



HAL
open science

**OPU-FIV chez les bovins, étude rétrospective des
facteurs de variation dans le cadre de l'unité de sélection
AURIVA**

Noémie Leroy

► **To cite this version:**

Noémie Leroy. OPU-FIV chez les bovins, étude rétrospective des facteurs de variation dans le cadre de l'unité de sélection AURIVA. Médecine vétérinaire et santé animale. 2022. dumas-03845358

HAL Id: dumas-03845358

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03845358v1>

Submitted on 9 Nov 2022

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

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

OPU-FIV CHEZ LES BOVINS, ETUDE RETROSPECTIVE DES FACTEURS DE VARIATION DANS LE CADRE DE L'UNITE DE SELECTION AURIVA

THESE D'EXERCICE

pour obtenir le titre de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

LEROY Noémie, Emma

Directrice de thèse : Mme Nicole HAGEN

JURY

PRESIDENT :

M. Roger LEANDRI

Professeur à l'Université Paul SABATIER de TOULOUSE

ASSEESSEURES :

Mme Nicole HAGEN

Mme Sylvie CHASTANT

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRES INVITES :

M. Serge LACAZE

Mme Giselle GAMARRA

Ingénieur agronome, unité de sélection AURIVA

ingénieure agronome, unité de sélection AURIVA

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Liste des directeurs/assesseurs de thèse de doctorat vétérinaire

Directeur : Professeur Pierre SANS

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Pharmacologie, thérapeutique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et industrie des aliments d'origine animale*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, statistiques, modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la reproduction, endocrinologie*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie médicale animale et comparée*

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et industrie des aliments*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, anatomie pathologique*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et thérapeutique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des ruminants*

PROFESSEURS 2^{ème} CLASSE

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des équidés et des carnivores*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation animale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, imagerie médicale*
- Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles*
- M. **RABOISSON Didier**, *Médecine de population et économie de la santé animale*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la reproduction*
- Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et industrie des denrées alimentaires d'origine animale*
- Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
- M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et mathématiques*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et infectiologie*

MAITRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **BRET Lydie**, *Physique et chimie biologiques et médicales*
- Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie, imagerie médicale*
- M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
- Mme **DANIELS Hélène**, *Immunologie, bactériologie, pathologie infectieuse*
- Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **DIDIMO IMAZAKI Pedro**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
- Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
- Mme **GRANAT Fanny**, *Biologie médicale animale*
- Mme **JOURDAN Géraldine**, *Anesthésie, analgésie*
- M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des équidés*
- Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
- M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
- M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire, maladies animales règlementées*
- Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

INGENIEURS DE RECHERCHE

- M. **AUMANN Marcel**, *Urgences, soins intensifs*
- M. **AUVRAY Frédéric**, *Santé digestive, pathogénie et commensalisme des entérobactéries*
- M. **CASSARD Hervé**, *Pathologie des ruminants*
- M. **CROVILLE Guillaume**, *Virologie et génomique cliniques*
- Mme **DEBREUQUE Maud**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- Mme **DIDIER Caroline**, *Anesthésie, analgésie*
- Mme **DUPOUY GUIRAUTE Véronique**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
- Mme **GAILLARD Elodie**, *Urgences, soins intensifs*
- Mme **GEFFRE Anne**, *Biologie médicale animale et comparée*
- Mme **GRISEZ Christelle**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **JEUNESSE Elisabeth**, *Bonnes pratiques de laboratoire*
- Mme **PRESSANTI Charline**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **RAMON PORTUGAL Félipe**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
- M. **REYNOLDS Brice**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- Mme **ROUCH BUCK Pétra**, *Médecine préventive*
- M. **DELPONT Mattias**, *Clinique Aviaire*
- Mme **POUJADE Agnès**, *Anatomie pathologique Vétérinaire*
- Mme **LAYSSOL-LAMOUR Catherine**, *Imagerie Médicale*

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Roger LEANDRI,

Professeur au Centre Hospitalier Universitaire de Toulouse,

Biologiste de la reproduction

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Hommages respectueux.

A Madame le Professeur Nicole HAGEN-PICARD,

Professeur de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Pathologie de la reproduction

Qui nous a fait l'honneur d'accepter et de diriger cette thèse,

Pour sa disponibilité et son aide précieuse.

Profonde gratitude.

A Madame le Professeur Sylvie CHASTANT

Professeur de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Pathologie de la reproduction,

Qui a aimablement accepté de faire partie de ce jury de thèse.

Sincères remerciements.

A Monsieur Serge LACAZE

Ingénieur responsable biotechnologies, AURIVA

Qui a initié et nous a soutenu dans la réalisation de cette étude,

Sincères remerciements

A Madame Giselle GAMARRA

Ingénieure responsable biotechnologies, AURIVA

Qui nous a soutenu dans la réalisation de cette étude,

Sincères remerciements

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	1
LISTE DES TABLEAUX	3
LISTE DES FIGURES.....	4
LISTE DES ABREVIATIONS	5
INTRODUCTION	7
PREMIERE PARTIE	9
I- L'OPU-FIV chez les bovins	11
1. Intérêts de la technique de production d'embryons <i>in vitro</i>	11
2. Activité de production d'embryons	12
3. Technique de production d'embryons <i>in vitro</i>	13
i. Récolte d'ovocytes ou OPU.....	13
ii. Évaluation de la qualité des ovocytes	14
iii. Maturation des ovocytes.....	15
iv. FIV.....	15
4. Développement embryonnaire <i>in vitro</i>	15
i. Évaluation de la qualité des embryons.....	16
ii. Conservation des embryons.....	17
II- Facteurs influençant la réussite de l'OPU-FIV	18
1. Facteurs liés à la donneuse	18
i. Race et type de production	18
ii. Rang de vêlage	19
iii. Stade physiologique	19
2. Facteurs liés à la technique d'OPU-FIV	20
i. Intervalle entre les sessions d'OPU	20
ii. Traitement super ovulatoire.....	20
iii. Semence	21
3. Facteurs liés à l'environnement	21
ii. Alimentation	21
iii. Stress.....	22
DEUXIEME PARTIE	23
I. Matériels et méthodes.....	25
1. Activité de transplantation embryonnaire dans le cadre d'AURIVA.....	25
2. Base de données	25
3. Analyse statistique.....	31
II. Résultats	32
1. Évolution temporelle de l'activité d'OPU-FIV	32
2. Type de semence.....	33

3.	Caractéristiques des donneuses d’ovocytes	34
i.	Nombre de collectes par donneuse	34
ii.	Races des donneuses	35
iii.	Effet de la gestation	35
4.	Effet du rang de vêlage, du type de production et du statut reproducteur sur la production d’embryons	38
<i>III.</i>	<i>Discussion</i>	<i>43</i>
1.	Méthodologie	43
2.	Statut reproducteur	43
3.	Type de production	44
4.	Rang de vêlage	45
	<i>CONCLUSION</i>	<i>47</i>
	<i>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</i>	<i>49</i>

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Nombre d'embryons produits et transférables 2020 par continent (Viana 2020)

Tableau 2 : classement de la qualité des COC récoltés par OPU, selon la classification préconisée par l'IETS

Tableau 3 : Critères de qualité des embryons produits *in vitro*, selon les critères définis par l'IETS

Tableau 4 : Répartition des 993 collectes et des 384 donneuses en fonction des différents facteurs étudiés : statut pathologique, type de production, statut physiologique, et du type de semence utilisée (S : sexée ; NS : non sexée)

Tableau 5 : Moyenne et écart-type et coefficient de variation du nombre d'OMF, d'embryons bons, et du taux de blastocystes produits par la vache DUF BONUS sur les 58 OPU-FIV

Tableau 6 : Répartition des 824 collectes et des 215 donneuses collectées au moins deux fois en fonction des caractéristiques des femelles (type de production, rang de lactation, statut physiologique et pathologie), et de la semence utilisée (NS : non sexée ; S sexée)

Tableau 7 : Évolution temporelle de 2012 à 2021 de l'activité d'OPU (nombre de collectes d'ovocytes) et des résultats en terme d'OMF et de production d'embryons.

Tableau 8 : Nombre d'OPU-FIV et de bons embryons et taux de blastocystes (moyenne \pm écart type) en fonction du type de semence

Tableau 9 : Répartition du nombre de collectes et de donneuses en fonction de la race et du type de production

Tableau 10 : Effet de la gestation sur le nombre d'ovocytes récoltés, le nombre d'OMF et de bons embryons/OPU et sur le taux de blastocyste, chez les femelles laitières fertiles. NS : non significatif

Tableau 11 : Effet de la gestation sur le nombre d'ovocytes récoltés, le nombre d'OMF et de bons embryons/OPU et sur le taux de blastocyste, chez les génisses laitières. NS : non significatif

Tableau 12 : Effet du type de production, du rang de vêlage et du statut reproducteur (groupe infertile : infertilité ou réponse faible à médiocre à la production d'embryons *in vivo*) sur le nombre d'ovocytes récoltés, le nombre d'OMF et de bons embryons/OPU et sur le taux de blastocyste. NS : non significatif

Tableau 13 : Répartition des femelles laitières et des OPU-FIV correspondantes en fonction de leur statut reproducteur, fertiles ou infertiles, avec les catégories d'infertilité, en fonction de la production d'embryons faible à médiocre ou d'antécédents pathologiques.

Tableau 14 : Effet du statut reproducteur sur le nombre d'ovocytes récoltés, le nombre d'OMF et de bons embryons/OPU et sur le taux de blastocyste chez les génisses laitières. NS : non significatif. Pour une même colonne, l'astérisque indique une différence significative avec le groupe fertile.

Tableau 15 : Effet du statut reproducteur sur le nombre d'ovocytes récoltés, le nombre d'OMF et de bons embryons/OPU et sur le taux de blastocyste chez les vaches laitières. NS : non significatif.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Nombre d'embryons bovins produits *in vivo* ou produits *in vitro* et nombre total sur la période 2001-2020 (Viana 2020)

Figure 2 : Différents protocoles de conservation des embryons : congélation lente, vitrification et vitrification ultrarapide (Guignot 2005)

Figure 3 : Nombre d'OMF et bons embryons pour les 58 OPU-FIV réalisés sur la vache DUF BONUS au cours de la période d'étude

Figure 4 : Taux de blastocystes pour les 58 OPU-FIV réalisées sur la vache DUF BONUS au cours de la période

Figure 5 : Répartition des donneuses en fonction du nombre de collectes

LISTE DES ABREVIATIONS

AMH : Hormone anti-Müllerienne

COC : Complexe Cumulus-Ovocyte

DIV : Développement *In Vitro*

FIV : Fécondation *In Vitro*

FSH : Follicle Stimulating Hormon ou Hormone folliculo-stimulante

IETS : International Embryo Transfer Society- Société internationale de transfert embryonnaire

IVD : *In Vivo* Derived- produit in vivo

IVP : *In Vitro* produced : produit in vitro

LH : Luteinising Hormone- Hormone lutéinisante

MIV : Maturation *In Vitro*

OMF : Ovocytes Maturés mis en Fécondation

OPU : Ovum Pick Up- ponction échoguidée d'ovocytes

SOF : Synthetic oviductal fluid- milieu synthétique reproduisant le liquide tubaire

INTRODUCTION

Dans les années 60, l'insémination artificielle a permis l'amélioration génétique des bovins laitiers (van Wagendonk-de Leeuw 2006). Les biotechnologies de l'embryon ont aujourd'hui une importance majeure dans le domaine de la reproduction bovine. La transplantation embryonnaire, qui comprend à la fois la production et la collecte d'embryons *in vivo* et la production d'embryons *in vitro*, avec le prélèvement d'ovocytes par ponction folliculaire et la fécondation et le développement embryonnaire *in vitro* sont des techniques qui ont révolutionné la sélection génétique par la voie femelle. Dans la filière bovine laitière, ces biotechnologies sont très utilisées par les unités de sélection, avec plus de 95% des taureaux en testage issus de transfert embryonnaire (J Jacques J. J. Colleau, Jean Paul J. P. Renard 1998).

La production d'embryons *in vitro* permet d'accélérer l'amélioration génétique du troupeau, en diminuant considérablement l'intervalle entre générations. En effet, une même femelle peut générer plusieurs descendants en une seule génération, jusqu'à 4 fois plus par unité de temps comparé au nombre de veaux produits après un protocole classique de production d'embryons *in vivo* (J Jacques J. J. Colleau, Jean Paul J. P. Renard 1998). Contrairement au schéma de sélection classique, cette technique permet d'évaluer de façon précoce la valeur génétique des femelles, le prélèvement d'ovocytes pouvant se réaliser chez des animaux impubères (van Wagendonk-de Leeuw 2006). Grâce à l'OPU-FIV, la sélection génétique devient également plus efficace, et donne la possibilité d'utiliser de la semence de plusieurs mâles lors de la fécondation *in vitro*, permettant ainsi d'améliorer la précision des index de sélection et de diminuer le taux de consanguinité à long terme. Enfin, l'OPU-FIV permet d'obtenir des descendants de femelles ne répondant pas aux protocoles de superovulation classique, élargissant de ce fait les possibilités en termes de production d'embryons. Tous ces avantages font que cette technique est de plus en plus utilisée dans le monde, en particulier en Amérique latine.

Toutefois, malgré un intérêt génétique majeur, l'OPU-FIV présente une certaine variabilité en termes d'embryons produits. Notre étude a pour objectif d'évaluer l'influence de différents facteurs, dont l'infertilité de certaines femelles, sur la production d'embryons par OPU-FIV chez les bovins en se basant sur la base de données de la station AURIVA comprenant l'intégralité des collectes depuis 2012. L'originalité de cette étude terrain réside dans le fait que très peu d'études se sont intéressées à l'impact du statut reproducteur des donneuses sur les résultats de l'OPU-FIV.

Dans une première partie, une synthèse bibliographique sur la technique de l'OPU-FIV chez les bovins et les facteurs influençant son rendement est présentée. La seconde partie est consacrée à l'étude rétrospective des facteurs influençant l'OPU-FIV à partir de la base de données de la station AURIVA de Denguin.

PREMIERE PARTIE

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I- L'OPU-FIV chez les bovins

1. Intérêts de la technique de production d'embryons *in vitro*

La technique de l'OPU-FIV s'est développée à la fin des années 1980, comme outil génétique performant. Elle vise à produire à embryons *in vitro*, à partir des ovocytes d'une vache de haute valeur génétique. Elle comprend quatre étapes :

- La collecte d'ovocytes par OPU (Ovum Pick Up) qui est la ponction folliculaire échoguidée
- La maturation *in vitro* des ovocytes (MIV)
- La fécondation *in vitro* (FIV)
- Le développement *in vitro* de l'embryon (DIV)

C'est à la fin des années 1990 que la technique commence à être utilisée à des fins commerciales, et depuis, son utilisation est en constante augmentation (Ferré et al. 2020).

Elle permet de multiplier la descendance de femelles de haute valeur génétique dans un laps de temps limité. En effet, la ponction folliculaire peut être réalisée à n'importe quel stade du cycle de la donneuse, jusqu'à deux fois par semaine sans provoquer d'effet néfaste sur la donneuse (van Wagtendonk-de Leeuw 2006).

L'OPU-FIV est réalisable sur toutes les vaches, du stade prépubère au stade adulte, ainsi que les vaches gravides, tant que les ovaires restent accessibles (durant les 3 premiers mois de gestation) ou présentant des pathologies utérines. Lors d'accident, elle peut même être collectée dans l'immédiat post-mortem.

Un autre avantage non négligeable est qu'il est possible, contrairement à la production d'embryons *in vivo*, d'utiliser la semence de plusieurs taureaux différents pour féconder les ovocytes d'une même collecte, ce qui permet de maximiser le gain génétique tout en minimisant la consanguinité.

L'accès aux tous premiers stades embryonnaires permet de réaliser des biopsies d'embryon pour le sexer (Galli et al. 2001) ou évaluer sa valeur génétique, sans altérer le taux de gestation (de Sousa et al. 2017).

L'OPU-FIV, en comparaison avec la production d'embryons *in vivo*, ne requiert pas obligatoirement de traitement super ovulatoire, et permet de produire plus d'embryons et conduit à un meilleur taux de gestation (Pontes et al. 2009).

Cependant, cette technique reste plus onéreuse, le coût de production par embryon est 1,5 fois plus élevé comparativement à celui d'un embryon produit *in vivo* (Pontes et al. 2009)) et nécessite plus de matériel, d'installations et de technicité.

2. Activité de production d'embryons

Depuis 2016, le nombre d'embryon produits *in vitro*, à l'échelle mondiale est supérieur au nombre d'embryons produits *in vivo* (Figure 1). Ils représentaient 68,7% des embryons produits dans le monde en 2016, et 76,2% en 2020 (Viana 2018) (Viana 2020). Ce nombre est en constante augmentation depuis 2012. Ainsi, en 2020, malgré la diminution des activités liée à la pandémie, la production d'embryons bovins *in vitro* a encore augmenté par rapport aux années précédentes et atteint plus d'un million, contre 361 728 embryons produits *in vivo* (25 %) (Tableau 1).

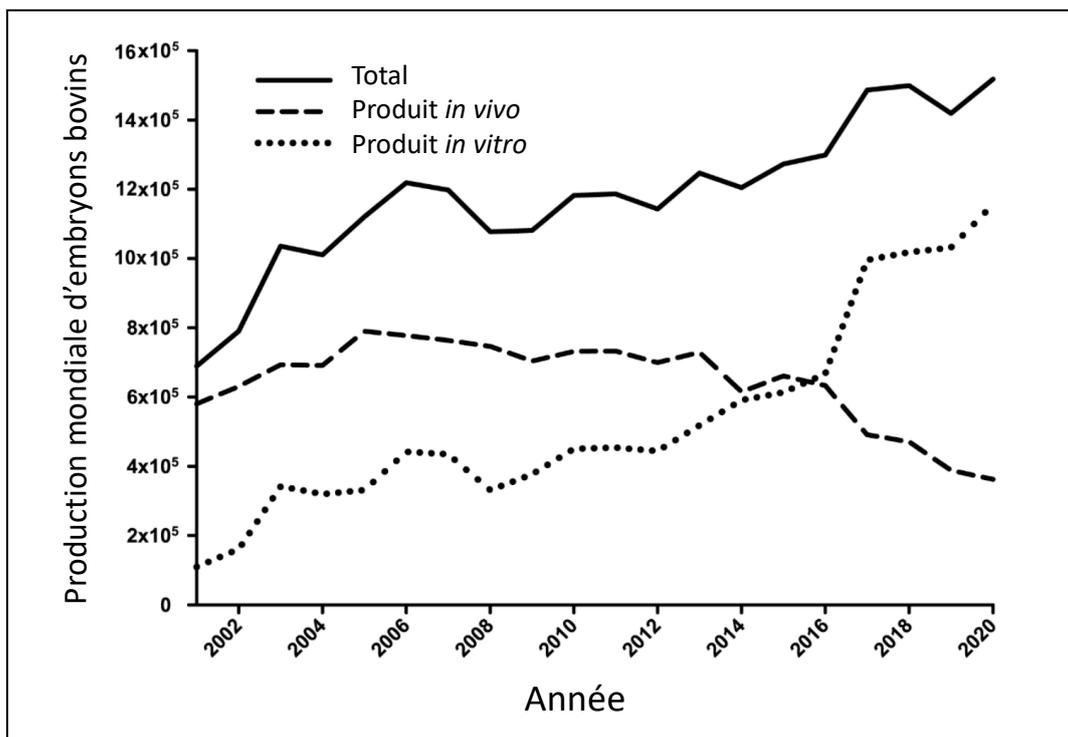


Figure 1 : Nombre d'embryons bovins produits *in vivo* ou produits *in vitro* et nombre total sur la période 2001-2020 (Viana 2020)

En Amérique du Nord et en Amérique latine, la production d'embryons *in vitro* est bien plus importante qu'en Europe. En 2020, 94% des embryons sont produits *in vitro* en Amérique du Sud contrairement à 27,3% en Europe (Tableau 1).

Continent	<i>In vivo</i>	<i>In vitro</i>
Afrique	2763	4 977
Asie	0	0
Europe	126 491	47 470
Amérique du Nord	196 704	578 995
Océanie	4 211	14 345
Amérique du Sud	31 559	500 397
Total 2020	361 728	1 156 422
Total 2019	387 769	1 031 567

Tableau 1 : Nombre d'embryons produits et transférables 2020 par continent (Viana 2020)

Le nombre de biopsies pour génotyper ou sexer les embryons a augmenté en 2020 pour les embryons produits *in vitro*, alors qu'il a diminué pour ceux produits *in vivo*.

3. Technique de production d'embryons *in vitro*

i. Récolte d'ovocytes ou OPU

L'Ovum-Pick-Up est une technique de récolte d'ovocytes par ponction échoguidée des follicules par voie transvaginale. Elle peut être réalisée jusqu'à deux fois par semaine sans effet néfaste pour la donneuse (van Wagtendonk-de Leeuw 2006).

La donneuse est placée dans un travail, une anesthésie épidurale est alors réalisée pour limiter les contractions péristaltiques. Une aiguille positionnée dans une gaine fixée à la sonde échographique est introduite dans le vagin. L'ovaire est maintenu par voie transrectale et positionné contre la paroi vaginale en regard de l'aiguille de ponction. L'opérateur ponctionne alors tous les follicules de 2 à 8 mm de diamètre, un à un et aspire leur contenu. L'aspiration du liquide folliculaire permet de récupérer les complexes cellules du cumulus-ovocyte (COC), qui sont recueillis dans un milieu spécifique contenant du PBS (Tampon Phosphate contenant du chlorure de sodium) et de l'héparine.

Il est possible de réaliser un traitement de superovulation avec des hormones gonadotropes, FSH et LH, quelques jours avant la récolte d'ovocytes. Ces hormones vont permettre de stimuler la croissance folliculaire et d'empêcher l'atrésie des follicules. Ce traitement permet

d'augmenter le nombre de complexes cumulus ovocyte (de l'ordre de 10 à 15 ovocytes par session d'OPU) et de blastocystes produits par session d'OPU (Bó, Mapletoft 2020), (Seneda et al. 2020).

ii. Évaluation de la qualité des ovocytes

Les complexes cumulus ovocytes (COC) sont alors triés et classés en 4 catégories après examen au microscope selon la classification préconisée par l'IETS (International Embryo Transfer Society, tableau 2).

Les catégories sont numérotées de 1 à 4, 1 représentant les COC de meilleure qualité, les 4 ceux de qualité médiocre. Le tableau ci-dessous décrit les caractéristiques des COCs pour chaque catégorie.

	Aspect du cumulus oophorus	Aspect du cytoplasme de l'ovocyte
Q1	Présent entièrement Couches de cellules compactes Sphérique ou irrégulier	Homogène et couleur uniforme Compact
Q2	Ensemble des couches non présentes Nombre de couches ≥ 5	Zones de pigmentations différentes possibles
Q3	Ensemble des couches non présentes Nombre de couches ≥ 3 Cellules bien compactes Peut être absent d'une petite partie de la périphérie de l'ovocyte	Zones plus ou moins grandes de pigmentations différentes possibles
Q4	En grande partie ou totalement absent Si présent dans sa totalité, cellules dissociées Nombre de couches ≤ 3	Zones de pigmentations fortement différentes possibles

Tableau 2 : classement de la qualité des COC récoltés par OPU, selon la classification préconisée par l'IETS

iii. Maturation des ovocytes

Les complexes de bonne qualité sont lavés et mis à maturation dans un milieu de culture spécifique (TCM199, Fetal Bovine Serum, FSH/LH, estradiol, EGF) pendant 20 à 24 heures (Galli et al. 2001) (Ferré et al. 2020), à 38,5°C sous une atmosphère enrichie avec 5% de CO₂. L'évaluation de la maturation *in vitro* est déterminée par le degré d'expansion des cellules du cumulus et l'expulsion du premier globule polaire. La maturation nucléaire et cytoplasmique est difficile à évaluer en raison de la richesse du cytoplasme en inclusions lipidiques.

iv. FIV

Les ovocytes maturés sont mis en contact avec les spermatozoïdes pendant 18 à 24 heures.

Au préalable, la semence est centrifugée dans un gradient de densité afin d'éliminer le milieu de congélation, le liquide séminal, les spermatozoïdes morts, et de sélectionner les spermatozoïdes mobiles.

Les spermatozoïdes sont ensuite capacités dans un milieu contenant Tyrode, albumine, lactate de sodium et pyruvate de sodium, et complété avec de l'héparine. Les conditions utilisées pour la FIV sont les mêmes que pour la MIV c'est-à-dire à 38,5°C sous atmosphère enrichie à 5% de CO₂ pour une durée de 18 à 24h. Le taux de fécondation est mesuré par l'expulsion du 1^{er} globule polaire ou par le taux de clivage 48h post-insémination. Chez la vache, le taux de fécondation moyen atteint 70 à 85%.

4. Développement embryonnaire *in vitro*

Il faut ensuite au zygote 7 jours pour atteindre le stade blastocyste. Le rendement est relativement faible, de 20 à 40%. *In vitro*, l'étape limitante du développement embryonnaire chez la vache est le blocage au stade 8-16 cellules. Ce blocage est expliqué par la mauvaise synchronisation entre la chute des ARNm d'origine maternelle (contenus dans le cytoplasme de l'ovocyte) et l'activation de la transcription d'ARNm à partir du génome de l'embryon (Martal 2002).

Ce développement embryonnaire peut être réalisé dans différentes conditions :

- Des milieux définis contenant des sécrétions de cellules tubaires (SOF : Synthetic oviductal fluid) ou dont la composition est adaptée au stade de développement de l'embryon.
- La co-culture sur des cellules somatiques (foie et rein).

i. Évaluation de la qualité des embryons

La qualité des embryons est évaluée 7 jours après la fécondation. Les embryons sont tout d'abord classés en fonction de leur stade de développement selon les critères de l'IETS (Mapletoft 2013). 9 catégories sont décrites, allant de 1 pour ovocyte non fécondé, ou embryon à 1 cellule, à 9 pour le blastocyste éclos expansé. En ce qui concerne leur qualité, une classification en 4 catégories est utilisée (Tableau 3).

Code	Critères
1	Excellente ou bonne qualité. Embryon idéal, sphérique et symétrique La forme, taille, couleur, densité des cellules sont uniformes La zone pellucide est lisse et sans aspérités Au moins 85% de la masse embryonnaire est intacte
2	Qualité acceptable. La forme, taille, couleur, densité des cellules présentent des anomalies Au moins 50% de la masse embryonnaire est intacte
3	Mauvaise qualité. La forme, taille, couleur, densité des cellules présentent des irrégularités majeures Au moins 25% de la masse embryonnaire est intacte
4	Embryons ou ovocytes morts ou dégénérés, inutilisables

Tableau 3 : Critères de qualité des embryons produits *in vitro* selon les critères définis par l'IETS

Le taux de gestation est élevé, de 50 % environ, pour les embryons d'excellente et de bonne qualité, en revanche le taux de gestation est significativement plus faible pour des embryons de qualité acceptable ou médiocre (LindnerI, Wright 1983). Les embryons classés 4 sont inutilisables et doivent être éliminés.

Seuls les embryons de qualité 1 sont utilisables pour le commerce international et sont de qualité suffisante pour supporter la congélation. Les embryons de qualité 2 sont beaucoup moins résistants à la congélation, ils sont préférentiellement utilisés pour les transferts en frais. Les embryons de qualité 3 ne survivent pas à la congélation (Mapletoft 2013).

Il est important de noter que cette évaluation repose sur des critères morphologiques, elle reste ainsi subjective et fonction de l'expérience de l'opérateur. D'autres techniques d'évaluation sont en cours de développement, comme la microscopie électronique à balayage ou à transmission, ou encore l'étude des profils de microARN, mais leur prix est élevé et les résultats ne sont pas aussi fiables que l'évaluation par observation visuelle (Rocha et al. 2016).

ii. Conservation des embryons

Les embryons peuvent ensuite être directement transférés en frais, ou bien congelés afin de les conserver. Pour cela, il existe deux techniques majoritairement utilisées : la vitrification ou la congélation lente.

Pour limiter la formation de cristaux de glace intra cellulaire qui altèrent les structures cellulaires, des cryoprotecteurs comme le glycérol, le DMSO, l'éthylène glycol ou le propane-diol, sont utilisés.

La technique classiquement utilisée en station est la congélation conventionnelle. Les embryons conditionnés en paillette sont tout d'abord lentement amenés à -7°C , un palier de 5 minutes est alors respecté, puis la cristallisation du milieu extracellulaire est induite avant de diminuer la température entre -25°C et -30°C afin de limiter la déshydratation des embryons. La paillette est ensuite plongée dans l'azote liquide à -196°C (Guignot 2005).

La vitrification consiste en une diminution de température à très grande vitesse pour limiter la formation de cristaux et la sortie d'eau des cellules.

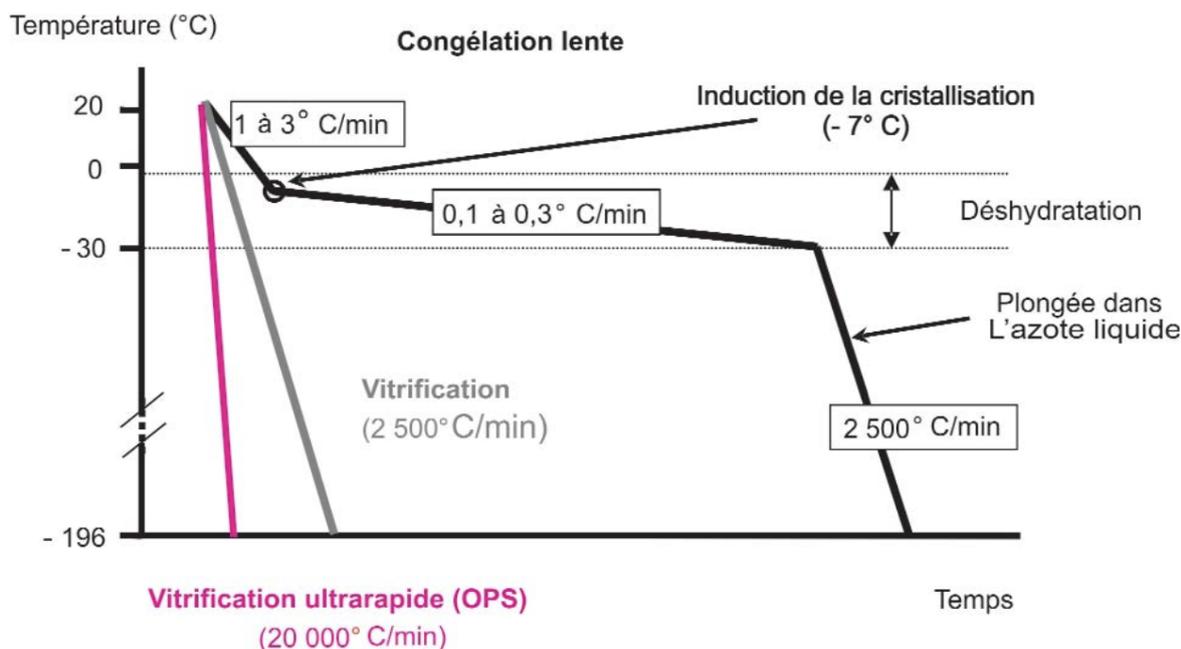


Figure 2 : Différents protocoles de conservation des embryons : congélation lente, vitrification et vitrification ultrarapide (Guignot 2005)

II- Facteurs influençant la réussite de l'OPU-FIV

Différents indicateurs permettent d'évaluer la réussite de la technique d'OPU-FIV, comme la qualité et la quantité d'ovocytes récoltés par OPU, ainsi que le nombre d'OMF (ovocytes maturés et fécondables) (Baruselli et al. 2016), le nombre d'embryons transférables produits après FIV, et le taux de blastocystes, qui correspond au nombre d'embryons produits divisé par le nombre d'OMF.

Différents facteurs, extrinsèques et intrinsèques (donneuse) peuvent influencer la réussite de cette technique, dont certains peuvent être maîtrisés.

1. Facteurs liés à la donneuse

i. Race et type de production

La race et le type de production ont un effet sur la production d'embryons *in vitro* (Mikkola, Hasler, Taponen 2019). En effet, les vaches allaitantes ont une production d'embryons supérieure à celle des vaches laitières. De plus, au sein même des types de production, une différence de performance est observée en fonction des races. Chez les femelles allaitantes, les

femelles de races Beef Master, Simbrah, Red Brangus et Simmental, produisent en moyenne plus d'embryons (>6,5 embryons viables par collecte en moyenne) que les Chianina, Salers, Santa Gertrudis, Limousine, Brahman et Angus (<5 embryons viables par collecte en moyenne). Chez les femelles laitières, les Brunnes des Alpes sont plus performantes que les Holstein (Mikkola, Hasler, Taponen 2019). Néanmoins, peu d'études évaluent l'origine de ces différences de production.

ii. Rang de vêlage

Les génisses produisent en moyenne un embryon transférable de moins que les primipares et multipares (6,4 contre 7,3 par vache) (Mikkola, Hasler, Taponen 2019). Le nombre et le pourcentage d'embryons transférables est également plus faible chez les donneuses de plus de 10 ans (respectivement 6,9 et 56% pour les individus de 3 à 9 ans et 1,9 et 32% chez les individus de 10 à 22 ans). En-dehors de ces extrêmes, l'âge n'a pas d'effet significatif sur le nombre d'embryons transférables (Mikkola, Hasler, Taponen 2019).

iii. Stade physiologique

Le nombre d'ovocytes récoltés par session d'OPU ainsi que le taux de blastocystes sont supérieurs chez les vaches gravides comparativement aux femelles impubères ou non gravides (Baruselli et al. 2016).

De même, le taux de blastocystes est plus élevé chez les vaches tarées que chez les vaches en lactation. Cela pourrait s'expliquer par le fait que les vaches en lactation ont une balance énergétique négative, ce qui conduit à une modification de facteurs métaboliques (diminution de l'insulinémie, de la glycémie et des IGF1 et augmentation des corps cétoniques et du B-hydroxybutyrate), qui régulent la folliculogénèse et influencent la qualité de l'ovocyte et son aptitude à se développer jusqu'au stade blastocyste (Baruselli et al. 2016).

iv. Concentration en AMH

L'AMH est une hormone sécrétée par les cellules de la granulosa des follicules matures et qui inhibe le recrutement des follicules primaires en diminuant l'effet de la FSH sur les follicules. Une concentration faible en AMH conduit à un recrutement folliculaire plus important et à une

diminution plus précoce du pool de follicules. Une concentration importante en AMH permet ainsi de conserver un pool important de folliculaires primaires (Tsepelidis et al. 2007).

De plus, une corrélation positive entre la concentration en AMH et le nombre de follicules antraux existe chez la vache. L'AMH étant produite uniquement par les follicules dominants, elle constitue un marqueur de choix pour évaluer l'activité ovarienne (Baldrighi et al. 2014). Ainsi, des vaches dont la concentration circulante en AMH est élevée répondent mieux aux traitements de superovulation. Il en résulte une augmentation du nombre d'ovocytes récoltés (Guerreiro et al. 2014, Baruselli et al. 2015). Ainsi, une concentration en AMH importante serait un bon indicateur pour sélectionner les meilleures donneuses dans le cadre de l'OPU-FIV.

La concentration en AMH circulante et la fertilité sont aussi corrélées. En effet, les vaches avec un taux circulant en AMH faible ont plus d'avortement entre 30 et 65 jours de gestation (Ribeiro et al. 2014).

Les concentrations en AMH sont dépendantes du type de production et de la race : les femelles allaitantes possèdent des concentrations sanguines d'AMH plus élevées que les laitières (Mikkola, Hasler, Taponen 2019), et il est plus important chez les vaches Jersey que chez les croisés ou bien les Holstein (Ribeiro et al. 2014).

2. Facteurs liés à la technique d'OPU-FIV

i. Intervalle entre les sessions d'OPU

Le délai entre deux sessions d'OPU influence la qualité et la quantité des ovocytes récoltés (Merton et al. 2003). Plus le délai entre deux sessions s'allonge, plus le nombre d'ovocytes est important. A l'inverse, plus le délai entre deux sessions est court, meilleure est la qualité des ovocytes récoltés.

ii. Traitement super ovulatoire

Bien que le traitement de superovulation ne soit pas indispensable pour réaliser une OPU, un traitement à la FSH augmente le nombre de COCs (7,8 sans traitement à base de FSH contre 13,2 par session d'OPU) récoltés et le nombre d'embryons produits par session (1,5 sans traitement à base de FSH contre 3,3 par session) (Merton et al. 2003). De plus, le taux de blastocystes est plus élevé si un délai de 54 heures entre la dernière stimulation hormonale et la session d'OPU est respecté (Seneda et al. 2020).

iii. Semence

Chez les animaux ayant subi un protocole de superovulation, le nombre d'embryons produits est généralement plus faible si la FIV est réalisée avec de la semence sexée comparativement à la semence conventionnelle (Mikkola, Hasler, Taponen 2019). Le constat est le même concernant le taux de gestation après transfert d'embryons produits *in vitro*, qui est moins important en utilisant de la semence sexée (Wilson et al. 2005). Néanmoins, certaines études montrent qu'il n'y a pas différence significative concernant le pourcentage d'embryons au stade blastocyste, que ce soit en semence sexée ou non (de Oliveira Bezerra et al. 2019).

La qualité de la semence utilisée lors de la fécondation a également un effet significatif sur le taux de fécondation mais aussi sur la qualité des embryons produits. En effet, le pourcentage de bons embryons était de 61% pour une semence d'excellente qualité, de 56% avec une semence de bonne qualité, 54% pour une semence de qualité acceptable et enfin 34% avec une semence de mauvaise qualité (Mikkola, Hasler, Taponen 2019).

3. Facteurs liés à l'environnement

i. Effet du climat

En climat tempéré, les changements de saison n'ont pas d'effet sur la production d'embryons (Mikkola, Hasler, Taponen 2019) (Rust et al. 2009). En revanche, en climat tropical comme au Brésil, le nombre d'embryons transférables et congelables est plus important durant la période la plus froide, que ce soit chez les vaches ou les génisses (Mikkola, Hasler, Taponen 2019).

Une diminution de la production d'embryons a été observé lorsque la température extérieure se situe entre 32 et 40°C chez des vaches laitières (Mikkola, Hasler, Taponen 2019).

ii. Alimentation

Un excès d'énergie, tout aussi bien qu'un défaut d'apport, ont des conséquences néfastes sur la production embryonnaire (Mikkola, Hasler, Taponen 2019). En particulier, chez les vaches laitières, la balance d'énergie négative en post-partum diminue la production d'embryons. En effet, la lipomobilisation importante est à l'origine des concentrations élevées de B-hydroxybutyrate et d'acides gras non estérifiés, dans le sang et le liquide folliculaire, ce qui conduit à une altération de la qualité de l'ovocyte et de sa maturation *in vitro* (Leroy et al. 2008).

De même, les embryons de vaches en excès nutritionnel présentent des taux de gestation plus faibles que les embryons produits à partir de vaches nourries correctement. En effet, une ration trop énergétique, conduit à une augmentation de la glycémie et de l'insulinémie, qui exercent un effet néfaste sur la maturation de l'ovocyte ainsi que sur le développement embryonnaire précoce.

Une alimentation riche en protéines solubles conduit à une augmentation de l'urémie et de l'ammoniac sanguin, ce qui altère la production d'embryons *in vitro*, notamment lors de transition mal maîtrisée. Toutefois, certaines études ont montré que l'urémie et l'ammoniac sanguin n'avaient aucun effet sur la production d'embryons (Mikkola, Hasler, Taponen 2019).

iii. Stress

Le stress, induit une élévation de la cortisolémie, et peut altérer la fonction de reproduction. Le stress en période périovulatoire peut modifier le pic de LH, et ainsi inhiber l'ovulation (Mikkola, Hasler, Taponen 2019). Ainsi, le nombre d'embryons de bonne qualité est plus faible chez les vaches présentant une cortisolémie élevée comparativement à des vaches non stressées.

DEUXIEME PARTIE

ETUDE RETROSPECTIVE DES FACTEURS DE VARIATION DE L'OPU-
FIV

I. Matériels et méthodes

1. Activité de transplantation embryonnaire dans le cadre d'AURIVA

La station de donneuses de Denguin (64) fait partie d'un réseau de 6 sites en France appartenant au groupement AURIVA. En plus de la station de donneuses, le site est équipé d'un laboratoire d'OPU-FIV. La station réalise environ 1000 collectes par an (dont 150 en OPU), ce qui représente environ 5000 embryons, dont 800 produits par OPU-FIV (données AURIVA, 2020). La station participe aux programmes de sélection INRA 95, Prim'Holstein, Blonde d'Aquitaine, Limousin et Aubrac, ainsi qu'aux programmes sans corne Blond et Aubrac.

Les donneuses d'embryons ont des origines variées, elles peuvent provenir d'élevages situés en France, en Suisse et en Espagne. Généralement, les donneuses intégrées dans des programmes de sélection sont mises en pension à l'année à la station. Pour des collectes plus ponctuelles, les vaches peuvent être collectées en élevage ou bien être hébergées quelques jours à la station en fonction de la distance entre l'élevage et le laboratoire.

Dans notre étude, sur la période de 2012 à 2021, seuls 2 opérateurs expérimentés ont réalisé les OPU-FIV, selon des procédures similaires. C'est la raison pour laquelle l'effet de ce facteur n'a pas été pris en compte a priori dans cette étude.

2. Base de données

Notre base de données initiale regroupe l'ensemble des collectes d'ovocytes réalisées entre le 18/01/2012 et le 27/07/2021 inclus, ce qui représente un total de 993 collectes.

La base de données regroupe des informations sur la collecte, la donneuse et les résultats de l'OPU-FIV :

- Informations sur la collecte : numéro de collecte et date de collecte.
- Informations sur la donneuse : nom, numéro de travail, race, type de production (laitière/allaitante), rang de vêlage (génisse ou vache), stade physiologique (vide ou grévise), statut pathologique (fertile ou infertile avec le type d'infertilité) et le nombre de collectes.
- Informations sur les résultats de l'OPU-FIV : nombre d'ovocytes collectés, qualité des ovocytes, nombre d'ovocytes maturés fécondés (OMF), type de semence utilisée (taureau et sexée/non sexée), nombre de d'embryons produits et taux de blastocystes.

Les variables d'intérêt étudiées sont les suivantes :

- OMF : le nombre d'ovocytes maturés mis en fécondation correspond au nombre d'ovocytes collectés jugés de qualité suffisante par le technicien de laboratoire pour la fécondation. Il représente ainsi un marqueur de réussite de la collecte d'ovocytes par OPU.
- Embryons bons correspond au nombre d'embryons dont la qualité est suffisante pour subir une congélation.
- Taux de blastocystes : il est obtenu en divisant le nombre de bons embryons par le nombre d'ovocytes maturés. C'est un marqueur de l'aptitude de l'ovocyte fécondé à assurer un développement embryonnaire.

Le tableau 4 ci-dessous présente l'ensemble des collectes étudiées depuis 2012, ainsi que le nombre de donneuses correspondant en fonction des différentes variables : statut pathologique (fertile/infertile), type de production (laitier/allaitant), rang de vêlage (génisse/vache), stade physiologique (vide ou gravide de moins de 3 mois), et type de semence (sexée/non sexée).

L'analyse de cette base de données montre un fort déséquilibre dans la répartition des femelles dans les différents groupes. En effet, certaines catégories, comme les génisses allaitantes gravides infertiles ne sont pas représentées. A l'inverse, le groupe vache laitière vide infertile en semence sexée est bien représenté avec 52 donneuses.

					Nombre de collectes	Nombre de donneuses
Fertile 299	Laitière 251	Génisse 127	Gravide 73	NS	53	38
				S	20	14
			Vide 54	NS	52	32
				S	2	1
		Vache 124	Gravide 44	NS	14	5
				S	30	20
	Vide 80	NS	6	5		
		S	74	44		
	Allaitante 48	Génisse 23	Gravide 4	NS	3	3
				S	1	1
			Vide 19	NS	19	9
				S	0	0
		Vache 25	Gravide 5	NS	4	3
				S	1	1
Vide 20			NS	16	6	
			S	4	4	
Infertile 694	Laitière 468	Génisse 80	Gravide 33	NS	26	18
				S	7	3
			Vide 47	NS	32	21
				S	15	6
		Vache 388	Gravide 4	NS	1	1
				S	3	2
	Vide 384		NS	107	32	
			S	277	52	
	Allaitante 226	Génisse 82	Gravide 0	NS	0	0
				S	0	0
			Vide 82	NS	81	35
				S	1	1
		Vache 144	Gravide 2	NS	2	1
				S	0	0
Vide 142			NS	142	26	
			S	0	0	
Total				993	384	

Tableau 4 : Répartition des 993 collectes et des 384 donneuses en fonction des différents facteurs étudiés : statut pathologique, type de production, statut physiologique, et du type de semence utilisée (S : sexée ; NS : non sexée)

	OMF	Embryons bons	Taux de blastocystes (%)
Moyenne	6.43 ± 3.19	5,07 ± 2,88	79,4 ± 21,9
Coefficient de variation (%)	49,5	56,9	27,6

Tableau 5 : Moyenne et écart-type et coefficient de variation du nombre d'OMF, d'embryons bons, et du taux de blastocystes produits par la vache DUF BONUS sur les 58 OPU-FIV

Le tableau 5 met en évidence une très grande variabilité intra individuelle de la production d'OMF (49,5%) et de bons embryons (56,9%), et du taux de blastocystes (27,6%).

Dans notre base de données, pour prendre en compte cette variabilité individuelle, seules les 215 vaches ayant été collectées plusieurs fois ont été incluses dans notre étude. Le tableau 6 présente la répartition des 215 vaches ayant été collectées au moins deux fois et des 824 collectes en fonction des caractéristiques des femelles (type de production, rang de lactation, statut physiologique et pathologique), et de la semence utilisée.

					Nombre de collectes	Nombre de donneuses
Fertile 184	Laitière 152	Génisse 75	Gravide 38	NS	28	13
				S	10	4
		Vache 77	Gravide 28	NS	35	15
				S	2	1
			Vide 48	NS	11	2
				S	17	7
	Allaitante 32	Génisse 17	Gravide 1	NS	0	0
				S	1	1
			Vide 16	NS	16	6
				S	0	0
		Vache 15	Gravide 2	NS	2	1
				S	0	0
			Vide 13	NS	13	3
				S	0	0
Infertile 640	Laitière 434	Génisse 60	Gravide 22	NS	17	9
				S	5	1
			Vide 38	NS	25	14
				S	13	4
		Vache 374	Gravide 2	NS	0	0
				S	2	1
	Vide 372		NS	104	29	
			S	268	43	
	Allaitante 206	Génisse 66	Gravide 0	NS	0	0
				S	0	0
			Vide 66	NS	66	20
				S	0	0
		Vache 140	Gravide 2	NS	2	1
				S	0	0
Vide 138			NS	138	22	
			S	0	0	
Total					824	215

Tableau 6 : Répartition des 824 collectes et des 215 donneuses collectées au moins deux fois en fonction des caractéristiques des femelles (type de production, rang de lactation, statut physiologique et pathologie), et de la semence utilisée (NS : non sexée ; S sexée)

3. Analyse statistique

L'analyse descriptive des données a été réalisée avec le logiciel Microsoft Excel© (Version 16,64, 2022). Les tests statistiques ont été effectués sur le logiciel SYSTAT12 © (version 6, Inc, Evanstin,IL). Pour l'ensemble des tests statistiques utilisés, le seuil de signification a été fixé à $p = 0,05$.

Compte tenu du plan expérimental déséquilibré et de la distribution hétérogène, nous avons dans un premier temps évalué l'effet du type de semence (sexée/non sexée) sur la réponse à l'OPU-FIV (taux de blastocystes et nombre de bons embryons) sur des sous-groupes d'animaux (vaches laitières vides pour l'effet du type de semence et génisses laitières ou femelles laitières fertiles pour l'effet de la gestation). Une analyse de variance à deux facteurs a été réalisée avec le modèle suivant :

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha*\beta)_{ij} + F \text{ niché dans } (\alpha*\beta*\gamma)_{ijk} + \varepsilon_{ijk}$$

Pour l'effet de la semence sur les vaches vides : Y_{ij} représente le facteur considéré, μ est la moyenne générale, α_i l'effet de la semence (sexée/non sexée), β_j l'effet du statut pathologique, l'interaction double, le facteur aléatoire femelle F niché dans l'interaction double et ε la valeur résiduelle.

Ce premier modèle a indiqué l'absence d'effet du type de semence sur cette sous-population. Par extrapolation, pour l'ensemble des femelles, ce facteur n'a pas été pris en compte.

Dans un second temps, nous avons évalué l'effet du statut physiologique sur les génisses laitières, selon une analyse de variance à deux facteurs : Y_{ij} représente le facteur considéré (OMF, taux de blastocystes et nombre de bons embryons), μ est la moyenne générale, α_i l'effet du statut physiologique (vide/gravide), β_j l'effet du rang de lactation (Génisse/vache), l'interaction double, le facteur aléatoire femelle F niché dans l'interaction double et ε la valeur résiduelle.

En complément, une analyse de variance a deux facteurs a été réalisée sur la sous-population de génisses laitières, avec α_i l'effet du statut physiologique (vide/gravide), β_j l'effet du statut pathologique (fertile/infertile). De la même façon, l'analyse de variance a montré l'absence d'effet de la gestation sur le nombre d'OMF, le taux de blastocystes et le nombre de bons embryons, sur ces deux sous-populations. Par extrapolation aux autres groupes de femelles, ce facteur physiologique n'a pas été pris en compte.

Une analyse de variance (ANOVA) a été réalisée pour évaluer les effets du type de production (laitier/allaitant), du rang de vêlage (génisse/vache) et du statut pathologique (Fertiles/infertiles), ainsi que leurs interactions doubles et triple et le facteur aléatoire femelle F niché dans l'interaction triple, sur le nombre d'ovocytes mis en fécondation et sur le développement embryonnaire, selon le modèle suivant :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha*\beta)_{ij} + (\alpha*\gamma)_{ik} + (\beta*\gamma)_{jk} + (\alpha*\beta*\gamma)_{ijk} + F \text{ niché dans } (\alpha*\beta*\gamma)_{ijk} + \varepsilon_{ijk}$$

Y_{ij} représente le facteur considéré, μ est la moyenne générale, α_i l'effet du type de production (laitier/allaitant), β_j l'effet du rang de vêlage (génisse, vache), γ_k , l'effet du statut pathologique, les 3 interactions doubles, l'interaction triple entre les 3 facteurs, le facteur aléatoire femelle F niché dans l'interaction triple et ε la valeur résiduelle.

II. Résultats

1. Évolution temporelle de l'activité d'OPU-FIV

De janvier 2012 à juillet 2021, l'activité de production d'embryons *in vitro* a été multipliée par 3 : le nombre de collectes d'ovocytes (total de 824) a augmenté parallèlement au nombre de donneuses (total de 215).

Le nombre d'ovocytes collectés durant cette période s'élève à 10 719, dont 9525 OMF, qui ont permis le développement de 4930 bons embryons. Le taux de blastocystes moyen est de 53,7%. En moyenne, le nombre d'OMF/OPU est de 11,6 et le nombre de bons embryons produits par OPU est de 6,0 sur la période étudiée (Tableau 7).

Année	Nombre de collectes (donneuses)	Nombre total d'OMF	Moyenne d'OMF par OPU	Nombre total de bons embryons	Moyenne de bons embryons par OPU	Moyenne des taux de blastocystes en %
2012	39 (14)	445	10,7	207	4,9	47,5
2013	37 (20)	557	12,8	341	7,5	60,7
2014	53 (23)	714	10,3	378	5,5	52,5
2015	74 (29)	961	11,0	532	6,1	58,1
2016	77 (31)	1178	12,1	606	6,4	55,5
2017	115 (35)	1939	14,0	934	7,0	52,4
2018	82 (32)	946	8,8	463	4,5	54,4
2019	95 (42)	1562	12,6	778	6,4	55,9
2020	130 (38)	1661	11,4	875	6,0	53,2
2021	123 (33)	1614	10,9	784	5,3	49,6
Ensemble de la période	824 (297)	11597	11,6	5898	6,0	53,7

Tableau 7 : Évolution temporelle de 2012 à 2021 de l'activité d'OPU (nombre de collectes d'ovocytes) et du nombre moyen annuel d'OMF et d'embryons par OPU.

2. Type de semence

Sur la période étudiée, 462 collectes ont été réalisées avec de la semence sexée, et 362 avec de la semence non sexée, représentant une production de bons embryons, respectivement de 2006 et 2916. Sur les vaches laitières vides (pour lesquelles les effectifs sont importants, 371 au total), le nombre moyen de bons embryons produits par OPU est de $7,03 \pm 5,02$ avec la semence non sexée contre $5,50 \pm 4,36$ avec la semence sexée. Le taux de blastocystes moyen est similaire, de $59,8 \pm 22\%$ avec la semence non sexée et de $58 \pm 25\%$ avec la semence sexée (Tableau 8).

	Nombre d'OPU-FIV	Bons embryons par OPU	Taux de blastocyste (%)
Non sexée	104	7,03 ± 5,02	59,8 ± 22,0
Sexée	268	5,50 ± 4,36	58,0 ± 25,4

Tableau 8 : Nombre d'OPU-FIV et de bons embryons et taux de blastocystes (moyenne ± écart type) en fonction du type de semence

Sur cette sous population, représentant un total de 371 collectes, le type de semence n'a pas eu d'effet significatif sur le taux de blastocystes ($p=0,09$).

3. Caractéristiques des donneuses d'ovocytes

i. Nombre de collectes par donneuse

Le nombre de collectes par donneuse varie de 2 à 58 (Figure 5). En moyenne, chaque donneuse a été collectée 3,25 fois. 42 % des 180 donneuses ont été collectées 2 fois et seulement 19 % des donneuses ont été collectées plus de 5 fois.

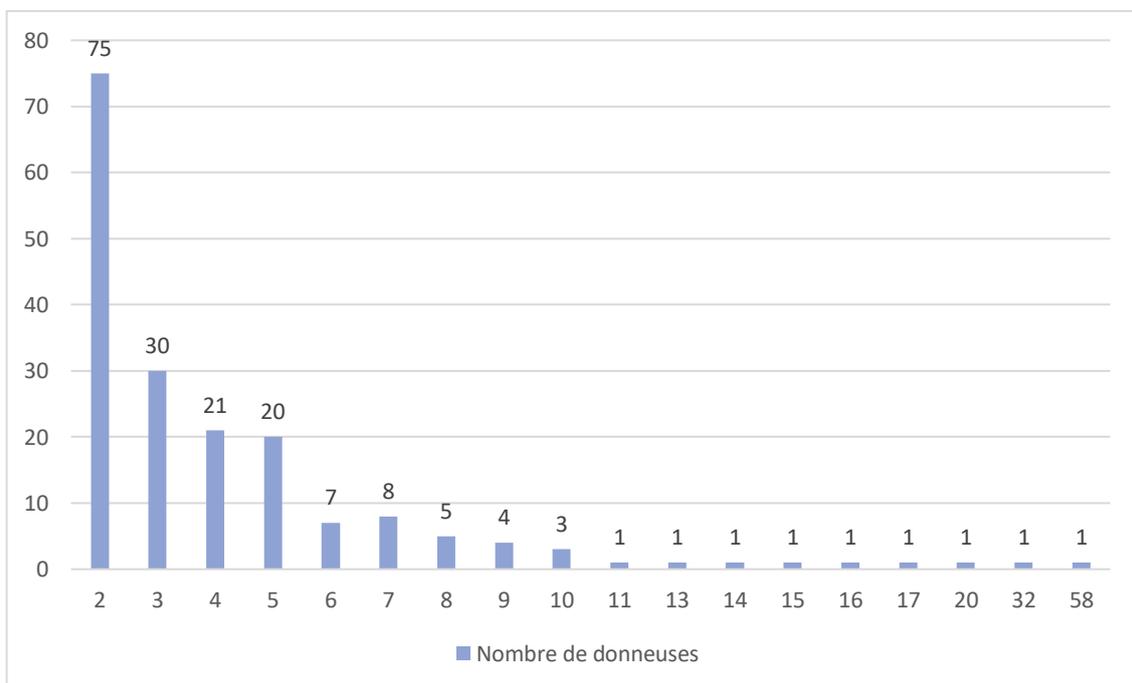


Figure 5 : Répartition des donneuses en fonction du nombre de collectes

ii. Races des donneuses

Douze races sont représentées dans cette étude, regroupées en 2 catégories, d'une part les races laitières et de l'autre les allaitantes.

Type de production	Race (code race)	Nombre de collectes	Nombre de donneuses
Laitière	Prim'Holstein (66)	524	117
	Montbéliarde (46)	54	11
	Brune (21)	4	2
	Tarentaise (31)	3	1
Allaitante	Blonde d'aquitaine (79)	129	21
	INRA 95 (95)	63	18
	Aubrac (14)	32	8
	Charolaise (38)	7	2
	Bazadaise (24)	5	2
	Bordelaise (26)	2	1

Tableau 9 : Répartition du nombre de collectes et de donneuses en fonction de la race et du type de production

Les races les plus représentées sont pour la production laitière, la race Prim'Holstein (89,4% des collectes sur vaches laitières) et pour la production de viande, la race Blonde d'Aquitaine (54,4% des collectes sur vaches allaitantes) (Tableau 9). 586 collectes ont été réalisées sur des races laitières, soit 71,2% des collectes, et 238 sur des races allaitantes, soit 28,8% des collectes.

iii. Effet de la gestation

Sur la période étudiée, 729 collectes ont été réalisées sur des vaches vides et 95 sur des vaches gravides. En raison de l'hétérogénéité de la population, l'effet de la gestation a été évalué sur des sous-population de femelles, les femelles laitières fertiles (Tableau 10) et les génisses laitières (Tableau 11).

Statut physiologique	Génisses fertiles		Vaches fertiles		Effet (ANOVA)		
	Vide	Gravide	Vide	Gravide	Gestation	Rang de vêlage	Interaction
Nombre de sessions d'OPU	36	36	49	28	149	149	149
Nombre d'ovocytes collectés/OPU	15,6 ± 6,93	12,9 ± 6,14	17,3 ± 9,07	12,1 ± 8,46	p = 0,08, NS	NS	NS
Nombre d'OMF/OPU	13,2 ± 5,90	11,5 ± 5,89	14,1 ± 7,87	10,8 ± 7,98	NS	NS	NS
Bons embryons /OPU	5,28 ± 3,48	4,19 ± 3,27	6,53 ± 4,00	6,14 ± 4,50	NS	p = 0,13, NS	NS
Taux de blastocyste	42,5 ± 22,0	38,6 ± 21,8	49,0 ± 22,3	59,5 ± 21,0	NS	p = 0,02	NS

Tableau 10 : Effet de la gestation sur le nombre d'ovocytes récoltés, le nombre d'OMF et de bons embryons/OPU et sur le taux de blastocyste, chez les femelles laitières fertiles. NS : non significatif

Statut pathologique	Génisses fertiles		Génisses infertiles		Effet (ANOVA)		
Statut physiologique	Vide	Gravide	Vide	Gravide	Gestation	Fertilité	Interaction
Nombre de sessions d'OPU	36	36	34	19	125	125	125
Nombre d'ovocytes collectés/OPU	15,6 ± 6,93	12,9 ± 6,14	9,50 ± 5,93	9,63 ± 5,44	NS	p = 0,002	NS
Nombre d'OMF/OPU	13,2 ± 5,90	11,5 ± 5,89	8,21 ± 5,14	8,79 ± 5,17	NS	p = 0,03	NS
Bons embryons /OPU	5,28 ± 3,48	4,19 ± 3,27	3,53 ± 2,30	3,84 ± 3,72	NS	p = 0,15, NS	NS
Taux de blastocyste	42,5 ± 22,0	38,6 ± 21,8	46,3 ± 19,4	49,9 ± 29,0	NS	NS	NS

Tableau 11 : Effet de la gestation sur le nombre d'ovocytes récoltés, le nombre d'OMF et de bons embryons/OPU et sur le taux de blastocyste, chez les génisses laitières. NS : non significatif

Le stade physiologique n'a pas d'effet significatif sur la production d'OMF et de bons embryons ($p > 0,05$), que ce soit sur la sous population de femelles laitières fertiles ou de génisses laitières (Tableaux 10 et 11).

Ces résultats ont été extrapolés à l'ensemble de la population, les données de production d'embryons ont été regroupées, quel que soit le stade physiologique de la femelle ou le type de semence utilisée.

4. Effet du rang de vêlage, du type de production et du statut reproducteur sur la production d'embryons

Le Tableau 12 présente l'effet du type de production, du rang de vêlage et de l'infertilité sur la production d'OMF et de bons embryons.

Statut reproducteur	Fertile				Infertile				Effet (ANOVA et test post-hoc de Tuckey)			
	Laitière		Allaitante		Laitière		Allaitante		Type de production	Rang de vêlage	Statut reproducteur	Interactions
Type de production	Génisse	Vache	Génisse	Vache	Génisse	Vache	Génisse	Vache				
Nombre de sessions d'OPU	75	77	17	15	60	374	66	140	824	824	824	824
Nombre d'ovocytes collectés/OPU	14,1 ± 6,59	15,4 ± 9,15	20,8 ± 9,46	22,7 ± 15,0	9,68 ± 5,63	11,8 ± 8,39	11,3 ± 6,50	14,6 ± 8,48	p=0,01	p=0,07	p<0,001	NS
Nombre d'OMF/OPU	12,3 ± 5,85	12,9 ± 8,02	18,9 ± 7,83	20,1 ± 14,7	8,58 ± 5,08	10,7 ± 7,90	10,1 ± 5,83	13,0 ± 8,11	p=0,008	p=0,11	p<0,001	NS
Bons embryons /OPU	4,75 ± 3,37	6,39 ± 4,17	12,5 ± 7,99	11,4 ± 8,92	3,63 ± 2,81	5,91 ± 4,59	4,86 ± 3,25	6,74 ± 5,06	p<0,02	p=0,02	Laitières : p=0,085 Allaitantes : p<0,001	Statut reproducteur * type de production, p=0.001
Taux de blastocyste	40,5 ± 21,7	52,8 ± 22,3	61,8 ± 25,1	57,4 ± 15,0	46,2 ± 22,7	58,3 ± 24,6	50,9 ± 22,5	52,0 ± 21,2	NS	NS	NS	NS

Tableau 12 : Effet du type de production, du rang de vêlage et du statut reproducteur (groupe infertile : infertilité ou réponse faible à médiocre à la production d'embryons *in vivo*) sur le nombre d'ovocytes récoltés, le nombre d'OMF et de bons embryons/OPU et sur le taux de blastocyste.

NS : non significatif

Les vaches ont un nombre d'ovocytes récoltés et d'OMF par OPU significativement supérieur aux génisses, avec un gain de 0,6 à 2 ovocytes chez les femelles infertiles et de 2 à 3 chez les femelles fertiles. Il en résulte une augmentation d'un bon embryon en moyenne, chez les vaches comparativement aux génisses.

Les donneuses allaitantes produisent plus d'ovocytes et d'OMF par OPU (gain de 2-3 chez les femelles infertiles et de 6-7 chez les femelles fertiles). Il en résulte une augmentation du nombre de bons embryons (gain de 5 à 7 chez les femelles fertiles et de 1 chez les femelles infertiles).

Les femelles infertiles ou avec une production de bons embryons *in vivo* faible à insuffisante (groupe infertile) ont un nombre d'ovocytes récoltés et d'OMF par OPU significativement diminué, avec une perte de 2 à 4 ovocytes/OPU chez les femelles laitières et de 7 à 9 ovocytes par OPU chez les donneuses allaitantes. Chez les femelles allaitantes, l'infertilité a réduit significativement le nombre de bons embryons (perte de 5 à 8 bons embryons par OPU), alors que cette réduction est plus limitée et tend à être significative ($p=0,085$) chez les femelles laitières (perte de 0,5 à 1 bon embryon par OPU).

Aucun des 3 facteurs étudiés ne modifie le taux de blastocystes, c'est-à-dire la capacité de l'ovocyte fécondé à se développer.

Les donneuses ont été classées en fonction du type d'infertilité (Tableau 13). Compte tenu du plan expérimental déséquilibré, l'analyse du type d'infertilité n'a été réalisée que sur les génisses laitières (Tableau 14) et les vaches laitières (Tableau 15). Ces résultats sont difficiles à interpréter en raison des effectifs déséquilibrés entre les différents groupes.

Codage	Catégorie	Critères	Nombre d'OPU-FIV (nombre de vaches)	Nombre d'OPU-FIV (nombre de génisses)
0	Donneuses fertiles	Nombre moyen d'embryons produits <i>in vivo</i> /collecte > 4 ou aucun problème de reproduction antérieur	77 (26)	75 (31)
1	Faibles productrices <i>in vivo</i>	Nombre moyen d'embryons produits <i>in vivo</i> /collecte entre 3 et 4	10 (2)	39 (15)
2	Production d'embryons <i>in vivo</i> insuffisante	Nombre moyen d'embryons produits <i>in vivo</i> /collecte < 3	42 (4)	15 (5)
3	Production d'embryons <i>in vivo</i> insuffisante et antécédents reproducteurs pathologiques	Antécédents pathologiques : Repeat breeding, kystes folliculaires, non gestation, éventuellement associés à un nombre moyen d'embryons produits <i>in vivo</i> /collecte < 3	322 (49)	6 (2)

Tableau 13 : Répartition des femelles laitières et des OPU-FIV correspondantes en fonction de leur statut reproducteur, fertiles ou infertiles, et des catégories d'infertilité (production d'embryons faible à médiocre ou antécédents pathologiques).

Statut physiologique	Génisses				Effet (ANOVA)
	Fertile	1	2	3	
Statut reproducteur	Fertile	1	2	3	
Nombre de sessions d'OPU	75	39	15	6	135
Nombre d'ovocytes collectés/OPU	14,1 ± 6,59	9,05 ± 5,20*	10,7 ± 5,82*	11,3 ± 7,99	p=0,02
Nombre d'OMF/OPU	12,3 ± 5,85	7,85 ± 4,52*	9,67 ± 5,43*	10,7 ± 7,34	p=0,01
Bons embryons /OPU	4,75 ± 3,37	3,39 ± 2,44	3,80 ± 3,19	4,83 ± 4,17	NS
Taux de blastocyste	40,5 ± 21,7	47,9 ± 22,7	43,9 ± 24,5	41,2 ± 20,1	NS

Tableau 14 : Effet du statut reproducteur sur le nombre d'ovocytes récoltés, le nombre d'OMF et de bons embryons/OPU et sur le taux de blastocyste chez les génisses laitières. NS : non significatif. Pour une même colonne, l'astérisque indique une différence significative avec le groupe fertile.

Chez les génisses laitières, le nombre d'ovocytes collectés et d'OMF/OPU est significativement diminué chez les femelles ayant présenté précédemment une production d'embryons *in vivo* insuffisante à médiocre. Toutefois, le nombre de blastocystes et le taux de blastocystes ne sont pas significativement diminués chez les femelles infertiles. La production d'ovocytes ou d'embryons du groupe 3 (femelles avec antécédents pathologiques) est difficile à interpréter en raison du faible effectif.

Statut physiologique	Vaches				Effet (ANOVA)
Statut reproducteur	Fertile	1	2	3	
Nombre de sessions d'OPU	77	10	42	322	451
Nombre d'ovocytes collectés/OPU	15,4 ± 9,15	8,00 ± 3,62	16,6 ± 8,96	11,3 ± 8,21	NS
Nombre d'OMF/OPU	12,9 ± 8,02	7,60 ± 3,50	14,9 ± 8,71	10,2 ± 7,72	NS
Bons embryons /OPU	6,39 ± 4,17	3,00 ± 1,56	8,79 ± 6,28	5,63 ± 2,24	NS
Taux de blastocyste	52,8 ± 22,3	43,8 ± 20,4	57,7 ± 21,2	58,9 ± 25,0	NS

Tableau 15 : Effet du statut reproducteur sur le nombre d'ovocytes récoltés, le nombre d'OMF et de bons embryons/OPU et sur le taux de blastocyste chez les vaches laitières. NS : non significatif.

Chez les vaches laitières, les différents types d'infertilité n'ont pas eu d'effet sur la production d'ovocytes ou d'embryons.

III. Discussion

Dans le cadre de cette étude rétrospective réalisée dans des conditions terrain, à partir d'une base de données des collectes d'embryons *in vitro* de 2012 à 2021, l'influence de différents facteurs, le type de semence, le rang de vêlage, le type de production, la gestation et le statut reproducteur sur le nombre d'OMF, le nombre de bons embryons et le taux de blastocystes a été étudiée.

1. Méthodologie

La station de Denguin présente de bons résultats en termes de production d'ovocytes : en effet, le nombre moyen d'ovocytes par collecte est de 13 sur la période étudiée. Par comparaison, le nombre moyen d'ovocytes par collecte était de 7,8 chez les femelles superovulées dans une étude de 2020 (Ferré et al. 2020), ce qui indique une bonne maîtrise de la technique d'OPU-FIV, de la collecte d'ovocytes, jusqu'au développement embryonnaire par les ingénieurs de la station.

Les conditions expérimentales sont restées relativement stables au cours de la période (technique OPU-FIV, conditions d'élevage, opérateurs). Ainsi nous n'avons pas pris en compte le facteur opérateur dans cette étude. En effet, seuls deux ingénieurs expérimentés ont effectué la technique d'OPU-FIV, de la collecte d'ovocytes jusqu'à la culture d'embryons au sein de la station.

La principale limite de cette étude rétrospective est le plan expérimental déséquilibré, avec des groupes comme les vaches laitières infertiles très représentées, alors que les vaches allaitantes gravides sont très peu représentées. Cette limite nous a contraints à étudier certains facteurs sur des sous population, et d'extrapoler ensuite les résultats aux autres groupes d'animaux.

2. Statut reproducteur

Dans notre étude, les femelles fertiles produisent plus d'OMF que les femelles infertiles (gain de 20-40 % pour les femelles laitières et de 50-80 % pour les femelles allaitantes). Les femelles allaitantes fertiles produisent en moyenne deux fois plus de bons embryons que les femelles allaitantes infertiles, alors que la production d'embryons est peu affectée par le statut reproducteur des femelles laitières.

De plus, le statut reproducteur n'a pas eu d'effet sur le taux de blastocystes, ce qui indique que les femelles infertiles ont une population folliculaire plus réduite, mais que l'OMF conserve son aptitude au développement.

Ces résultats sont en accord avec l'étude de Bage (2003) réalisée sur 10 génisses (5 contrôles et 5 présentant du repeat breeding), et qui montre que les vaches fertiles présentent un pourcentage d'ovocytes plus important que les femelles infertiles (respectivement 62% et 55%). De plus, les ovocytes récoltés sont de moins bonne qualité chez les génisses en repeat breeding : 42% des ovocytes sont considérés comme étant de bonne qualité chez les génisses contre 55% chez les vaches. De plus, 7% des ovocytes collectés chez les femelles infertiles étaient inutilisables contre 0,5% chez les femelles fertiles. Enfin, l'étude a montré que l'OPU-FIV n'affectait pas la cyclicité ovarienne des donneuses (Båge et al. 2003).

L'OPU-FIV permet donc d'obtenir des embryons des femelles infertiles avec des rendements acceptables, notamment chez les vaches laitières. De plus, l'OPU-FIV permet de s'affranchir des traitements de superovulation pour la récolte d'ovocytes, ce qui permet d'obtenir des descendants sur des femelles ne répondant pas à ces protocoles classiques. En outre, elle permet de récolter les ovocytes sur des femelles présentant une affection utérine.

Il serait intéressant de poursuivre l'étude pour évaluer les types d'infertilité qui ont le plus d'impact sur la production d'embryons ainsi que sur leur développement une fois mis en place dans une receveuse.

3. Type de production

Dans notre étude, les femelles allaitantes produisent 20 à 50 % d'OMF par OPU supplémentaires par rapport aux femelles laitières. De la même façon, la production de bons embryons est doublée chez les femelles fertiles, alors qu'elle est augmentée de 14 à 30 % chez les femelles infertiles.

En revanche, le type de production n'a pas eu d'effet significatif sur le taux de blastocystes.

Ces résultats sont cohérents avec les études portant sur l'effet du type de production ou de la race sur la production d'embryons (Mikkola, Hasler, Taponen 2019).

Cette différence de population folliculaire entre les deux types de production ne peut pas être expliquée par le déficit énergétique lié à la lactation (Leroy et al. 2005). En effet, les femelles en pension sont tariées et cette différence entre le type de production est également observée chez les génisses. Cette réduction de la population folliculaire chez les femelles Holstein pourrait avoir une origine génétique liée à la forte sélection sur la production laitière pendant

50 ans, qui a conduit à une dégradation de leurs performances de reproduction (Dobson et al. 2007). Cette réduction de la fertilité n'a pas été observée chez les femelles allaitantes.

Par ailleurs, les femelles allaitantes présentent des concentrations sanguines d'AMH plus élevées que les femelles laitières (Mikkola, Hasler, Taponen 2019, (Baruselli et al. 2015). Or, un taux d'AMH circulant élevé est corrélé positivement à la production d'ovocytes et d'embryons en OPU-FIV.

Ce marqueur pourrait être mesuré sur notre population de donneuses afin de vérifier son impact sur le nombre d'ovocytes et d'embryons/OPU.

4. Rang de vêlage

Dans notre étude, nous n'avons pas mis en évidence d'effet significatif du rang de vêlage sur le nombre d'OMF ou sur le taux de blastocystes. En revanche, les vaches produisent un nombre de bons embryons significativement plus élevé que les génisses (gain de un embryon par collecte en moyenne). Ce résultat est cohérent avec l'étude de Mikkola et al. (2020), regroupant 7930 collectes réalisées sur 5689 génisses et 2241 vaches, et qui a montré que les génisses produisaient un embryon transférable de moins que les vaches.

Cette variation peut s'expliquer par le fait que la capacité de développement des ovocytes chez les femelles prépubères est réduite, et augmente ensuite avec l'âge (Galli et al. 2001) (Ax et al. 2005). Par ailleurs, certaines femelles prépubères ne sont pas encore cyclées. Ainsi, le pourcentage élevé de follicules dominants persistants, qui n'évoluent pas vers l'ovulation, peut expliquer la diminution de la capacité des ovocytes à produire des embryons. Dans notre étude, il serait intéressant d'inclure l'âge des génisses afin de vérifier si la production *in vitro* d'OMF et d'embryons est diminuée chez les femelles les plus jeunes.

Il est également possible que la population de follicules en croissance sur les ovaires soit moins importante chez les génisses ou qu'elle réponde moins bien au traitement de superovulation. En effet, selon l'étude de Ax et al. (2005), après un traitement de superovulation, la production d'embryons *in vivo* chez les génisses âgées de 7,8 à 9,9 mois (n=36) est plus faible que chez les génisses âgées de 10 mois ou plus (n=484). Ainsi, il est conseillé de n'utiliser l'OPU-FIV que chez des animaux âgés de 10 mois au minimum, les résultats étant plus faibles chez les animaux plus jeunes.

Il est important de mentionner que l'utilisation de jeunes génisses en OPU-FIV n'a pas d'effet néfaste sur leurs performances reproductives futures (Ax et al. 2005) (Figueiredo et al. 2020). L'OPU-FIV reste donc un excellent moyen de diminuer l'intervalle entre générations.

CONCLUSION

Notre étude a mis en évidence l'influence de différents facteurs sur la production d'embryons par OPU-FIV. Le type de semence et le stade physiologique n'ont pas eu d'effet significatif sur la production *in vitro* d'embryons.

Les génisses ont produit moins de bons embryons que les vaches. Les femelles allaitantes ont produit plus d'embryons que les femelles laitières. Le statut reproducteur des donneuses allaitantes a influencé la production d'embryons produits *in vitro* : les femelles allaitantes fertiles produisent en moyenne deux fois plus d'embryons que les vaches infertiles ou avec une production d'embryons *in vivo* faible à médiocre. Pour les vaches laitières, l'effet du statut reproducteur est réduit, ce qui signifie que l'OPU-FIV présente un réel intérêt. En effet, cette technique permet de multiplier la descendance de femelles de haute valeur génétique, alors même qu'elles ne peuvent pas se reproduire par les méthodes classiques de reproduction (insémination ou production d'embryons *in vivo*).

L'OPU-FIV, bien que techniquement plus coûteuse que la production d'embryons *in vivo* conventionnelle, présente ainsi de réels avantages. Nous pouvons rappeler que le traitement de superovulation n'est pas indispensable, et une seule dose de semence permet de féconder un nombre important d'ovocytes, ce qui n'est pas le cas pour la production d'embryons *in vivo*. Ces deux points permettent de faire diminuer le coût de l'OPU-FIV, la rendant de plus en plus accessible. De plus, l'OPU-FIV permet de produire plus d'embryons et de gestations par unité de temps que les techniques conventionnelles. Cela conduit à une accélération de la sélection génétique grâce à la diminution importante des intervalles entre générations et à l'utilisation de semences provenant de taureaux différents pour une même donneuse. Elle est réalisable quels que soient les caractéristiques des animaux, leur âge, leur stade physiologique, le type de production et leurs antécédents reproducteurs.

Cependant, il a été montré que le poids à la naissance des veaux nés d'embryons produits *in vitro* était relativement élevé (van Wagtenonk-de Leeuw 2006), ce qui pourrait entraîner un risque accru de dystocie et des coûts supplémentaires pour l'éleveur, en termes d'intervention vétérinaire ou bien de surveillance des vêlages.

Par ailleurs, ces techniques doivent être utilisées pour améliorer la génétique des troupeaux. Il n'est donc pas souhaitable de multiplier la descendance de femelles qui pourraient transmettre à leurs filles des problèmes d'infertilité. Il faut également veiller à conserver une certaine diversité génétique (ce que permet plus l'OPU-FIV que la production d'embryons *in vivo* cependant).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AX, R.L., ARMBRUST, S., TAPPAN, R., GILBERT, G., OYARZO, J.N., BELLIN, M.E., SELNER, D. et MCCAULEY, T.C., 2005. Superovulation and embryo recovery from peripubertal Holstein heifers. *Animal Reproduction Science*. janvier 2005. Vol. 85, no. 1-2, pp. 71-80. DOI 10.1016/j.anireprosci.2004.04.034.

BÅGE, Renée, PETYIM, Sudsajjai, LARSSON, Birgitta, HALLAP, Triin, BERGQVIST, Ann-Sofi, GUSTAFSSON, Hans et RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, Heriberto, 2003. Oocyte competence in repeat-breeder heifers: effects of an optimized ovum pick-up schedule on expression of oestrus, follicular development and fertility. *Reproduction, Fertility and Development*. 2003. Vol. 15, no. 2, pp. 115. DOI 10.1071/RD02094.

BALDRIGHI, Jm, SÁ FILHO, Mf, BATISTA, Eos, LOPES, Rnvr, VISINTIN, Ja, BARUSELLI, Ps et ASSUMPCÃO, Meoa, 2014. Anti-Mullerian Hormone Concentration and Antral Ovarian Follicle Population in Murrah Heifers Compared to Holstein and Gyr Kept Under the Same Management. *Reproduction in Domestic Animals*. décembre 2014. Vol. 49, no. 6, pp. 1015-1020. DOI 10.1111/rda.12430.

BARUSELLI, P. S., BATISTA, E. O. S., VIEIRA, L. M., FERREIRA, R. M., GUERREIRO, B. G., BAYEUX, B. M., SALES, J. N. S., SOUZA, A. H. et GIMENES, L. U., 2016. Factors that interfere with oocyte quality for in vitro production of cattle embryos: effects of different developmental & reproductive stages. *Animal Reproduction*. 2016. Vol. 13, no. 3, pp. 264-272. DOI 10.21451/1984-3143-AR861.

BARUSELLI, P. S., BATISTA, E. O. S., VIEIRA, L.M. et SOUZA, A. H., 2015. Relationship between follicle population, AMH concentration and fertility in cattle. . 2015. pp. 11.

BÓ, Gabriel A. et MAPLETOFT, Reuben J., 2020. Superstimulation of ovarian follicles in cattle: Gonadotropin treatment protocols and FSH profiles. *Theriogenology*. juillet 2020. Vol. 150, pp. 353-359. DOI 10.1016/j.theriogenology.2020.02.001.

DE OLIVEIRA BEZERRA, Alexandre, NICACIO, Alessandra Corallo, DE OLIVEIRA MENEZES, Gilberto Romeiro, DA COSTA GOMES, Rodrigo, DA SILVA, Luiz Otavio Campos, DE SOUZA ROCHA-FRIGONI, Nathália Alves, MINGOTI, Gisele Zoccal, DA SILVA LEÃO, Beatriz Caetano, DA COSTA E SILVA, Eliane Vianna et NOGUEIRA, Ériklis, 2019. Comparison between in vitro embryo production using Y-sorted sperm and timed artificial insemination with non-sorted sperm to produce crossbred calves. *Animal Reproduction Science*. septembre 2019. Vol. 208, pp. 106101. DOI 10.1016/j.anireprosci.2019.06.013.

DE SOUSA, Regivaldo Vieira, DA SILVA CARDOSO, Célia Regina, BUTZKE, Guilberth, DODE, Margot Alves Nunes, RUMPF, Rodolfo et FRANCO, Maurício Machaim, 2017. Biopsy of bovine embryos produced in vivo and in vitro does not affect pregnancy rates. *Theriogenology*. mars 2017. Vol. 90, pp. 25-31. DOI 10.1016/j.theriogenology.2016.11.003.

DOBSON, H, SMITH, Rf, ROYAL, Md, KNIGHT, Ch et SHELDON, Im, 2007. The High-producing Dairy Cow and its Reproductive Performance. *Reproduction in Domestic Animals*. septembre 2007. Vol. 42, no. s2, pp. 17-23. DOI 10.1111/j.1439-0531.2007.00906.x.

FERRÉ, L.B., KJELLAND, M.E., STRØBECH, L.B., HYTTEL, P., MERMILLOD, P. et ROSS, P.J., 2020. Review: Recent advances in bovine in vitro embryo production: reproductive biotechnology history and methods. *Animal*. 2020. Vol. 14, no. 5, pp. 991-1004. DOI 10.1017/S1751731119002775.

FIGUEIREDO, C.C., BISINOTTO, D.Z., BRANDÃO, G.V.R., UMAÑA SEDÓ, S. et BISINOTTO, R.S., 2020. Impact of assisted reproduction techniques on subsequent reproductive performance of dairy heifers and lactating cows. *Theriogenology*. décembre 2020. Vol. 158, pp. 97-104. DOI 10.1016/j.theriogenology.2020.09.011.

GALLI, C., CROTTI, G., NOTARI, C., TURINI, P., DUCHI, R. et LAZZARI, G., 2001. Embryo production by ovum pick up from live donors. *Theriogenology*. avril 2001. Vol. 55, no. 6, pp. 1341-1357. DOI 10.1016/S0093-691X(01)00486-1.

GUIGNOT, F., 2005. Cryoconservation des embryons des espèces domestiques. *INRAE Productions Animales*. 15 mars 2005. Vol. 18, no. 1, pp. 27-35. DOI 10.20870/productions-animales.2005.18.1.3507.

J JACQUES J. J. COLLEAU, Yvan Heyman et JEAN PAUL J. P. RENARD, 1998. Les biotechnologies de la reproduction chez les bovins et leurs applications réelles ou potentielles en sélection. . 1998. pp. 17.

LEROY, J.L.M.R., OPSOMER, G., DE VliegHER, S., VANHOLDER, T., GOOSSENS, L., GELDHOF, A., BOLLS, P.E.J., DE KRUIF, A. et VAN SOOM, A., 2005. Comparison of embryo quality in high-yielding dairy cows, in dairy heifers and in beef cows. *Theriogenology*. décembre 2005. Vol. 64, no. 9, pp. 2022-2036. DOI 10.1016/j.theriogenology.2005.05.003.

LEROY, Jlmr, OPSOMER, G, VAN SOOM, A, GOOVAERTS, Igf et BOLLS, Pej, 2008. Reduced Fertility in High-yielding Dairy Cows: Are the Oocyte and Embryo in Danger? Part I The Importance of Negative Energy Balance and Altered Corpus Luteum Function to the Reduction of Oocyte and Embryo Quality in High-yielding Dairy Cows*. *Reproduction in Domestic Animals*. octobre 2008. Vol. 43, no. 5, pp. 612-622. DOI 10.1111/j.1439-0531.2007.00960.x.

LINDNERI, Gary M et WRIGHT, Raymond W, 1983. BOVINE EMBRYO MORPHOLOGY AND EVALUATIONa. . 1983. Vol. 20, no. 4, pp. 10.

MAPLETOFT, Reuben, 2013. BOVINE EMBRYO TRANSFER. . 2013. pp. 5.

MARTAL, Jacques, 2002. *L'embryon chez l'homme et l'animal Ed. 1*. [en ligne]. Inra. [Consulté le 17 juin 2022]. ISBN 978-2-7380-0990-6. Disponible à l'adresse: <https://international.scholarvox.com/catalog/book/docid/45006980>

- MERTON, J.S, DE ROOS, A.P.W, MULLAART, E, DE RUIGH, L, KAAL, L, VOS, P.L.A.M et DIELEMAN, S.J, 2003. Factors affecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry. *Theriogenology*. janvier 2003. Vol. 59, no. 2, pp. 651-674. DOI 10.1016/S0093-691X(02)01246-3.
- MIKKOLA, M., HASLER, J. F. et TAPONEN, J., 2019. Factors affecting embryo production in superovulated *Bos taurus* cattle. *Reproduction, Fertility and Development*. 2019. Vol. 32, no. 2, pp. 104. DOI 10.1071/RD19279.
- PONTES, J.H.F., NONATO-JUNIOR, I., SANCHES, B.V., ERENO-JUNIOR, J.C., UVO, S., BARREIROS, T.R.R., OLIVEIRA, J.A., HASLER, J.F. et SENEDA, M.M., 2009. Comparison of embryo yield and pregnancy rate between in vivo and in vitro methods in the same Nelore (*Bos indicus*) donor cows. *Theriogenology*. mars 2009. Vol. 71, no. 4, pp. 690-697. DOI 10.1016/j.theriogenology.2008.09.031.
- RIBEIRO, E.S., BISINOTTO, R.S., LIMA, F.S., GRECO, L.F., MORRISON, A., KUMAR, A., THATCHER, W.W. et SANTOS, J.E.P., 2014. Plasma anti-Müllerian hormone in adult dairy cows and associations with fertility. *Journal of Dairy Science*. novembre 2014. Vol. 97, no. 11, pp. 6888-6900. DOI 10.3168/jds.2014-7908.
- ROCHA, José C., PASSALIA, Felipe, MATOS, Felipe D., MASERATI JÚNIOR, Marc P., ALVES, Mayra F., ALMEIDA, Tamie G. de, CARDOSO, Bruna L., BASSO, Andrea C. et NOGUEIRA, Marcelo F. G., 2016. Methods for assessing the quality of mammalian embryos: How far we are from the gold standard? *JBRA Assisted Reproduction*. [en ligne]. 2016. Vol. 20. [Consulté le 13 juin 2022]. DOI 10.5935/1518-0557.20160033.
- RUST, J M, VISSER, D S, VENTER, J E, BOSHOFF, M P, FOSS, S et GREYLING, J P C, 2009. The effect of season on aspects of in vitro embryo production in sub-fertile beef cows. *South African Journal of Animal Science*. 2009. pp. 5.
- SENEDA, Marcelo Marcondes, ZANGIROLAMO, Amanda Fonseca, BERGAMO, Larissa Zamparone et MOROTTI, Fábio, 2020. Follicular wave synchronization prior to ovum pick-up. *Theriogenology*. juillet 2020. Vol. 150, pp. 180-185. DOI 10.1016/j.theriogenology.2020.01.024.
- TSEPELIDIS, S., DEMEESTERE, I., DELBAERE, A., GERVY, C. et ENGLERT, Y., 2007. Anti-mullerian hormone and its role in the regulation of ovarian function. Review of the literature. [en ligne]. 2007. DOI 28(3):165-71.
- VAN WAGTENDONK-DE LEEUW, A.M., 2006. Ovum Pick Up and In Vitro Production in the bovine after use in several generations: A 2005 status. *Theriogenology*. mars 2006. Vol. 65, no. 5, pp. 914-925. DOI 10.1016/j.theriogenology.2005.09.007.
- VIANA, Joao, 2018. 2018 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. . 2018. pp. 26.
- VIANA, Joao HM, 2020. 2020 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. . 2020. pp. 14.

WILSON, R.D., WEIGEL, K.A., FRICKE, P.M., RUTLEDGE, J.J., LEIBFRIED-RUTLEDGE, M.L., MATTHEWS, D.L. et SCHUTZKUS, V.R., 2005. In Vitro Production of Holstein Embryos Using Sex-Sorted Sperm and Oocytes from Selected Cull Cows. *Journal of Dairy Science*. février 2005. Vol. 88, no. 2, pp. 776-782. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(05)72741-7.

NOM : LEROY

PRENOM : Noémie

TITRE : OPU-FIV CHEZ LES BOVINS, ETUDE RETROSPECTIVE DES FACTEURS DE VARIATION DANS LE CADRE DE L'UNITE DE SELECTION AURIVA

RESUME : L'objectif de cette étude était d'étudier les facteurs de variation de la production d'embryons par OPU-FIV chez les bovins à partir d'une base de données regroupant 824 collectes réalisées par la station AURIVA de Denguin de 2012 à 2021. L'effet du type de semence, du stade physiologique, du rang de vêlage, du type de production et de l'infertilité sur le nombre d'OMF (ovocytes maturés et mis en fécondation), le nombre de bons embryons et le taux de blastocystes a été évalué par des analyses de variance.

Le type de semence et le stade physiologique n'ont pas eu d'effet significatif sur le nombre d'embryons produits par OPU-FIV. Les génisses produisent moins de bons embryons que les vaches. Les femelles allaitantes produisent plus d'OMF et de bons embryons que les femelles laitières. Chez les femelles allaitantes infertiles, la production d'embryons *in vitro* est diminuée par 2 comparativement à celle des donneuses fertiles. Cet effet du statut reproducteur n'est pas observé chez les donneuses laitières. Ces données montrent que l'OPU-FIV peut être utilisé comme une méthode alternative pour obtenir une descendance de femelles à haute valeur génétique.

MOTS CLES : embryons, fécondation *in vitro*, ovum pick up, bovins, vache infertile

ENGLISH TITLE: OPU-IVP IN CATTLE, A RETROSPECTIVE STUDY OF THE VARIATION FACTORS IN THE AURIVA SELECTION UNIT

ABSTRACT: The aim of this study was to identify the variation factors of the *in vitro* embryos production in cattle from a database of 824 OPU-FIV performed by the selection unit AURIVA located in Denguin, from 2012 to 2021. The effect of the semen (sexed/conventional), the physiological stage (open or pregnant), the parity, the breed type, the previous infertility on the number of OMF, the number of good embryos and the blastocysts rate was analysed using general linear models.

Sexed semen and pregnancy had no significant effect on the embryos produced *in vitro*. Heifers produced fewer good embryos than cows. Beef donors produced much greater viable IVM COCs which successfully developed into grade 1 expanded blastocyst (G1EB) than dairy females. For beef donors, the number of G1EB produced by infertile group is twice than that of fertile group. By contrast, this effect was not observed in dairy donors. Our retrospective study showed that OPU-FIV could be a good alternative to obtain progeny from bovine females with a high genetic value.

KEY WORD: embryons, *in vitro* fertilization, ovum pick up, cattle, infertile cow