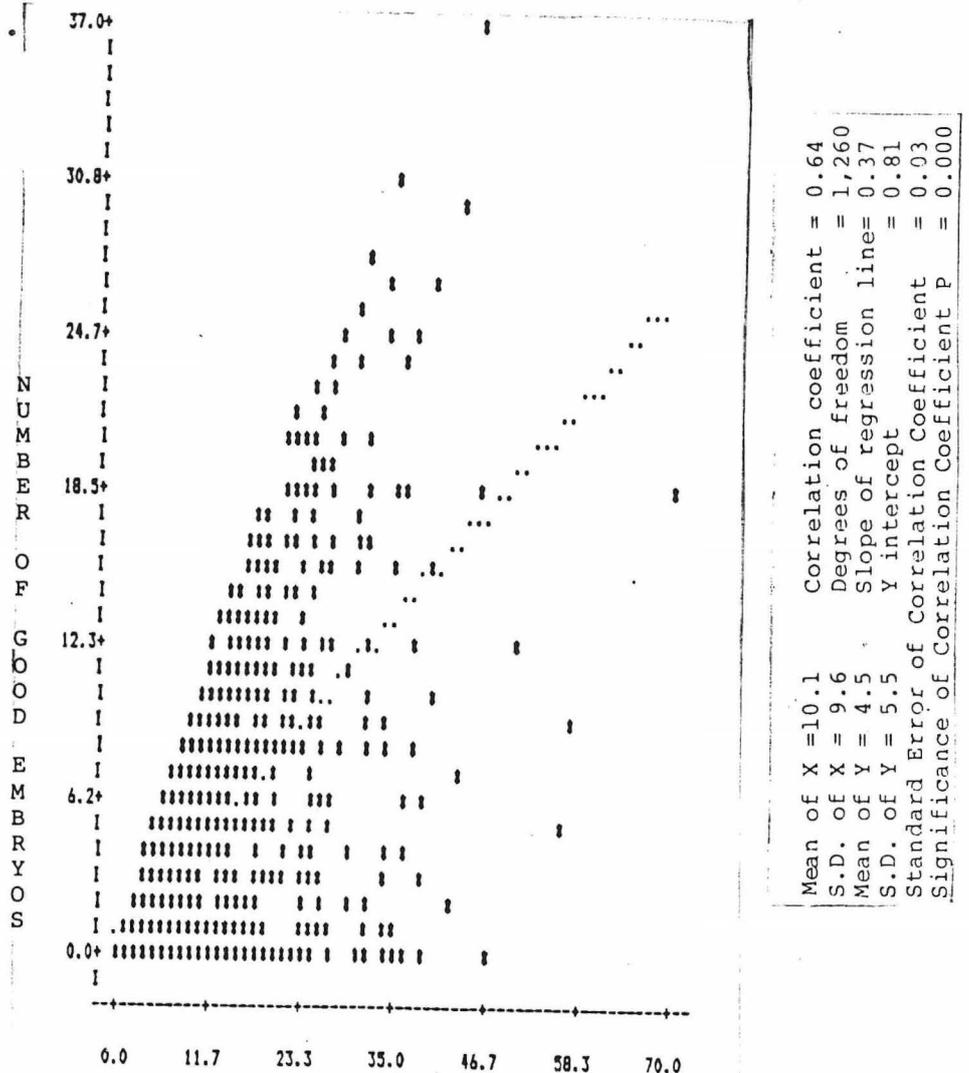
paramètres	moyenne	écart	1979	1981
N° ovulations/D.	7.76	0-50	7.53	8.98
N° Embryons/D.	4.38	0-34	3.95	5.38
taux de récup.	56%		52%	60%
N° E. normaux/D.	2.66	0-30	2.34	3.39
% E. bonne qualité	60%	0-100	62%	63%

TABLEAU IV m (50) . Importance des non réponses .

critère	% donneuses traitées
moins ou égal à une ovulation	11%
pas d'embryon	26%
pas d'embryon transférable	40%

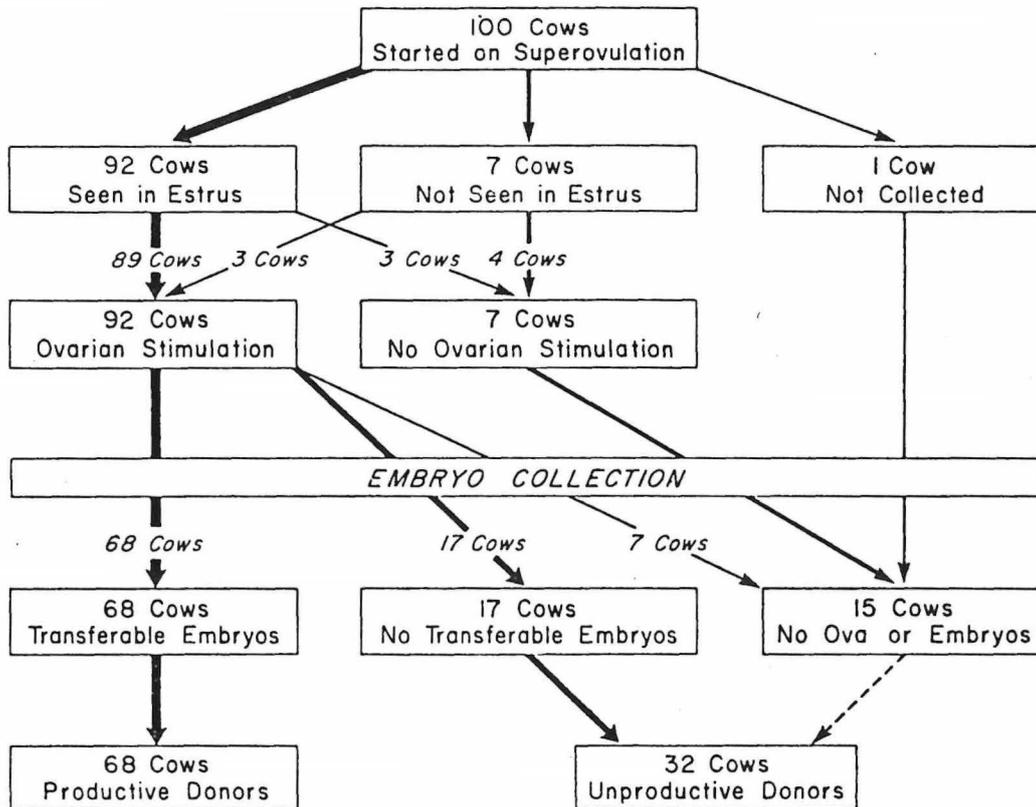
1367 donneuses

SCHEMA IV h (2I) . corrélation entre le nombre total et le nombre de bons embryons .



. récapitulatif : la production d'embryons et les différents " écrémages " (2I)

Figure 2 Fate of Every 100 Cows Started on Superovulation



L'EMBRYON .

- . L'ISOLEMENT DES EMBRYONS
- . L'EVALUATION DES EMBRYONS
- . LA CONSERVATION A COURT TERME
- . LES VOIES DE RECHERCHE ACTUELLES

ISOLEMENT DES EMBRYONS .(53.60.NIBART COMMUNICATION PERSONNELLE)

.La recherche et l'isolement des embryons se fait avec du matériel stérile , à température constante(20-25°C) et dans les meilleures conditions de propreté . Cette opération regroupe trois phases :

- la sédimentation . Les milieux de récolte sédimentent pendant 30 à 45 minutes , permettant ainsi le dépôt des embryons dans le fond du récipient .D'où l'intérêt d'utiliser de la verrerie siliconée , pour éviter l'accrochage des embryons le long de la paroi . Certaines équipes , notamment Nord-Américaines , utilisent des procédés de filtration .
- le siphonage . On élimine par siphonage lent le surnageant en conservant les 100 ou 150 derniers millilitres où se trouvent les embryons .
- l'isolement . Le décantat est réparti dans des boites de pétri à fond quadrillé . Les boites sont examinées à la loupe binoculaire (lumière froide et grossissement X40 à X100) . Les embryons apparaissent comme des petites billes brillantes de 140 à 200 microns . Ils sont aspirés et rincés , puis conservés dans du PBS contenant 10 à 20 % de sérum foetal de veau (ou de albumine bovine) .

- Principe de l'évaluation . L'appréciation se fait au niveau des critères morphologiques : synchronisme de l'embryon et de son âge , caractères de bonne santé . D'autres critères ont été proposés: mesures biochimiques (activité métabolique , consommation de glucose ...) , mesures biophysiques (test à la fluoresceine ...) . Enfin on peut citer la mise en culture , surtout utilisée en expérimentation .

- Rappels sur la chronologie du développement de l'embryon . Plutôt que de longs discours , un schéma (Va (35.71.41)) et un tableau (Va(41)).

- Critères de qualités . (67.41.35) .On évalue un embryon sur son état de développement par rapport à son âge et par rapport à des critères de " bonne santé " . Pour le premier point il suffit de se reporter au paragraphe précédent ; pour le deuxième point nous allons citer les critères retenus par l'INRA (35) et par RIO VISTA int. (67) . Ces normes , si elles ne sont pas formulées de la même manière , se recoupent et qui plus est recoupent les normes de " synchronisme " , en effet un embryon fécondé qui est resté au stade 4 cellules à J7 (nous continuons à utiliser JO comme date de l'oestrus) présente des caractères de dégénérescence ...

- Critères de qualité (67)

- apparence brillante et luisante
- on distingue la zone pellucide
- symétrie
- la zone pellucide est lisse régulière et intègre
- pas de vésicules ni de débris cellulaires
- compacité

- 8 éléments d'observation (35)

- zone pellucide - SPHERICITE, épaisseur , fissure
- blastocyste - FORME GENERAL , régularité
- OPACITE
- STRUCTURES VISIBLES : trophoblaste , bouton embryonnaire , blastocoele

- cellules

- EPAT D'AGREGATION DES CELLULES : aspect des contours cellulaires .
- VARIATION DE TAILLE ENTRE CELLULES

SCHEMA Va (35.7I) Chronologie du développement de l'embryon bovin .

EVENEMENT	DATE	LIEU	SCHEMA
debut des chaleurs	J0		
décharge de LH	7h		
insémination			
ovulation	J1		
accolement des spermatozoïdes		oviducte	
fusion des pronucléi			
stade 2 cellules	J2		
stade 4 cellules			
stade 8 cellules	J3		
stade 16-32 cellules	J4		
morula(30-64 C)	J6	utérus	
jeune blastocyste	J7		
blastocyste	J8-J9		
blastocyste sorti de la ZP	J10		
début élongation	J11		
I) accolement entre l'embryon et l'endomètre utérin	J23		
implantation	J35		

TABLEAU Va (4I) Stade de développement de l'embryon (%)

jour	I6C	morula	mor.ageé	JB1.	BL	Bl.dil.	Bl.1/1	N°
5	10	55	35				20
6	5	20	67	8			79
7	..	3	37	30	23	6	I	274
8		14	21	24	36	5	499
9			7	22	43	28	171

→ CELLULES DÉTACHES dans l'espace périvitelin .

- INTÉGRITÉ DES CELLULES : présence de vacuoles , dispersion de matériel cellulaire , granulations en surface .

- Classification . Elle se fait sur deux plans , la classification par âge :

morula: 5 jours

morula compact : 6 jours

jeune blastocyste : 7 jours

blastocyste : 7 jours

blastocyste dilaté : 8 jours

blastocyste sorti de la ZP : 9 jours

. Elle se fait aussi sur des critères de qualité . On peut citer un grand nombre , nous retiendrons la classification d'ELDSEN (1978 cité en 35) .

excellent : embryon au stade normal de développement au moment de l'observation ; aspect symétrique , blastomères polygonaux au stade morula , aspect compact .

bon : semblables aux embryons excellents mais asymétriques, exclusion de blastomères au stade morula , légèrement retardés par rapport aux autres embryons récupérés sur la même donneuse .

moyen : embryons en retard de développement de 1 à 2 jours . Blastomères sphériques au stade morula , blastomères de taille variable , vésicules dans les cellules , aspect plus clair ou plus sombre que normal .

mauvais : embryons en retard de développement de 2 jours , limites cellulaires indistinctes , plus de défaut que les embryons moyens .

. RIO VISTA(67) citent quasiment les mêmes critères et les numérotent de 1 à 5 , le numéro 5 étant réservé aux embryons non fécondés .

- Le blastocyste " normal " par rapport au blastocyste super-ovulé . (10.18) . Il a été prouvé par étude ultrastructurale comparative qu'il n'existait pas de différence entre les embryons mono-ovulés et les embryons poly-ovulés , bien qu'on est pu noter des différences de résultats .

- Facteurs influençants la qualité de l'embryon . (7) . Nous considérons évidemment que les embryons ont été récoltés correctement et que le plus grand soin a été apporté à leur manipulation. On peut noter :

- l'age de la donneuse
- stade de lactation (avec un plus pour les vaches tarées)
- environnement hormonal
- la réponse ovarienne et l'environnement utérin (ceci pourrait expliquer les moins bons résultats enregistrés avec la PMSG : demi-vie longue d'où une modification plus marquée et plus durable du milieu utérin)

= Les résultats . (58.67.70.84.7.18.10.35.7141.60) . Nous ne citerons que deux séries de résultats : tableau Vb (70) les résultats en fonction du stade de développement de l'embryon ; le tableau Vc (67) les résultats en fonction de la qualité .

TABLEAU Vb (70) . L'effet du stade de l'embryon sur le taux de gestation .

stade	N° transferts	N° gestations	%
jeune morula	586	359	61a
morula agée	1178	792	67b
jeune blasto.	600	402	67b
blasto. agé	139	99	71b
total	2503	1652	66

a, b $p < 0,05$

TABLEAU Vc (67) . Qualité de l'embryon et taux de gestation .

qualité	N° embryons	% gestation
1	788	52.4
2	877	48.8
3	295	39.7
4	223	29.3

$\chi^2: 31.8$ et $p < 0,001$

LA CONSERVATION A COURT TERME . (53.58.67.71.70.78.45.12)

. Nous n'envisagerons ici , et brièvement , que la conservation à court terme par mise en culture . Nous citerons cependant pour mémoire la conservation à long terme par congélation , la conservation à moyen terme par transfert dans un oviducte de lapine , ou un stockage à basse température (4°) ; de ces trois techniques seule la congélation est encore utilisée et se développe de plus en plus . Ce type de conservation n'est qu'un pis aller , en effet , cette technique n'est mise en place que pour permettre l'organisation du travail en transfert frais et les manipulations sur les embryons . Mais il ne faut pas perdre de vue que les meilleurs résultats sont obtenus lorsque l'embryon est transféré dans les 6 heures . Le plus pratique est d'utiliser des milieux simples comme le PBS modifié (WITTINGHAM) avec 10 à 20% d'albumine de bovin ou de serum de veau décomplémenté . Ces milieux ne requièrent pas d'atmosphère contrôlée . On recherchera une température de 15° à 37° , une osmolarité de 270 à 310 milliosmoles , un pH de 7,0 à 7,8 . La survie des embryons dans ces conditions est excellente (85 à 88% (TROUNSON et coll. cités 45)) mais ne peut excéder quelques heures . Il va également de soi qu'il faut là aussi respecter des règles de propreté draconniennes .

VOIES DE RECHERCHE ACTUELLES .

. Ces techniques de recherche actuelles n'ont pas été étudiées dans le cadre de ce stage . Néanmoins je pense qu'il est opportun de les citer pour mémoire afin d'être complet et de ne pas oublier ce qui constitue l'avenir de toute la technologie du transfert d'embryons .

. Nous citerons , mais sans plus nous étendre :

- la congélation
- le ~~s~~tage
- les micromanipulations

LE TRANSFERT .

- . LE CHOIX DE LA RECEVEUSE
- . LA SYNCHRONISATION DES CHALEURS ENTRE LA
DONNEUSE ET LES RECEVEUSES
- . LES TECHNIQUES DE TRANSFERT
- . LE DIAGNOSTIC DE GESTATION

.Il apparait que le choix des receveuses est fondamental pour la réussite d'un programme de transfert ; en effet il est facile d'imaginer l'importance du " bon fonctionnement sexuel " pour la survie et le bon développement de l'embryon après le transfert . Sur le plan du choix de la receveuse , il faut mieux choisir une femelle " tout venant " , possédant de bons caractères de reproduction , un bon état général et une bonne rusticité : la " plus-value " sera d'autant plus importante .

. Les critères du choix :

= l'age . Les génisses en age d'être mises à la reproduction sont souvent préférées (18 à 20 mois et un poids égal au 2/3 du poids adulte) aux vaches; trois raisons peuvent être évoquées ; 1) peu de problèmes de fécondité liés à des états infectieux ou inflammatoires ; 2) la réponse aux traitements de synchronisation est meilleure ; 3) l'incidence économique due à des retards de gestation est plus faible . Néanmoins , certains auteurs (67) tout en reconnaissant une fertilité supérieure aux génisses , leurs préfèrent des vaches pour éviter tout problème à la mise bas . Il faut évidemment éviter d'utiliser des femelles trop âgées ... (NB \uparrow gestation génisses, 58%, vaches 59% (84))

= les critères de reproduction . Nous distinguerons dans ce paragraphe vaches et génisses .

- Les génisses . Ce seront des génisses vierges , qui se révéleront normales à l'examen clinique du tractus génital , dont la cyclicité sera connue (cf tableau VIa (74)) , dont l'age et le poids correspondent au moment adéquat de la mise à la reproduction (2/3 du poids adulte et un age de 18 à 20 mois) .
- Les vaches . Ce seront des vaches ayant un passé de bonnes reproductrices (1 vêlage annuel , pas de problème de vêlage ni de non délivrance , une cyclicité connue) ; normales à l'examen de l'appareil génital (organes génitaux normaux et fonctionnels , involution utérine normale , absence de métrite) ; étant entre le 2° et le 4° vêlage ; ayant mis bas depuis plus de 55 jours .
- . D'une manière générale il faut choisir d'excellentes reproductrices .

TABLEAU Va (74) . Effet de l'intervalle entre oestrus sur le taux de gestation .

durée de l'inter-oestrus (jours)	tx gestation(%)	N°géniss
I7 I7.5	44	25
I8 I8.5	53	88
I9 I9.5	58	165
20 20.5	57	190
21 21.5	57	180
22 22.5	64	85
23 24	48	27
35 39	31	13
39.5 42.5	70	23
43 47	80	5

. Le taux de gestation du groupe 35 39 est inférieur (p 0.06) au taux du groupe 22 22.5 et du groupe 39.5 42.5 .

- l'état sanitaire . Ce seront des femelles en bonne santé et provenant de troupeau sain indemne de maladie faisant l'objet d'une prophylaxie obligatoire (en France les mères nourricières des veaux males destinés au centres d'IA ont le " statut de mères à taureaux " .)
- l'état général . Il faut choisir des animaux en bon état (GMQ légèrement positif) mais pas trop gras . On aura soin de choisir des génisses dont la croissance a été régulière et modérée (600 à 700 g/jour) . Les vaches seront tarées . Et la sélection des receveuses sera effectuée 6 à 8 semaines avant le début du programme (2) .

. On envisagera également la réutilisation des receveuses . Cette réutilisation est à deux niveaux : réutilisation des femelles après un transfert réussi (cf les paragraphes précédents) , ou réutilisation après un transfert "raté" . En effet cet échec peut être du soit à l'embryon , soit à la receveuse , soit à la technique de manipulation . (47) Le taux de gestation après 1356 premiers transferts est de 59% , est supérieur ($p < 0.01$) au taux de gestation (46%) de 321 seconds transferts , lui même supérieur au taux de gestation (30%) de 23 troisièmes transferts ($p < 0.025$).

LA SYNCHRONISATION DES CHALEURS ENTRE LA DONNEUSE ET LA RECEVEUSE

(I2.53.74.67.40bis.65.39.4I.58).

. La synchronisation exacte des chaleurs entre la donneuse et les receveuses est un facteur de réussite (cf tableau VIb(4I)) ; il semble même qu'une synchronisation entre embryon et receveuse serait plus efficiente qu'une synchronisation entre receveuse et donneuse (39) . Deux volets seront donc ouverts : la synchronisation et la détection des chaleurs . Ces deux points ne seront envisagés que brièvement ...

- La synchronisation .

- oestrus naturel . Cette méthode requiert un grand troupeau ; pour avoir 20 vaches en chaleur par jour il faut un troupeau de 500 vaches . C'est une méthode , qui associée à un bon système de détection de chaleur , est tout à fait valable dans le cadre d'un très grand centre de transfert .
- synchronisation artificielle. Plusieurs méthodes sont possibles : l'énucléation manuelle du corps jaune (traumatisante) , l'utilisation de prostaglandines PGF₂alpha deux injections à II jours d'intervalle , l'utilisation de progestagènes soit par voie orale , vaginale (spirale) ou par voie parentérale (implants) en traitement de 9 jours (70% des animaux viennent en chaleurs dans les 48 heures qui suivent le retrait (58)). Il ne nous appartient pas de choisir une méthode... (le traitement avec des prostaglandines donnerait aussi 70% de chaleurs dans les 48 h (58)). Néanmoins les progestagènes donneraient de meilleurs résultats . (NB tx oestration oestrus naturel 57% , PGF₂ 59% (84))

. Le développement de la congélation va , petit à petit rendre inutile la mise en place de synchronisation .

- La détection des chaleurs . C'est fondamental pour pouvoir éliminer les receveuses mal synchronisées et pour pouvoir affiner la synchronisation embryon-receveuse . Comment détecter? sur un petit effectif : l'observation biquotidienne semble correcte (cf tableau VIc (40bis))(on retiendra comme signe pathognomonique l'immobilité avec acceptation de chevauchement (65)); par contre sur des effectifs plus importants on^aura recours à l'utilisation de males déviés , de femelles androgénisées , de "révélateurs" de chaleur (tell-tail ND EPC..).

TABLEAU VIb (4I). Effets de la synchronisation donneuse-receveuse et de la synchronisation embryon-receveuse sur le taux de gestation . L'age de l'embryon est évalué sur des caractères morphologiques . Il faut également noter que seulement des embryons de bonne et d'excellentes qualité ont été utilisés et que une synchronisation de 2 signifie que la receveuse était en chaleur 2 jours avant la donneuse et que -2 signifie l'inverse .

synchronisme	receveuse-donneuse			receveuse-embryon		
	N°	N°gest.	%	N°	N°gest	%
2	27	11	41	76	20	26c
1	87	41	47	148	73	49d
0	158	64	41	204	107	52d
-1	175	86	49	98	45	46d
-2	137	56	41	58	13	22c

c,d p 0.001

TABLEAU VIc (4Obis) Détection de l'oestrus par observation .

méthode de détection	% détecté
observation continuelle	98 à 100%
3 fois/jour	81 à 91%
2 fois/jour	81 à 90%
activité routinière	56%

LES TECHNIQUES DE TRANSFERT . (50.73.78.I2.82.II.58.I3.84.49.32.36.68.48.53.60.63.64.8I.30.28.76.7I.55bis.77f.52.7.70.62c.80.I7.67.)

. Le transfert , proprement dit , consiste à mettre en place l'embryon (ou les embryons) choisi dans le tractus génital de la receveuse . Dans l'historique du transfert d'embryons de nombreuses techniques ont été proposées (chirurgicale par la ligne blanche , la voie transvaginale (8I) , contournement du col , au niveau du pavillon , par voie rectale , par voie transabdominale ...) , actuellement deux techniques sont largement diffusées : la voie cervicale et la voie chirurgicale par le flanc . Dans la suite du développement , seules ces deux techniques seront évoquées .

- Quand transférer ? . Nous nous retrouvons dans le même schéma que le "quand collecter ?" . La limite inférieure est conditionnée par l'arrivée de l'embryon dans l'utérus (J4 J5) - en effet les transferts dans l'oviducte sont très délicats à réaliser et les chances de réussite sont mauvaises - ; et la limite supérieure extrême par la sécrétion de la "trophoblastine" à J16 . En fait la plupart des transferts sont effectués autour de J7 (cf ante) , période intéressante pour l'embryon , mais aussi période optimum pour la congélation et les micromanipulations.

- Où transférer ? (36.32.49.I3.84.68.58) Il apparait , intuitivement , qu'il faut mettre l'embryon là où il devrait être . Deux points : dans quelle corne et à quel niveau . Il n'y a pas de différence entre la corne droite et la corne gauche (59% de taux de gestation sur un échantillon de 2445 transferts (84)) . Il apparait que le site idéal est le haut de la corne ipsilatérale au corps jaune (du même côté) (I3) . Le côté du transfert est important (importance de la " trophoblastine " , ce facteur embryonnaire qui permettrait le maintien du corps jaune et donc la mise en place du corps jaune gestatif) . Mais aussi le niveau du transfert (on pourrait évoquer la même raison : efficacité locale "par contact"??). On se reportera aux tableaux VIId (32) , VIe (49) , et VIIf (36) .

- Comment transférer ? . (76.28.30.8I.63.64.60.53.48.58.7I)

. Il est tout d'abord important de souligner un temps préopératoire : la palpation transrectale pour détecter la posi-

TABLEAU VIId (32). La survie de l'embryon après transfert bilatéral .

	corne ipsilatérale	corne contralatérale
N° embryons tran.	37	37
N° foetus vivants	19	14
% de survie	51,3%	37,8%

les transferts ont été faits entre J9 et J13 , les DG ont été faits à l'abattoir à J45 ou plus .

TABLEAU VIe (49) . La survie foetale à J42 chez des génisses (20/groupe) après des transferts à J7 d'embryon à l'extrémité (t) ou à la base (b) de la corne utérine ipsilatérale ou contralatérale au corps jaune .

	t/t	t/b	b/t	b/b
N° gestations	18	17	15	13
N° foetus				
ipsilatérale	16(Id)	15(Id)	12	12
contralatérale	13	14	III(Id)	II
total	29	29	23	23
%	72,5	72,5	57,5	57,5
N° receveuses à jumeaux	II	12	8	10
% receveuses	55	60	40	50
% gestantes	61,1	70,5	53,3	66,6

d e dégénéré

TABLEAU VI f (36) . Survie foetale dans chacun des sites d'implantation .

corne ipsilatérale		corne contralatérale	
sommet	base	sommet	base
31/40	24/40	24/40	25/40

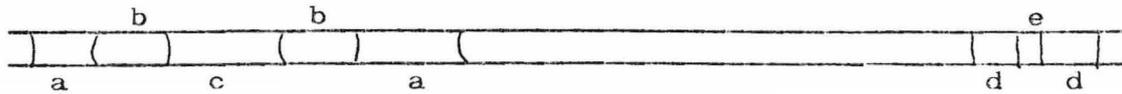
tion du corps jaune (droite ou gauche) . Il faut également éviter tout stress avant et après le transfert .

- la méthode cervicale .C'est une méthode rapide , simple dans son principe . Elle consiste à placer l'embryon dans la corne utérine adjacente au corps jaune à l'aide d'un pistolet Cassou rallongé en passant par les voies naturelles , l'embryon placé dans une paillette (schéma VIa (30)) remplaçant la semence . Le transfert est réalisé sous épidual avec les plus grandes précautions de propreté (pûbes concentriques ?) . Les facteurs limitants de cette méthode : franchissement du col chez les génisses , lésions de la muqueuse utérine , propreté ...
- la méthode chirurgicale par le flanc. C'est une technique beaucoup plus légère que la technique par la ligne blanche et qui ne nécessite qu'une anesthésie locale (Alexander et Marcus cités in 53) :
 - diète hydrique I2 à 24 heures
 - tranquillisation (acepromazine)
 - relaxation de l'utérus par un tocolytique (isoxsuprime)
 - lieu opératoire : du côté du corps jaune , bien en arrière et parallèlement à la corde du flanc
 - tonte , rasage , désinfection
 - anesthésie locale traçante
 - incision sur une I5° de centimètres
 - préhension de la corne utérine ad hoc
 - amener cette corne jusqu'aux lèvres de la plaie
 - perforation de la paroi utérine au tiers antérieur
 - introduction de la pipette et expulsion de l'embryon
 - sutures (2 ou 3 plans)
 - antibiothérapie locale et générale .. Cette méthode est simple , elle peut être mise en place rapidement et nécessite un matériel simple .

- Les résultats . (52.68.55bis.77f.7I.I3.70.7.62c.58.53)

. En sortant tous les résultats de la littérature , une constatation s'impose : après transfert chirurgical les résultats sont constants et fiables (63% , 65% , 60% , 55%) par contre après transfert cervical les résultats sont beaucoup plus variables , (de 20% à 60%) mais ils progressent . Il apparait cependant que le taux de gestation après transfert chirurgical est supérieur de 10 à 15% au taux de gestation après transfert cervical (65 contre 50 (52) , 65(2527t) contre 44%(568t)(70))

SCHEMA VIa (30) . Diagramme d'un embryon monté dans une paillette



a : PBS ; b : bulle d'air ; c : embryon dans du PBS ;
d : coton ; e : poudre de PVC

TABLEAU VI g (68) . Revue des différentes méthodes de transferts

techniques	N° gestantes (palpation à 40j)/N	%
chirurgicale ligne blanche	11/14	79%
chirurgicale flanc	10/14	71%
cervicale	5/14	36%

ki2:6,062 ; p<0,05 ; publication juillet 1980 .

TABLEAU VIh (7) . Transferts chirurgicaux : influence de l'état d'excitation et de la facilité opératoire sur le taux de gestation

	taux de gestation
receveuses calmes (80)	56,2
moyennes (III)	64,0
excitées (74)	52,7
opération facile (241)	54,5
moyenne (90)	56,7
difficile (18)	61,1

TABLEAU VIi (70) . Effet de l'opérateur sur la réussite d'un transfert cervical .

opérateur	N° embryons transférés	N° gestation	%
1	153	73	48a
2	145	77	53a
3	125	35	28b
total	423	185	44

a,b différents au seuil de 0,05

. Néanmoins on peut obtenir d'excellents résultats par voie cervicale (59% de gestation pour 2445 transferts (84)). On se reportera au tableau VI_g(68) pour comparer des essais comparatifs effectués par une même équipe . En conclusion je pense que l'on peut dire que la méthode cervicale mérite pleinement l'ampleur qu'elle a prise en France , mais nécessite des manipulateurs d'une grande habileté soumis à un entraînement constant ; par contre pour la mise en place de transferts à petite ou moyenne échelle la voie chirurgicale reste , à mon avis , la technique de choix .

= Les facteurs de variation . (36.17768.70.67.80.7.84.58.53)

. Les facteurs de variation sont multiples ; ils peuvent être liés à :

- la receveuse (cf ante) - on peut citer le type génétique , l'age , l'état général , la parité , la synchronisation , l'utilisation répétée des receveuses ...
- l'embryon (cf ante) on citera son stade , sa qualité , sa conservation in vitro , son effet lutéotrope/antilutéolytique
- la technique . Sur ce point il faut rappeler que les variations sont beaucoup plus importantes par la voie cervicale que par la voie chirurgicale : soit les facteurs de variation sont plus nombreux , soit ils sont plus sensibles , soit les deux ... nous parlerons , dans ce paragraphe surtout du transfert cervical . La contraction de l'utérus (Brand cité in 36) , non . La stimulation du col et sécrétion de prostaglandines , non plus (Seidel Betteridge cité in 36 , Tervit (80)). Par contre le temps de séjour dans la lumière utérine semble avoir un rôle (36) . Le lieu de dépôt de l'embryon (cf ante) , on peut noter à ce propos un problème inhérent au transfert cervical : il faut rester un certain temps dans la lumière utérine mais suffisamment pour placer l'embryon assez haut . Le volume de milieu utilisé pas de différence selon Newcomb (cité in 36) . Les risques d'infection : indéniablement , une recherche est actuellement menée pour trouver un cocktail antibiotique compatible avec le développement de l'embryon . L'influence de l'opérateur et la technique de manipulation (cf tableaux VI_h(7) ,

VI_i(70), VI_j(17), VI_k(84).

TABLEAU VIj (I7) ; effets technicien et technique

		technicien I		technicien 2	
		vaches	génisses	vaches	génisses
épidural	35	3/15 (20%)	3/15 (20%)	9/15 (60%)	6/15(40%)
	60	2/15(13%)	2/15(13%)	6/15(40%)	6/15(40%)
pas d'épidural	35	4/15(27%)	2/15(13%)	7/15(47%)	6/15(40%)
	60	3/15(20%)	1/15(7%)	5/15(33%)	4/15(27%)

les techniciens I et 2 travaillent avec des résultats différents à 0,01

TABLEAU VIk (84). Effet de la facilité du transfert cervical sur le taux de gestation .

facilité	N° transferts	N° gestantes	%
I	2218	1313	59%
2	183	105	57%
3	46	23	50%

DIAGNOSTIC DE GESTATION . (50.60.53.34.5.33.32bis).

. Ce chapitre est quelque peu marginal dans le cadre de ce travail ; il me semblait néanmoins important de le mettre en place : éclaircissement de la notion de gestation dans les compte-rendus expérimentaux et le fait que le transfert embryonnaire est payé à la gestation (problème de définition) .

. Nous rappellerons les techniques les plus courantes :

- le non-retour en chaleurs (imprécise à cause de la mortalité embryonnaire tardive , mais aussi à cause de mauvaises détections des chaleurs ...)

- la mise-bas , c'est la méthode de choix ; elle présente cependant quelques inconvénients : tardive , elle prend en compte tout ce qui a pu arriver de J0 à J270 ...

- l'abattoir : seulement à des fins expérimentales et sur un petit effectif .

- le dosage de progestérone (J2I-24) , c'est un diagnostic de non-gestation .

- dosage du sulfate d'oestrone (tardif , mais une exactitude de 95%) de plus il se pratique

- la palpation trans-rectale reste une méthode intéressante à condition d'avoir un entraînement minimum ; elle se pratique au delà de 35 jours (pour les génisses) et on commence à avoir des résultats intéressants à 2 mois (à souligner des mortalités embryonnaires dues à des diagnostics de gestations trop précoces) ; on peut citer 85 à 90% d'exactitude au cours du 3^e mois .

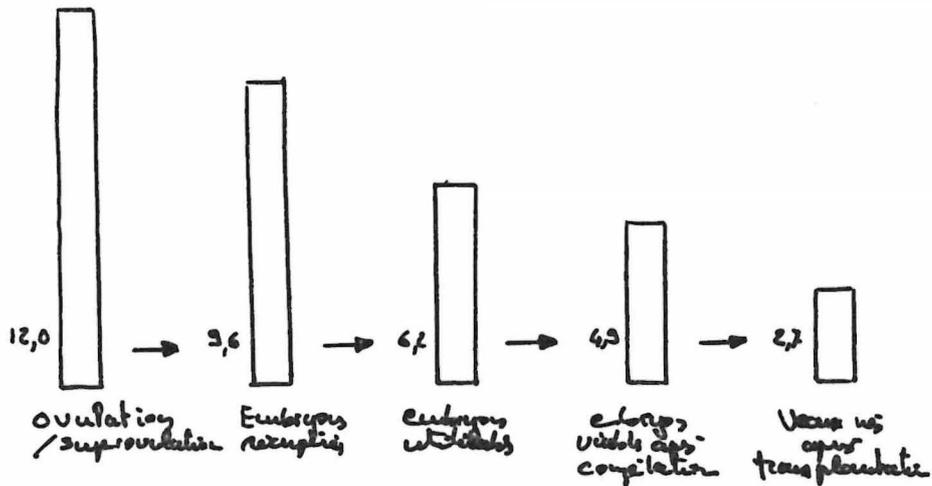
- l'échographie (type B , échotomographie) donne de bons résultats au delà de 40 jours (c'est une période intermédiaire...)

- . RESULTATS GLOBAUX
- . COUTS
- . INTERETS

LES RESULTATS GLOBAUX . (26.7024.55bis.62c.52)

. Ce qui nous intéresse , c'est de savoir combien , en suivant une même filière , une donneuse donnera de veaux . Nous allons passer en revue les résultats fournis , au travers de la littérature , par différentes équipes .

1) HEYMAN (cité en 20) ; le rendement des différentes étapes de la production et du transfert des embryons chez les bovins.



2) SCNEIDER ET coll. (70) ; c'est l'équipe de RIO VISTA INT. , ces résultats sont issus de transferts chirurgicaux .

N° traitement	N°E Réc. col.	N°E fer.	%	N°B.T.	N°gest.	%
5I9	9.95(8.4)	8.20(7.55)	82	5.96(5.37)	3.63(5.37)	61
total	5169	4257		3094	1881	

3) FRANCK et PLAT (26) citent une impression de résultats .

N° de corps jaunes	/ 10 à 12
N° d'embryons collectés	/ 8 à 9
N° d'embryons transférés	/ 6 à 7
N° de gestations (à J90)	/ 4 à 5

4) NIBART et coll. (55bis) fournissent un exemple de bilan portant sur 108 PN donneuses (transferts cervicaux)

N° de donneuses	N° de veaux	% donneuses
15 non collectées	0	29%
20 à 0 bon embryon	0	
33 1 à 3 embryons	0,5 à 1,5	28%
7 à 4 embryons	2	
20 à 6 embryons	3	42%
16 7 à 10 embryons	3,5 à 5	
7 12 à 24 embryons	6 à 12	
118 avec 442 bons embryons		221

5) SEIDEL (62c) situe la distribution des gestations pour 64 donneuses superovulées .

N° gestations	N° donneuses	% donneuses	% des gestations
0	14	22	0
1	7	11	3
2	9	14	8
3	7	11	10
4	9	14	16
5	3	5	7
6	3	5	8
7	5	8	16
8	1	2	4
9	3	5	12
10	0	0	0
11	2	3	10
12	1	2	5

soit 219 gestations/64 donneuses : 3,4 gestations / donneuse

LE COUT DU TRANSFERT D'EMBRYONS .

(67.60.9.62c.73.43.56)

. C'est un problème délicat à aborder ; en effet les publications prennent rarement les mêmes références . Tout d'abord les prix donnés ne sont pas homogènes ni dans l'espace (monnaie différente , mais aussi contexte économique différent ...) ni dans le temps (monnaie évoluant , techniques évoluant passant de la recherche à l'exploitation ...) . D'autre part certains chiffrent les frais de prestations d'une équipe , sans tenir compte ni des frais d'entretien , ni des frais annexes , ni même de l'"amortissement" de la donneuse (animaux de grand prix) ; je pense qu'il faut prendre en compte le coût de la gestation (souvent payée à 90 jours) ou mieux encore le coût du veau à la naissance ou même à 6 mois . Il apparait qu'une gestation à la ferme coute moins cher qu'une gestation dans un centre (1722 dollars contre 2748 dollars pour un veau de 6 mois (62c)) ; PAREZ (56.octobre 1983) cite des chiffres de 1982 pour la France 1060 dollars/gestation en station et 725 dollars / gestation à la ferme et pour les USA (chiffres 1981) 2300 à 2800 dollars / veau . On pourrait multiplier les exemples de prix ... sans grand intérêt . On retiendra que le transfert d'embryons est une technique sophistiquée et couteuse (et je pense qu'elle le restera) qui ne peut s'appliquer qu'à des programmes d'élevage à forte plus-value en sélection par exemple ; cette technique se justifie également dans l'introduction ou la diffusion de races ou de souches intéressantes (intérêt spéculatif) et enfin elle se justifie à des fins expérimentales .

INTERETS DU TRANSFERT D'EMBRYONS .

(71.52.26.7.53.58.73.54.46)

. Les intérêts soulevés par les différents auteurs sont multiples . Il faut signaler les points sur lesquels reposent ces intérêts / tout d'abord , par le biais de la polyovulation mais aussi par la répétition des collectées , le transfert permet d'obtenir un grand nombre de veaux (64 veaux d'une mère en 1 an (26)) en tout cas plus que la normale (1 veau/an) et beaucoup plus que la moyenne , à celà deux conséquences : accélération et effet multiplicateur . Le transfert permet de dissocier la mère génétique de la mère nourricière ... ces deux aspects ne font pas allusions aux nouvelles voies de recherche actuelles (sexage et surtout macromanipulation , voire clonage ...) .

- Intêtet dans le cadre de la sélection génétique . Nous n'entrerons pas dans les détails (on pourra se reporter à l'excellent article de J.C. Mocquot (46)) , en raison de l'intérêt marginal qu'à revêtu cet aspect dans le déroulement du stage . La tentation est d'envisager l'utilisation de la voie femelle pour la sélection (actuellement , seule la voie mâle est exploitée en raison du petit nombre de descendants d'une femelle) ... c'est encore pour le moins prématuré ; en effet ce type d'action nécessite la diffusion à grande échelle de cette technique (alors que nous sommes à une production de quelques milliers de veaux par an) , l'abaissement de son coût et la généralisation de la congélation . Par contre , le transfert peut être envisager tout d'abord au niveau individuel pour la production de reproducteurs (femelles) et au niveau collectif dans le contrôle de la voie mère-fils pour la production de taureaux (mère à taureau) et aussi pour les " progeny-tests" (encore faudrait-il diffuser cette technique pour permettre la mise en place d'index) .

- Intêret dans les échanges et la diffusion de races , de souches , ou d'animaux intéressants . Le transfert est un excellent outil de diffusion ; il permet donc de multiplier une race exotique , reconstituer un cheptel , maintenir une race en voie d'extinction ... De plus le faible encombrement des embryons , la limitation des risques sanitaires (on se reportera à l'article de JOLIVET et PAREZ (38)) et la mise au point de la congélation font du transfert embryonnaire une technique de choix

dans l'import-export d'animaux . Dans ce cadre el coût de cette n'est pas un facteur limitant , vue la valeur ajoutée , . . .

- Un intérêt médical ; en considérant que le transfert d'embryons peut une thérapeutique de certaines stérilités .

- On peut également soulever un intérêt dans le cadre de la production de viande par deux biais : la production de jumeaux ou la mise en plac@d'embryons à forte valeur bouchère (culard par exemple) sur des femelles rustiques possédant de bonnes qualités maternelles .

- Dans le cadre sanitaire , le transfert peut avoir un intérêt dans la production d'une descendance pour une femelle intéressante mais contaminée .

- Enfin dans le cadre de la recherche ...

CONCLUSION

CONCLUSION .

. Tout au long de cet exposé , nous avons envisagé le transfert d'embryons plus comme une technique de terrain que comme une technologie de laboratoire ; nous avons essayé de dégager les points essentiels et leur mise en place pratique sans toutefois tomber dans le biais de la " recette " . Notre ambition serait que le lecteur en fin d'exposé puisse entrevoir l'aspect pratique du sujet , les choix effectués , la raison de ces choix et les intérêts de cette technique .

. Il est très important de maîtriser parfaitement tout le protocole et toute la technique de manipulation ; le résultat d'une campagne de transfert d'embryons dépendent bien sûr de ceci ; mais ils dépendent , à nos yeux , bien plus de la qualité et du choix de la donneuse , de la qualité et du choix de l'embryon , de la qualité et du choix de la receveuse . Il est important également que le manipulateur soit calme , méticuleux , propre ... La bonne réussite de cette technique réside plus dans la maîtrise " pas à pas " de tous les facteurs , le strict respect du protocole et la propreté (sens large) que dans des prouesses manipulatoires .

. Le transfert embryonnaire est une technique délicate et coûteuse qui a ses domaines d'applications , ce serait un gaspillage que de l'utiliser " pour le plaisir " afin d'exalter ses vertus modernistes .

. Il est difficile d'aller plus en avant sur un sujet traité de manière purement technique qui n'a fait l'objet que d'un stage d'initiation . La meilleure conclusion réside dans le dossier de réalisation que nous proposons et bien plus encore dans le programme en lui même qui sera mis en place à partir de cet automne .

. BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE .

- 1 - AGRA-HOLLANDE - Applications du transfert embryonnaire dans l'élevage bovin - Agra-hollande . mai 1980 .
- 2 - AUSTRALIAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE BIOLOGY - Embryo transfer in cattle , sheep and goats . Symposium held at Camberra , Australia , may 1981 , pub 1982 .
 - ²a- BINDON B.M. , PIPER L.R. - Physiological basis of the ovarian response to PMSG in sheep and cattle .
 - 2b- CAHILL L.P. - Factors influencing the follicular response of animals to PMSG .
 - 2c-AMSTRONG D.F. , MILLER B.G. , WALTER E.A. , et coll. - Endocrine response and factors which limit the response of follicles to PMSG and FSH .
 - 2d-FIELDEN E.D. , HAYMANN D.L. - Repeated superovulation and collection in cattle .
 - 2e-GUMM I.M. , OLD K.G. - Embryo transfer , recipient selection , synchronisation , transfer methods and results .
 - 2f-BAKER A.A. , JILLELA D.- Some aspects of embryo transfer in the cow with particular references to the non surgical technique .
 - 2g-MOORE N.W. - Liquide storage and culture of embryos of farm animals .
- 3 - BAKER A.A. , KOBAYASHI G. , JILLELLA D. - A comparison of pregnancy rate following non-surgical and surgical transfer and visual grading of bovine embryos on farms in south-eastern Queensland . theriogenology , january 1983 , vol 19(I)III.
- 4 - BASTIDAS P. , PROCONIZ J. , VERDE O. , SILVA O. - Effect of restricted suckling on ovarian activity and uterine involution in brahman cows - theriogenology , april 1984 , 21 (4) , 525-532 .
- 5 - BETTERIDGE K.J. - Embryo mortality in relation to embryo transfer in farm animals : a position paper In 2° congrès international de transfert embryonnaire chez les mammifères 20-22 septembre 82 - p45-52 - collection fondation M. MERIEUX .
- 6 - BETTERIDGE K.J. - An historical look at embryo transfer- J.R.F. 1981 (62) I-I3 .
- 7 - BETTERIDGE K.J. - Embryo transfer in farm animals - a review of techniques and applications - Canada Dep. of Agriculture - monog. 16 - 1977 - 92 pages .

- 8 - BETTERIDGE K.J. , EAGLESONE M.D. , RANDALL G. , MITCHELL D. - Collection , description and transfer of embryos of cattle 10-16 days after oestrus - J. Rep. Fert? (1980) , 59.205-216 .
- 9 - BOUYSSOU B. - Le coût de la transplantation - IN " La reproduction des bovins : anoestrus post-partum , transfert d'embryons . ITEB & UNCEIA . 1983 . ed. ITEB . p 137-141
- 10 - BOUYSSOU B. , NIBART M. , SCHWARTZ J.L. , DE BEM R. - Transfert embryonnaire - Elevage et insémination - mars 1983 - p13-19 .
- 11 - BOWEN J.M. , ELSDEN R.R. , SEIDEL G.E. - Non surgical embryo transfer in cow ; Theriogenology , july 78 , 10(1) 89-95.
- 12 - BRACKETT B. , SEIDEL G.S. - New technologies in animal breeding - Academic press 1981 . 268 pages .
- 13 - BRAND A. , AKABWAI D. - Some aspects of non surgical embryo transfer in cattle . Vet . Sc. Comm. 1978 , 2, 23-37 .
- 14 - CANNICHAEL R.A. - History of international embryo transfer society .Part I . Theriogenology . january 1980 . 13(1) . 3-7 .
- 15 - CHUPIN D. , PROCUREUR R. - La stimulation de l'ovaire pour produire des embryons chez les bovins - IN ITEB & UNCEIA - La reproduction des bovins : anoestrus post-partum , transfert d'embryons - Ed. ITEB . p75-84 .
- 16 - CRISTER J.K. , ROWE R.F. & Coll. - Embryo transfer in cattle . Factors affecting superovulatory response , number of transferable embryo, and length of post treatment oestrous cycle - Theriogenology - june 1980 - 13(6) 397-406 .
- 17 - CURTIS J.L. , ELSDEN R.P. , SEIDEL G.E. jr - Non-surgical transfer of bovine embryos - Theriogenology - january 1981 - 15(1) - 124 -
- 18 - DE BEM R. - Effet de la super-ovulation et de la congélation sur le blastocyste de la vache . Etude ultrastructurale - Doctorat 3° cycle paris VI - 1982 .
- 19 - DELEFORGE J.- Contribution à l'étude de la transplantation embryonnaire . Le choix de la donneuse . Thèse doctorat vétérinaire . Alfort 1982 .
- 20 - DELOIUS Cl. , HEYMAN Y. - Recherche en transplantation embryonnaire - Cultivar - février 1984 - 168 - 37-41 .

- 21 - DONALDSON L.E. - Embryo production in superovulated cows: transferable embryo correlated with total embryo - Theriogenology - april 1981 - 21(4) 517-523.
- 22 - DROST M. , WRIGHT J.M. , CRISPE W.S. , RICHTER A.R. - Embryo transfer in water beffalo (Bubalus bubalis) - Theriogenology - november 1983 - 20(5) 579-584 .
- 23 - DUNN T.G. - Relationship of nutrition to successful embryo transfer - Theriogenology - 1980 - 13(1) .
- 24 - ECHTERNKAMP S.E. , MAUNAL R.R. , & KILE D.L. & Coll. - Conception , embryonic development and corpus luteum function in beef cows open for two consecutive breeder seasons - Theriogenology - january 1983 - 19(1) - p125.
- 25 - FOURGEAUD P. - La transplantation ovulaire chez les bovins - Thèse doctorat vétérinaire - Alfort 1979.
- 26 - FRANCK M. , PLAT J.C. - La transplantation embryonnaire dans l'espèce bovine - Journées nationales des GTV, REIMS, GTV.81.I.B.212 .
- 27 - GONZALES R. , SOTO E. , BOHORQUEZ R. - Bovine embryo transfer in Venezuela - Theriogenology - January 1983 6 19(1) 130 .
- 28 - GREVE T. - Bovine egge transplantation - Nord. Vet. Med. 1980 . 32 . 513-522 .
- 29 - GREVE T. - Embryo transfer in dairy cattle , an attempt to analyse factors that may affect embryo number and quality - In 2° congrés international : Le transfert embryonnaire chez les mammifères - 20-22 septembre 1982 - Coll. fond. MERIEUX ; 251-276.
- 30 - GREVE T. , LEHN-JENSEN H. - Embryo transplantation in cattle . Non-surgical transfer of 61/2-7 1/2 day old embryos to lactating dairy cows under farm conditions - Acta Vet. Scand. - 1979- 20(1) - 135-144.
- 31 - HALLEY S.M. , RHODES R.C. , MCKELLAR L.D. & RANDEL R.D. - Successful superovulation , nonsurgical collection and transfer of embryos from Brahman cows . Theriogenology - 1979 - 12(2) 97-108 .
- 31bis - HEYMAN Y. 6 Facteurs de variations du transfert embryonnaire par voie cervicale chez les bovins - IN ITEB & UNCEIA - La reproduction des bovins : anoestrus post-partum , transfert embryonnaire - Ed;ITEB . 105-112 .
- 32 - HEYMAN Y. , RENARD J.P. , OZIL J.P. , MESNIL du BUISSON F; Cervical embryo transfer at different stages in cattle - IN colloque Galway 1977 - Exempleaire bibliothèque UNCEIA .

- 32bis - HUMBLOT P. , DALLA PORTA M.H. , SCHWARTZ J.L. - Etude de la mortalité embryonnaire - Elevage et insémination - mars 1983 - 3-I2 .
- 34 - HUMBLOT P. , PHIBIER M.- Evaluation comparée des méthodes de diagnostic de gestation chez les bovins - Elevage et insémination - avril 1984 - 3-I8 .
- 35 - INRA - Blastographie - Elevage et insémination - juillet 1980 - I78 .
- 36 - INRA - Facteurs de variation du transfert embryonnaire par voie cervicale chez les bovins - juin 1980 - exemplaire non publié bibliothèque UNCEIA .
- 37 - ITEB & UNCEIA - La transplantation embryonnaire (reproduction des bovins : anoestrus post-partum et transplantation embryonnaire) - compte-rendu des journées d'informations mars 1982 - Ed. ITEB .
- 38 - JOLLIVET G. , PAREZ M. - Réflexions sur les conditions d'une réglementation sanitaire française en matière de transfert embryonnaire - IN Congrès d'Annecy " transfert embryonnaire chez les mammifères 20-22 septembre 1982 - coll. fondation MERIEUX . 367-376 .
- 39 - KUNCKEL R.N. , STRICKLIN W.R. - Donor recipient asynchronous stage of embryo development and the post transfer survival of bovine embryos - Theriogenology - january 1978 - 9() I96 .
- 40 - LAMPETER W.W. - Erfahrungen mit der unblutigen gewinnung von rinder embryonen - Zuchttyg 1977 - I2 - 8-I3 .
- 40bis - LANDERDALE J.W. - Estrus detection and synchronisation of dairy cattle in large herds - J. of dairy science - 1974 - 57 - 348 .
- 41 - LINDNER G.M. , WRIGHT R.W. - Bovine embryo morphology evaluation - Theriogenology - october 1983 - 20(4) .
- 42 - LUBBADEH W.F. , GRAVES C.N. , SPAHA S.L. - Effect of repeated superovulation on ovulatory response of dairy cows - J. of animal science - 1980 - 50(I) I24-I27 .
- 43 - MABIRE J.M. - La transplantation embryonnaire chez les bovins dans le cadre de l'OGER - BTSA productions animales - exemplaire à la bibliothèque de l'unceia .
- 44 - MESNIL du BUISSON F. - Transplantation embryonnaire chez les bovins - exposé GFV , journées nationales des GFV 20 mai 1981 à Nantes .
- 45 - MESTRALLET J.F. - La transplantation embryonnaire chez les bovins : application aux techniques de prélèvements et de conservations des embryons - Thèse doctorat vétérinaire LYON

- 46 - MOCQUOT J.C. - Impact possible du transfert embryonnaire sur l'amélioration génétique des bovins par sélection - IN congrès d'Annecy : " transfert d'embryons chez les mammifères " , 20-22 septembre 1982 , coll. fondation MERIEUX , 343-360 .
- 47 - NELSON L.D. , ELSDEN R.P. - Pregnancy rates in previously failed bovine embryo transfer recipients - Theriogenology january 1980 , 13(1) 106 .
- 48 - NEWCOMB R. - Technical aspects of embryo transfer in cattle + 29° congrès de la fédération européenne de zootechnie juin 1978 .
- 49 - NEWCOMB R. , CHRISTIE W.B. , ROWSON L.E.A. - Fetal survival after the surgical transfer of bovine embryo - J. repro. Fert. 1980, 59 31-36 .
- 50 - NIBART M. - Programme national de transfert embryonnaire dans l'espèce bovine - IN ITEB UNCEIA : "la reproduction des bovins , anoestrus post-partum , transfertx embryonnaire" 1983 , ed . ITEB , 113-120 .
- 51 - NIBART M. - La transplantation embryonnaire ; actualités et perspectives d'avenir dans l'espèce bovine - La semaine vétérinaire 24-30 avril 1982 n°252 7-12 .
- 52 - NIBART M. - La transplantation embryonnaire , bilan pratique en France - Cultivar février 1984 n°169 155-157 .
- 53 - NIBART M. , BOUYSSOU B. - Le transfert embryonnaire chez les bovins - Rev. Med. Vet. 1981 157(1) 71-87 .
- 54 - NIBART M. , BOUYSSOU B. , d'AVOUT M.S. - Transplantation embryonnaire - Elevage et insémination mai 1980 n°177 13-31 .
- 54bis - NIBART M. , BOUYSSOU B. , DE SEM A.R. & FLORIN B. - Influence de la durée de conservation à température ambiante des embryons de bovins sur le taux de fertilité - IN congrès int. : " Transfert d'embryons chez les mammifères " - Annecy 20-22 septembre 1982 - p314 .
- 54ter - NIBART M. , BOUYSSOU B. , FLORIN B. & PERRIN J. - Polyovulation and embryo transfer in friesian and holstein females in field conditions - IN 9th Int. Cong. Anim. Repro. & AI - Madrid 16-20 juin 1980 - Vol III p437 .
- 55 - NIBART M. , JEANGUYOT N. , SCHWARTZ J.L. , THIBIER M. - Moment de la décharge préovulatoire de LH chez les vaches superovulées - IN congrès Int. : " Transfert d'embryons chez les mammifères " (Annecy 20-22 septembre 1982) p63 .

- 55bis - NIBART M. , BOUYSSOU B. , SCHWARTZ J.L. & DE BEM R.
- Transplantation embryonnaire chez les bovins - élevage et insémination I982 , I89 , 3-I3 .
- 56 - PAREZ M. - Harvesting , processing storage and subsequent use of animal cells in developping countries - expert consultation on animal genetic resources - 24-27/I0/I983 FAO
- 57 - PAREZ M. - Projet de maitrise des cycles sexuels et insémination artificielle sur femelles de races n'dama au ranch de Spilliou (Cote d'Ivoire) - 4/2/80 -laboratoire central de controle des reproducteurs Alfort ; BDPA PARIS .
- 58 - PINARD P. - La transplantation embryonnaire chez les bovins - Thèse doctorat vétérinaire Toulouse I98I .
- 59 - PLASSIER M. - Le transfert embryonnaire ; étude statistique des premières données du programme national de transplantation - Mémoire de fin d'études de l'école agronomique de Rennes septembre I980 .
- 60 - PLAT J.C. , LEYMONIE P. - Aspects pratiques et commerciaux de la diffusion de la transplantation embryonnaire bovine en France . Journées GTV 20 mai I98I , Nantes . GTV 8I.5.B.23I 63-80 .
- 6I - Proceeding of the owners and managers workshop ; 8th annual meeting of the international embryo transfer society - I7/I/I982 ;
 - 6Ia-SEIDEL S.M. - Structures of the embryo transfer industry in member of the international transfer society . 5-9.
 - 6Ib-ROWE R.F. - Non surgical transfer of bovine embryo .
- 62 - Proceeding from the annual conference on artificial insemination and embryo transfer in beef cattle - I6/I/I982.
 - 62a-ELSDEN R.P. -Methodology of embryo transfer - 48-53.
 - 62b-BAKER R.D. - Current applications of embryo transfer -54-58.
 - 62c-SEIDEL G.E. jr - Costs and success rates of embryo transfer with beef cattle - 59-67 .
- 63 - RASBECH N.O. -Instrumental recovery of bovine embryo - Nord. Vet.Med. I98I-33 I4I-I44.
- 64 - RASBECH N.O. - Instruments for non surgical collection and transfer of bovine embryos - Br.Vet.J; I979 I35 I85.
- 65 - RENARD A. - Contribution à l'étude de la transplantation embryonnaire : les moyens de synchronisation et de diagnose des chaleurs de génisses receveuses utilisées pour le transfert embryonnaire - Thèse doctorat vétérinaire Alfort I982 .

- 66 - RENARD J.P. , HEYMAN Y. , MESNIL du BUISSON P. - Unilateral and bilateral cervical transfer of bovine embryo at the blastocyst stage - 1977 UNCEIA pas de références .
- 67 - RIO VISTA INTERNATIONAL - Embryo transfer in cattle - 1982 - Pub. Rio Vista int. san Antonio Texas (USA)
- 68 - ROWE R.F. , DEL CAMPO M.R. , CRIBBER J.K. , GINTHER O.J.- Embryo transfer in cattle : nonsurgical transfer - Am. J.Vet.Res. 1980 41(7) 1024-1028 .
- 69 - ROWSON L.E.A. - Egg transfer in cattle - 1976 - published by the commission of the european community .
- 70 - SCHNEIDER H.J. , CASTELBERRY R.S. & GRIFFIN J.L. - Commercial aspects of bovine embryo transfer - Theriogenology 1980 13(1) 73-86 .
- = 71 - SCHNEIDER U. , HEHN J. - Bovine embryo transfer in Germany - Theriogenology 1979 11(1) 63-79 .
- 72 - SCHULTZ R.H. - History of international embryo transfer society - Theriogenology 1980 13(1) 7-II .
- 73 - SEIDEL G.E. , SEIDEL S.M. - Bovine embryo transfer , costs and success rate - The advance animal breeder 26 (8) 6-10 .
- 74 - SEIDER G.E. , OKUM N.E. - Effects of estrous cycle characteristics on pregnancy rates of bovinex recipients - Theriogenology 1979 11(1) .
- 75 - SHELTON J.N. , HEATH T.D. - Non surgical recovery of eggs from single ovulation bovine - Theriogenology 1979 11 (2) 149-152 .
- 76 - SREENAN J.M. - Non surgical embryo transfer in the cow - Theriogenology 1978 9(1) 69-83 .
- 77 - SREENAN J.R. - Control of reproduction in the cow - EEC seminar in Galway , september 1977 - 1978 ed Nijhoff .
- 77a-PAPKOFF H. - Relationship of PMSG to the Pituitary gonadotrophines - 73 te s.
- 77b-SEIDEL G.E. , ELSDEN R.P. , NELSON L.D. et BOWEN R.A. - Superovulation of cattle with PMSG and FSH - 159 et s.
- 77c-SAUMANDE J. , CHUPIN D. et coll. - Factors affecting the variability of ovulation rates after PMSG stimulation - 195 et s.
- 77d-SEIDEL G.E. , ELSDEN R.P. , NELSON C.D. , HASLEN J?F. - Methods of ovum recovery and factors affecting fertilisation of superovulated bovine ovum - 268 et s.
- 77e-BRAND A. , AARTS M.H. , et coll. - Recovery and transfer of embryo by nonsurgical proceeding in lactating dairy cows .

- 77f-HEYMAN Y. , RENARD J.P. et coll. - Récolte chirurgicale et non chirurgicale .
- 78 - SREENAN J.M. , BEEHAN D. , MULVEHILL P. - Egg transfer in the cow: factors affecting pregnancy and twinning rates following bilateral transfers - J. REP. FERT. 1975 44X 77-85 ;
 - 79 - SUMMERS P.M. , SHELTON J.N. , BELL K. - Synthesis of primary Bos taurus and Bos indicus chimaeric calves - Am.Rep.Science 1983 6 9I-102 .
 - 80 - TERVIT H.R. , COOPER M.W. , GOOLD P.G. & HASZARD G.M. - Non surgical embryo transfer in cattle - Theriogenology 1980 13(I)63-72 .
 - 81 - TESTARD J. - Obtention et transplantation d'oeufs divisés chez les bovins - Thèse doctorat es sciences 1975 .
 - 82 - TROUNSON A.O. , ROWSON L.E.A. , WILLADSEN S.M. - Non surgical transfer of bovine embryo - Vet. Rec. 1978 102 74-75
 - 82bis - WEST G. , WEST C. , RISLEY D. & DONALDSON L. - Effect of breeding regime on percent ova fertilized in super-ovulated cows - Theriogenology 1984 21 273 .
 - 83 - WILLADSEN S.M. , POLDGE C. - Embryo transfer in large domestic species : applications and perspectives in the light of recent experiments with eggs and embryos . Journal of the rase (UNCEIA pas d'autre référence)
 - 84 - WRIGHT J.M. - Non surgical embryo transfer in cattle , embryo recipient interactions - Theriogenology 1981 15(I) 43-56 .

ANNEXES

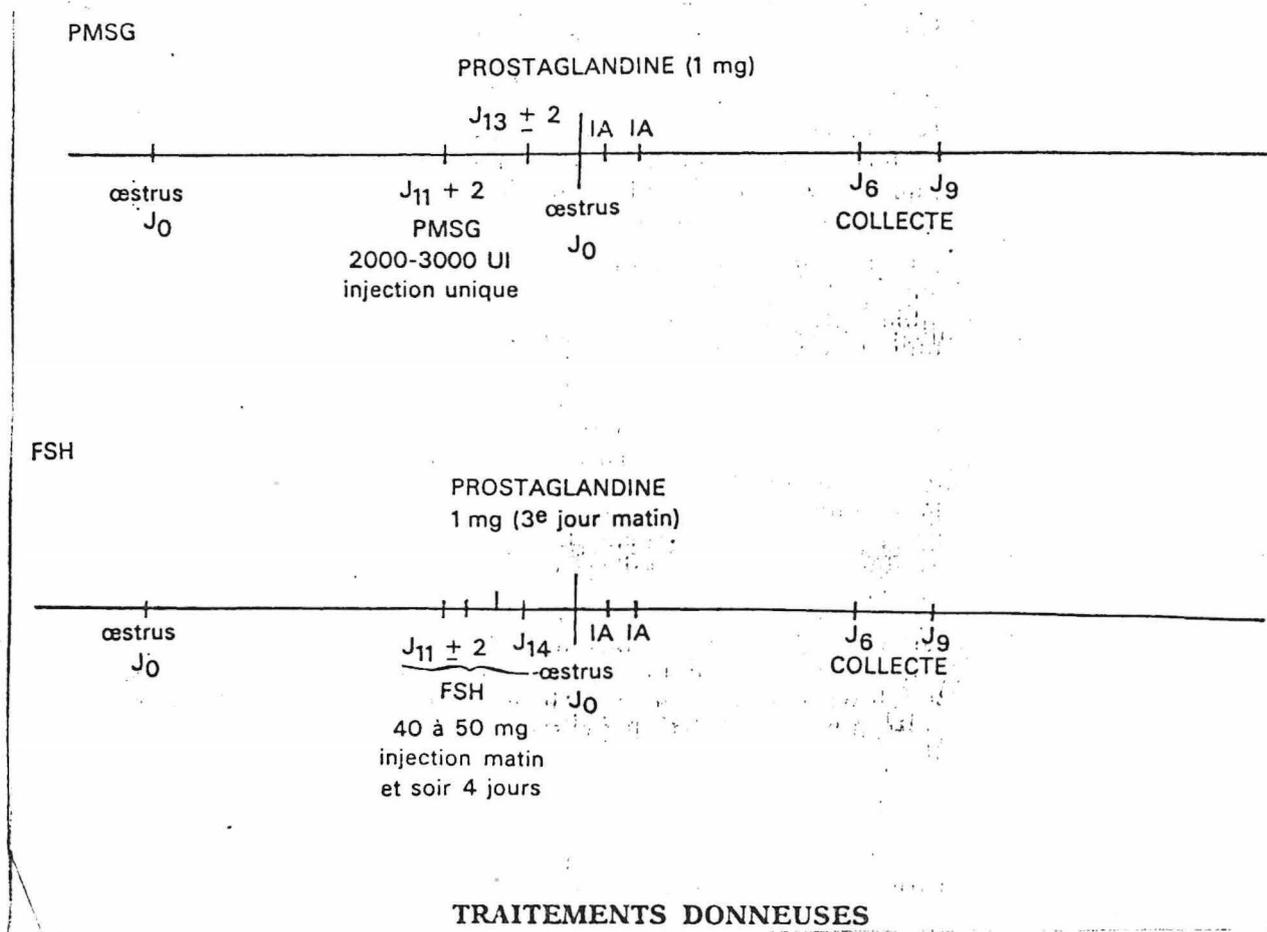
LE PROTOCOLE ET L'ORGANISATION DU TRAVAIL .

(60.54.7I.26.I2.62c.9)

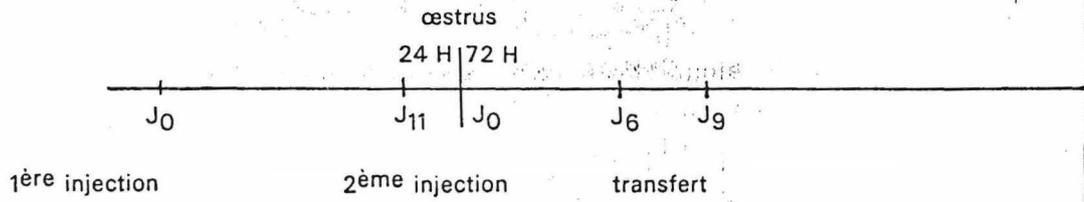
. Ce chapitre permettra de remettre " bout à bout " tout ce qui a été évoqué au paravant . C'est pour cette raison , et vu leur nombre que les schémas et tableaux ne seront pas sortis du texte .

. Il ne nous appartient pas de choisir un schéma de travail ; en effet de nombreuses organisations peuvent être proposées et justifiées dans un contexte donné : centre de transfert ou ferme , nombre de transfert à effectuer , but du transfert

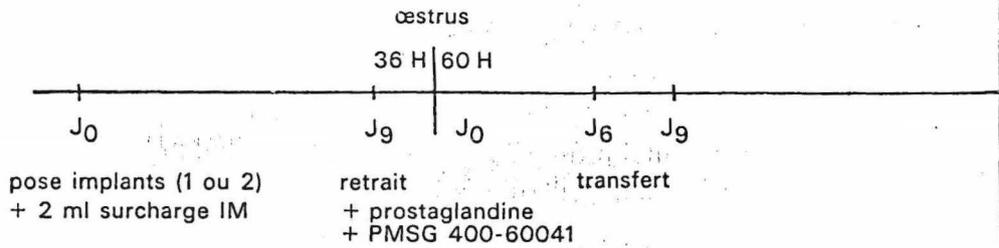
. Le premier schéma remet côte à côte les différentes opérations et notamment les traitements chez la donneuse et les receveuses . Ce schéma est extrait d'un article de PLAT et LEYMONIE (60) , il est bien évident que ce type de schéma se retrouve un peu partout dans la littérature .



PROSTAGLANDINES



IMPLANTS NORGESTOMET



TRAITEMENTS RECEVEUSES

. Schéma extrait d'un article de BRACKETT & SEIDEL (12) résumant toute la marche à suivre .

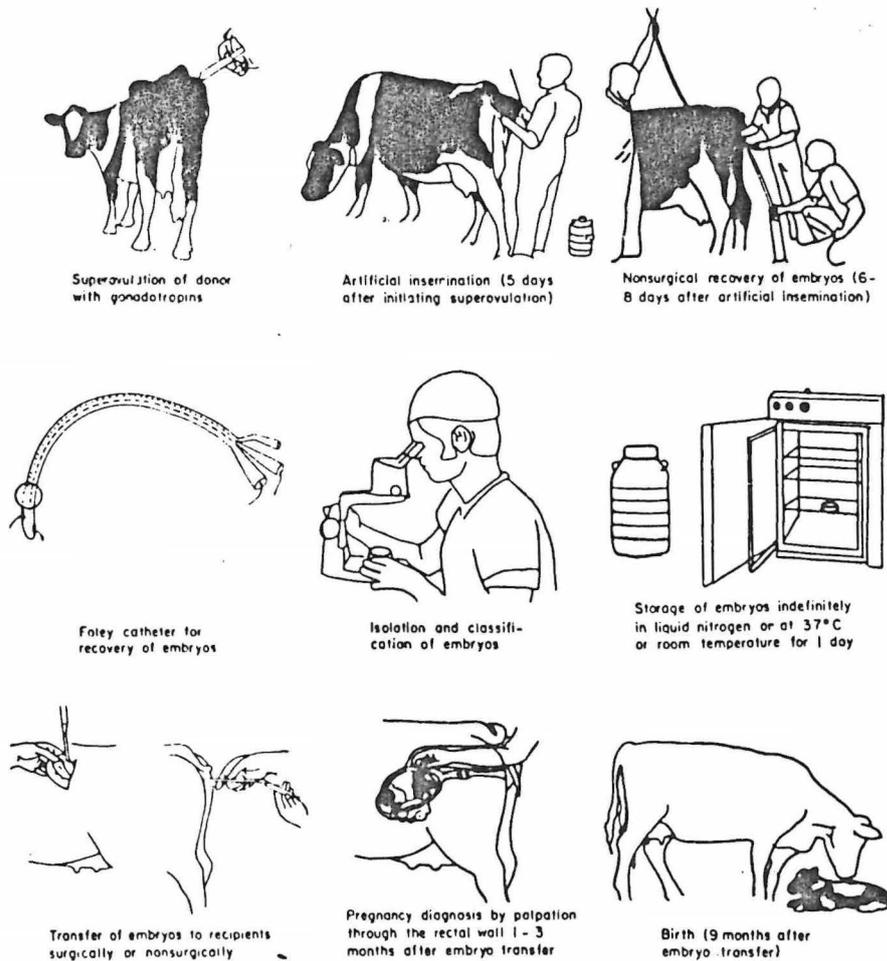


Fig. 1. Synopsis of bovine embryo transfer procedures. (From Seidel, 1981a, copyright 1981, Am. Assoc. Adv. Sci.)

. Exemple d'organisation d'un chantier de travail (d'après BOUYSSOU (9)) . Il est considéré comme cas de figure I donneuse (en fait on peut collecter en moyenne 3 donneuses/jour en tenant compte des remises en place) et 1 jour .

- installation du matériel 30 min
- anesthésie et lavage utérin 1 heure
- recherche des embryons 30 min à 2 heures
- jugement et mise en paillettes .. 30 min
- fouille des receveuses (5 à 6).. 30 min
- remise en place (voie cervicale) 15 à 30 min
- rangement du matériel 30 min

soit en fait au minimum 3 heures 30 min . et au maximum ???

.SEIDEL en 62c cite et estime toute une série d'actions visant à optimiser un programme de transfert d'embryons :

ACTIONS	POSSIBILITES DE CONTROLE
- sélection de donneuse fertile	modérée
- utilisation de semence de grande qualité	modérée
- début de la superovulation de J9 à J14	bonne
- injections de PMSG ou FSH correctes	bonne
- variabilité de la réponse	faible
- détection des chaleurs des donneuses	bonne
- " " " " " " " " " " " " " " receveuses	bonne
- timing correct de l'IA , bonne manipulation des semences , bonne technique d'IA	bonne
- collecte des embryons	modérée
- isolement et classification	bonne
- conservation des embryons avant le transfert	bonne
- technique du transfert	bonne
- viabilité des embryons	modérée
- sélection de receveuses fertiles	modérée
- diagnostic de gestation , de préférence après J50	bonne
- prévention des avortements	bonne
- bonne technique de vélage	bonne
- bon élevage des veaux	bonne
- alimentation : donneuses , receveuses , veaux	bonne
- controle des maladies et vaccinations	bonne
- lots différents d'hormones de superovulation	modérée
- temps	modérée
- Bonne tenue des dossiers	bonne

. Dans le même article (62c) , l'auteur cite des facteurs qui font baisser le taux de réussite :

- les donneuse infertiles qui ont des réponses plus basses .
- la supériorité de la semence fraîche pour certains taureaux .
- les faibles réussites après congélation
- l'infériorité de la voie cervicale dans certains cas .
- le faible taux de réussite après découpage des embryons .
- les jeunes vaches sont plus fertiles comme donneuses et comme receveuses que les génisses ou que les vieilles vaches .
- baisse de la collecte après la 3^o ou la 4^o superovulation .

. Je pense également qu'il est important d'avoir de bons documents d'enregistrement ; comme exemple les fiches donneuse et receveuse utilisées dans le programme national .

IDENTIFICATION

DEPARTEMENT

ELEVEUR Code

Nom

Adresse

Tél.

N°

DONNEUSE Code

Nom

N° travail

N° TRAITEMENT

N° NATIONAL

Inscrite à l'UPRA ? OUI NON

RACE

(cf mode d'emploi)

Date de naissance / /

AGE

(code en années et 1/10ème d'année).

RANG DE VELAGE

0 = Génisse

VACHE

1 Traite

2 Allaitante

STADE DE LACTATION

1 <3 mois

2 >3 mois

3 Tarie: sevrage

Date du dernier vêlage / /

INTERVALLE VELAGE-COLLECTE (en jours)

Nbre I.A. NECESSAIRES A LA DERNIERE GESTATION

POIDS (kg) (coder en dizaines)

CYCLEE

0 Non

1 Oui

LACTATION TOTALE PRECEDENTE (kg)

NIVEAU AU DERNIER CONTROLE LAITIER (kg)

ETAT SANITAIRE (cf mode d'emploi)

Anomalies:

Vaccinations:

Date / /

ETAT NUTRITIONNEL

1 Maigre

2 Moyen

3 Gras

SUPEROVULATION

TRAITEMENT (cf mode d'emploi)

Date injec. PMSG / /

Date chaleurs après PMSG / /

(ou bien date début cocktail)

Date 1ère I.A. / / heure

Date 2ème I.A. / / heure

TAUREAU:

N° NATIONAL

Nom

Race

1 2
3 5

6 7

8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18

19 20

21 22 23

24

25

26

27 28

29 30

31

32

33

34

35

36 37

38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52

SPECIMEN FICHE "RECEVEUSE" verso

STADE (en jours après le début des chaleurs de la donneuse)

MANIPULATIONS SUBIES PAR L'EMBRYON

 0 Frais

 1 Conservés

 2 Congelés

INTERVALLE COLLECTE-MISE EN PLACE (en heures)

ETAT DE LA RECEVEUSE

 0 Vide

 1 Déjà inséminée

COTE GAUCHE

Nbre DE C.J.

Nbre EMBRYONS MIS EN PLACE

COTE DROIT

Nbre DE C.J.

Nbre EMBRYONS MIS EN PLACE

DONNEUSE (code, cf fiche DONNEUSE)

 Nom _____

 N° national _____

PROVENANCE DE LA DONNEUSE

 0 Même élevage

 1 Autre élevage

SYNCHRONISME DONNEUSE/RECEVEUSE

 0 Rec. = Don.

 1 Rec. en retard

 2 Rec. en avance

RESULTATS

D.G. A 21 JOURS

 0 Négatif

 1 Positif

 Retour en chaleurs, Date / /

DUREE DU CYCLE (jours)

FOUILLE

 0 Vide

 1 Pleine

MISE-BAS

 Date / /

DUREE DE GESTATION (jours)

 (ou durée jusqu'à l'avortement)

VELAGE

 1 Simple

 2 Double

QUALITE DU VELAGE (cf mode d'emploi)

VEAUX Transplantation :

1er VEAU (0⁺ : 1) (0 : 2)

2ème VEAU (0⁺ : 1) (0 : 2)

Insémination Artificielle

SEXE (0⁺ : 1) (0 : 2)

POIDS DU (OU DES) VEAU(X) (en kg)

REMARQUES GENERALES :

QUELQUES PROPOSITIONS POUR LE PROGRAMME DE TRANSFERT D'EMBRYONS
DU C.R.F.A. A BOBO-DIOULASSO (BURKINA-FASO) .

. Nous allons maintenant essayer de proposer un schéma expérimental pour le programme qui va être mis en place au BURKINA-FASO (ex Haute-Volta) dans le cadre du programme trypanotolérance du C.R.F.A. (Bobo-Dioulasso) ; nous reprendrons point par point le schéma de base proposé dans le rapport , et nous choisirons une voie et justifierons ce choix .

. Définition et but du programme . Il convient tout d'abord d'expliquer le terme de trypanotolérance (qui sera préféré au terme de trypanorésistance) (8) : "La trypanotolérance est une propriété héréditaire qui permet à certaines espèces , races , individus de vivre normalement dans un milieu naturel infectant en hébergeant des trypanosomes pathogènes sans présenter de signes cliniques de la maladie ... C'est un phénomène fragile ... D'une manière générale il est vraisemblable qu'il y ait à la base du phénomène de trypanotolérance des causes d'ordre génétique se traduisant par des profils biochimiques et des comportements immunologiques particuliers placés sous la dépendance de facteurs écologiques " , (8.23.50) il est important également de noter la relativité du phénomène , sa labilité (nécessité d'une infection permanente) ; il reste que c'est un phénomène mal connu encore et qui divise les spécialistes (ITARD communications personnelles). Le but de la manipulation consiste à faire "pousser" des embryons trypanotolérants sur des receveuses trypanosensibles et vis versa . Il est évident qu'on ne peut maîtriser une technique aussi sophistiquée sans la maîtrise élémentaire de connaissances de base .

. Intérêts . Ils sont de deux ordres : les intérêts directs et les intérêts indirects . Les intérêts directs : effectuer des transferts croisés entre trypanotolérants et trypanosensibles (meilleure connaissance du déterminisme génétique , en effet l'embryon c'est schématiquement un génotype sans encore d'effets de milieu , ni même de milieu maternelle) ; obtenir des animaux issus de trypanotolérants immunologiquement free pour la trypanosomiase (pas même de contact pendant la gestation) ; sélectionner et diffuser le caractère de trypanotolérance (le transfert d'embryons est un excellent outil dans le cadre de la sélection) . Les intérêts indirects : une meilleure connaissance des qualités de reproduction des races étudiées , la mise en place de polyovulation et surtout de synchronisation des chaleurs ; la réalisation de transferts sur des races rustiques autochtones

(en général les transferts sont réalisés sur des races très sélectionnées et sur des sujets très performants) ; réalisation de transferts croisés BOS taurus , BOS indicus .

. Situation actuelle . A ma connaissance , en Afrique inter-tropicale , il a été effectué quelques transferts d'embryons congelés de N'dama (prélevés en gambie) par l'ILRAD . Ces travaux n'ont pas encore fait l'objet de publication . Pas d'autres cas n'existent à ma connaissance , en Afrique inter-tropicale .

. Le cheptel . (10) Le rapport du CRTA (1982) fait état d'un cheptel expérimental (l'expérimentation aura lieu sur ces animaux) de :

III baoulés
 4 N'dama
 90 zébus
 II métis

; savoir 93 mâles et 124 femelles . Il y avait 123 adultes . Les naissances se répartissaient de la manière suivante :

	<u>n'dama et baoulés</u>	<u>zébus</u>
males	51,3%	40%
femelles	48,7%	60%
mortalité des jeunes	17,95%	25,71% (tot. 21,63%)

. Les vélages , qui avaient lieu en mai , juin et juillet , se sont trouvés décalés , pour des raisons expérimentales , en octobre , novembre et décembre . Le rapport fait également état de vaccinations BI9 (anti-brucellose) , anti-bovi-pestique , anti-péritonite , anti-charbonnouse .

. La connaissance actuelle des qualités de reproduction des races étudiées . Il n'est pas dans notre intention de faire une synthèse bibliographique complète sur ce sujet . Nous soulignerons tout d'abord quelques remarques quant à l'effet du milieu sur la reproduction ; tout d'abord une sous-alimentation retarde l'âge au premier oestrus (\$9.45)

(Hansson cité in 45) - cf Tableau n° I

TABLEAU N° I (45) Effet du niveau alimentaire sur la puberté .

niveau alimentaire en % des normes	age au 1° oestrus
40	13.3 mois
60	12.5 mois
80	10.9 mois
100	10.4 MOIS
120	10.6 mois

TABLEAU N° 2(51) . Stress thermique et reproduction .

température ext.	température rectale	% Conception	Progest. ng/ml
21.1°	38.51°	48%	0.55
32.2°	40.00°	0%	0.97

TABLEAU N° 3(6.7.8.33.documents de cours) . La re production des bovins autochtones en zone soudano-guinéenne à guinéenne ;

racés	mode d'élev.	age IV°	int;V°	lacta.	Fec.	mort	Veaux oest
n'dama	int;	35mI7j	420,8	206	75-80	10	21,08
n'dama	ext.	42mI/2	15m	7-10	50	12-30	id
baoulé	trad.	48	18-24	4-6	40-55	15-17	
baolué	amélioré	26-35	12-13		82-85		
zébu peulh		36-48	11-17	8			21,5
zébu gobra		36-48	18	6-8			id

. Il faut signaler l'importance du stress thermique sur la reproduction (I8.5I.56); tout en tempérant les résultats des différentes expériences, en effet elles sont réalisées avec des animaux importés non habitués aux conditions de vie locale. Diaz et coll. (I8) citent les chiffres suivants pour des truies exposées entre J8 et JI6 à un stress thermique (54% de gestants pour les animaux stressés, et 83% pour les animaux témoins), ils notent une augmentation de la progestérone chez les animaux stressés et une baisse de l'oestradiol. Tatcher(5I) fait le même type de constatation sur des vaches laitières (cf tableau n°2) .

; Pour les caractères généraux de reproduction, on se référera au tableau synthétique n° 3 (documents de cours et 7.8.33.6) . Landais (33) note que 50% des mises-bas ont lieu entre octobre et janvier et qu'il existe un deuxième pic de vélage centré en avril (23%), ceci correspond à deux pics de fécondation, un en janvier-février pour les taurins qui correspondrait à un optimum de viabilité pour les veaux et un deuxième en juillet qui correspondrait à un flushing pour les zébus (origine sahélienne) . Les taurins ne présentent pas, a priori, de grandes différences avec les Bos taurus des pays tempérés, par contre Cuq (II.I2.I3.I4) souligne quelques différences pour le Zébu. Il note le type discontinu de cette espèce (anoestrus allant de 3 semaines à 3 mois), la très grande rareté des jumeaux, le peu de manifestation des chaleurs, la lenteur d'évolution du corps jaune, l'importance des corps jaunes gestatifs secondaires voire tertiaires. Par contre, les données concernant le métabolisme hormonal des zébus africains et même des taurins sont rares (I5.I) . Des études plus poussées comparant les zébus brahman aux taurins hereford ou angus (46) montrent un taux hormonal généralement plus bas et plus lent chez le zébu; peut-on conclure à un métabolisme hormonal plus frustré chez le zébu ?...

. Programme d'action pouvant améliorer cette connaissance pour le cheptel qui nous intéresse . (24.I4.30.3I32.49 et HUMBLOT communications personnelles) . Ce programme réside essentiellement dans l'enregistrement régulier et systématique des événements qui surviennent dans le troupeau (35.38) ; cet enregistrement sous-entend une identification des animaux. Murray et coll. (38) considèrent comme minimales, moyennes ou maximales les actions suivantes (tsvp)

	minmale	moyenne	maximale
vélage	date et identification du couple vache/veau	pds du veau	pds de la mère
pesées	3 mois	2 mois	1 mois
mouvements	mort, vente , castration sevrage, mise au male, prod lait/jour, mvts des taureaux		saillie et poids à la vente .

. On peut également envisager une visite tout les 10 jours des femelles ou bien une visite suivie d'une visite 10 jours plus tard de temps en temps (à 40 jours pour les involutions utérines , à 60 jours pour les anoestrus , ensuite pour les diagnostics de gestation et les infertilités) . A chaque examen , on envisage de faire une pesée de l'animal , un bref examen clinique , une inspection vaginale (vaginoscope) avec recherche des images en feuilles de fougères sur un prélèvement de mucus (Noonan et coll. cité in 32) , une palpation transrectale (erreur à la palpation sur les ovaires : 30%) on notera la présence d'organites (CJ , follicules , ...) sur chacun des ovaires , la tonicité de l'utérus et son volume et la tonicité du col . (cf proposition de fiche d'enregistrement) .

. Le choix des donneuses . Au travers des informations recueillies ci-dessus , on pourra choisir la donneuse sur des caractéristiques de reproduction individuelles , l'exploitation des archives fournira des résultats précieux sur les caractères génétiques de la donneuse et sa valeur . On envisage de choisir en tout 30 donneuses (certaines "reservieront") , en fait une quinzaine suffiront , un peu plus d'une femelle sur 10 sera choisie .

. La super-ovulation . La PMSG a été préférée pour deux raisons : absence de FSH sur le marché français et plus grande commodité d'emploi (1 seule injection) . Hendricks J.C. (29) conseille pour un emploi sur le terrain en Afrique du sud 500 UI PMSG à JII avec des prostaglandines 2 jours après . Pour les animaux qui sont à notre disposition cela ferai à peine 1500 UI , je pense qu'une dose de 1500 à 2500 UI serait plus ad hoc .

. L'insémination artificielle . Dans un premier temps nous ne disposerons pas de semences congelées de races autochtones étudiées

; seuls des semences de n'dama pourraient être disponibles (42) .
Nous utiliserons donc , soit la monte naturelle , soit l'IA ,
si un programme de fabrication de semences est mis en place (ceci
est envisagé dans un but de sauvegarde des reproducteurs intéres-
sant ... alors que si on fabrique de la semence il me semble
plus intéressant d'en généraliser l'utilisation) .

. La collecte . Elle sera pratiquée autour de J7 ; nous aurons
recours , bien entendu , à la voie cervicale . Nous utiliserons
deux types de sondes : la sonde INKA-IMV et la sonde de NEUSTADT-
AISCH . Nous utiliserons du PBS modifié comme milieu de collecte
à raison de 1/2 litre par corne .

. L'embryon . Il n'y a rien de particulier à noter à ce propos
si ce n'est le fait que , vu la faible qualité génétique de
nos donneuses et la rareté des receveuses , nous n'utiliserons
que des embryons de bonne et d'excellente qualité .

. Le choix des receveuses . Vue la composition du cheptel et vu
le nombre de receveuses nécessaires (100) , vu également le fait
qu'on ne peut , valablement , réutiliser qu'une fois les rece-
veuses , le choix des receveuses ne sera pas très sélectif . Je
pense que toutes les femelles en âge de reproduire et étant
capable de reproduire seront retenues .

. La synchronisation . Nous aurons recours à des implants (pro-
gestagènes et surcharge avec des prostaglandines au retrait) .
En voici les raisons : les spirales ne sont pas adaptées à la
topographie et aux dimensions des animaux étudiés d'où un risque
de perte , les prostaglandines qui donnent des résultats comparables
ont parfois l'inconvénient d'une absence de corps jaune à la
palpation au moment du transfert . Les implants sont retirés
à J9-J10. On peut également envisager le fait de synchroniser
les donneuses lors du cycle précédent .
(= quivacds prophagis)

. La technique du transfert . Le choix s'est porté sur la technique
chirurgicale : facilité d'exécution pour un vétérinaire (chir-
urgie) , moindre variabilité entre les manipulateurs , taux
de réussite supérieure de 10 à 20% .

. Le diagnostic de gestation . Il sera effectué par palpation
entre les 60° et le 90° jour . Le diagnostic précoce de non-

gestation par dosage de la progestérone ne sera pas effectué pour des raisons logistiques .

. Perspectives de résultats globaux . Le programme envisage une trentaine de collecte , une centaine de transferts et espère une cinquantaine de gestations .

BIBLIOGRAPHIE SOMMAIRE

(la numérotation de cette bibliographie ne recoupe pas la numérotation de la bibliographie générale , il s'agit de deux fichiers différents)

- I - ADEYEMO O. & EVERETT H. - Plasma progesterone concentration in Bos taurus and Bos indicus heifers - Theriogenology , II(6) 411-420 .
- 6 - CHARTIER - Situation de l'élevage dans la zone de Sideradougou - 1982 - IEMVT rapport n°1 et 2 .
- 7 - CIPEA , ILCA - Le bétail trypanotolérant d'Afrique occidentale et centrale - ILCA 1979- Addis Abeba .
- 8 - COULOMB J., GROVEL J. , MOREL P. et coll. - La trypanotolérance , synthèse bibliographique des connaissances actuelles - 1977 - Ministère de la coopération IEMVT , Paris , Alfort .
- 10 - CRTA - Rapport d'activité 1982 - 1983 IEMVT n°51367 .
- 11 - CUQ P. - Particularités du fonctionnement ovarien de la femelle zébu (Bos indicus) dans la zone soudano-sahélienne de l'Afrique tropicale de l'ouest - Bulletin de l'association des anatomistes 59(164) mars 1975 139-144.
- 12 - CUQ P. , AGBA K.M. - Les organes génitaux de la femelle zébu . R.E.M.V.P.T. 1975 28(3) 331-403 .
- 13 - CUQ P. , FERNEY J. et van CRAENEST P. - Le cycle génital de la femelle zébu - Bos indicus - en zone soudano-sahélienne du Sénégal - R.E.M.V.P.T. 1974 37(2) 147-175.
- 14 - CUQ P. , PESSINABA I.V. - Diagnostic cytohormonal par coloration différentielle et mise en évidence des lipides sur frottis vaginaux - étude comparative chez la femelle zébu - Rec. Med. vet. 1979 155(1) 57-66 .
- 15 - DENIS J.P. - Etude des niveaux hormonaux chez les zébus du Sénégal - Rapport n°35 , Dakar LNERV 1981 .
- 18 - DIAZ T. , MARZO M. et coll. - Niveles plasmaticos de progesterone P₄ durante el ciclo estral en vacas holstein , brahman , nevillos , tipoca cuora y mestizas lecheras en ambiente tropical - IN congrès of animal reproduction and artificial insemination - June 10-14 1984 - Urbana USA 166 .
- 23 - GIDEL R; - Travaux effectués par l'équipe de recherche franco-allemande sur la trypanotolérance à Bobo-dioulasso - 1979 rapport IEMVT .

- 24 - GOFFAUX M. - Méthodes de détection de l'oestrus chez les bovins - Elevage et insémination 1974 144 3-26
- 29 - HENDRIKS J.C. - Collection and transfer of bovine embryos under local conditions - J.S.Afr.Vet.Ass. (Abs.) 1977 48(4) 273 .
- 30 - HUMBLOT P. - Etude de la fécondation après vélage chez la vache laitière - Elevage et insémination - mai 1980 n°177 3-12 .
- 31 - HUMBLOT P. & THIBIER M. - Utilisation de schémas thérapeutiques dans un programme de contrôle de l'infécondité dans un troupeau de vaches laitières - Rec.Med.Vet. 1981 157(1) 91-104.
- 32-- INRA , IPEB , UNCEIA - Maîtrise de la reproduction , compte-rendu des journées d'information - Mai 1972 , Paris , INRA .
- 33 - LANDAIS E. - La reproduction des bovins en élevage sédentaire traditionnel dans le nord de la Côte d'Ivoire - IN Reproduction des ruminants en zone tropicale Pointe à Pitre 8-10 juin 1983 - 1984 ed. INRA (Les colloques de l'INRA) 113-134 .
- 35 - LHOSSE P. - Rapport de mission à Lomé - 1980 IEMVF .
- 38 - MURRAY M. , TRAIL J.M.C. , TURNER D.A. , WISSOCQ Y. - Productivité animale et trypanotolérance - 1983 ILCA Addis Abbeba .
- 39 - OEDDIPE E.O. , OSORI D.I.K. , AKEREMOJA D. , SAROR D. - Effect of level of nutrition on onset of puberty and conception rate of zébu heifers - theriogenology november 1982 18(5) 225-230 .
- 42 - PAREZ M. - Projet de maîtrise des cycles sexuels et insémination artificielle sur femelles de race n'dama au ranch de spiliou (CI) . 4/2/1980 . Laboratoire central de contrôle des reproducteurs Alfort , BDPA Paris .
- 45 - RALAMBOFIRINGA A. - Contribution à l'étude de la physiologie de la reproduction , la méthodologie de la détection des chaleurs et la technique de l'insémination artificielle de la vache n'dama . Thèse doctorat vétérinaire Lyon 1974 .
- 46 - RANDEL R.D. - Seasonal effects on female reproduction functions in the bovine (indian breeds) - theriogenology january 1984 21(1) 170-185 .
- 49 - SHIRVASTURA B.B. , PAREK H.K. , DAVE B.K. - Oestrus behaviour and factors affecting fertility in gir and exotic zebu cattle - Ind.Jpour.Dair.Science 1977 30(4) 352-354.

- 50 - SONKO M. - Les bases scientifiques de la trypanotolérance et la productivité - Travail de fin d'année IMF prince Léopold Anvers (belgique) - 1983 - IEMVT n°8376 .
- 51 - THATCHER W.W. - Effects of season , climate and temperature on reproduction and lactation - J. dairy science 1974 57(3) 360-368.
- 56 - VENTER H.A.W. , BONSMAN J.C. , SKINEN J.D. - The influence of climate on the reproduction of cattle - Int. J. Biometeorology 1973 17(2) 147-151 .

MATERIEL NECESSAIRE AU PROGRAMME DE TRANSFERT.

PHARMACIE .

- PMSG 75000 UI
- prostaglandines 220 doses
- implants progestagène et surcharge 130 implants
- Lignocaine chlorhydrate 250 g
- Vétranquil N.D. 250 ml
- silicone SERVA 200 ml
- PBS modifié 50 litres
- Antibiotiques générales QS 100 rec.
- Polyoxyméthylène en pastilles QS
- Planipart N.D. 1000 ml
- Tifène ND QS
- ALCOOL QS
- Savon QS
- Serum de veau fetal..... 200 ml
- teinture d'iode QS

MATERIEL SPECIFIQUE .

- 1 sonde IMV complète
- 5 sondes allemandes et deux mandrins
- 1 dilatateur
- 100 chemises sanitaires
- 5 robinets à 3 voies
- 5 plongeurs métal forme boule
- 20 m de tube médical en élastomère de silicone .

MATERIEL D'OBSERVATION .

- loupe binoculaire et éclairage
- microaspirateur (1)
- 20 millipores

MATERIEL CHIRURGICAL .

- 3 bistouris
- 50 lames
- 3 ciseaux droits
- 3 porte-aiguilles
- 20 aiguilles sadavériques courbes
- 30 aiguilles cadavériques en "S"
- 6 pinces clamps
- 3 pinces à dissection

- 5 rasoirs
- 100m catgut N°3
- 100M soie N°3
- 3 boites chirurgicales .

VERRERIE

- 20 flacons bouchés de 1/2 litres
- 10 flacons de 1 litre
- 100 boites de petri carrées et quadrillées en plastique
- 30 petites boites de petri
- 200 tubes capillaires

AUTRE MATERIEL

- 500 gants de fouille
- 100 gants en latex non stéril
- 100 paires de gants chirurgicaux
- 3 thermomètres à bain marie
- des thermomètres médicaux
- étuve
- four
- seringues plegiglas 50 et 20 ml
- 100 seringues 50ml jetables ;
- 1 vaginoscope
- boucles d'oreilles et pinces
- marqueurs verrerie
- marqueurs bestiaux
- papier aluminium
- ruban indicateur popinel
- compresses, tampons , blouses . champs ...
- cordes et cages de contention .

PROPOSITION DE FICHE POUR LES FEMELLES .

N° / date de la fiche
date de naissance
père :
mère :
origine :
signalement :
état sanitaire :

vaccinations et dates

vélage date poids jeune sexe poids mère poids 3mois

avortements :

dates des chaleurs :

dates des mises au males :

dates des saillies :

remarques :

vente ou mort :

ENREGISTREMENT DES EXAMENS .



date	Pds	vagin	oestrus?	ov. d.	ov. G.	utérus	col	gestation?

. N.B. pour les fiches donneuses et receveuses , on s'inspirera des fiches du programme national français en les adaptant aux contingences .