

Place des biotechnologies de la reproduction dans la gestion des programmes d'amélioration génétique des ovins en Tunisie

Rekik M., Ben Salem I., Khbou-Khamassi M., Letaïef S., Chebbi M.

in

Khlij E. (ed.), Ben Hamouda M. (ed.), Gabiña D. (ed.).
Mutations des systèmes d'élevage des ovins et perspectives de leur durabilité

Zaragoza : CIHEAM / IRESA / OEP

Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 97

2011

pages 95-101

Article available on line / Article disponible en ligne à l'adresse :

<http://om.ciheam.org/article.php?IDPDF=801453>

To cite this article / Pour citer cet article

Rekik M., Ben Salem I., Khbou-Khamassi M., Letaïef S., Chebbi M. **Place des biotechnologies de la reproduction dans la gestion des programmes d'amélioration génétique des ovins en Tunisie.** In : Khlij E. (ed.), Ben Hamouda M. (ed.), Gabiña D. (ed.). *Mutations des systèmes d'élevage des ovins et perspectives de leur durabilité.* Zaragoza : CIHEAM / IRESA / OEP, 2011. p. 95-101 (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 97)



<http://www.ciheam.org/>
<http://om.ciheam.org/>

Place des biotechnologies de la reproduction dans la gestion des programmes d'amélioration génétique des ovins en Tunisie

M. Rekik*, I. Ben Salem*, M. Khbou-Khamassi*, S. Letaief**, M. Chebbi***

*Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire, 2020 Sidi Thabet (Tunisie)

**Institut National de la Recherche Agronomique de Tunisie (INRAT),
rue Hédi Karray, 2049 Ariana (Tunisie)

***Office de l'Élevage et des Pâturages,
30 rue Alain Savary, Tunis (Tunisie)

Résumé. Dans ce papier, une première évaluation de l'efficacité de l'utilisation de certaines biotechnologies de la reproduction dans le cadre des schémas d'amélioration génétique des races ovines en Tunisie est faite. Si pour le conditionnement du sperme soit à l'état frais ou congelé les résultats sont encourageants, ceux de l'insémination artificielle par voie exo-cervicale sont trop bas et trop variables en comparaison aux normes et aux résultats antérieurs obtenus en Tunisie. Les causes semblent être multiples et peuvent être corrigées avant que cette technique puisse jouer son rôle d'outil incontournable pour la diffusion du progrès génétique. Le cas de la race D'Man est préoccupant et ce papier avance certaines approches alliant biotechnologies de la reproduction et sécurité sanitaire pour la relance de la diversité génétique au sein de cette race.

Mots-clés. Ovins – Conservation du sperme – Insémination artificielle – Transfert d'embryons.

Role of reproductive biotechnologies in the management of the sheep genetic improvement programs in Tunisia

Abstract. *This paper reports a preliminary assessment of the efficiency of use of reproductive biotechnologies within the breeding schemes of sheep breeds in Tunisia. Results related to conditioning of fresh and frozen sperm are promising. However, conception rates after cervical artificial insemination are very low and extremely variable in comparison to both admitted levels and previous results in Tunisia. The causes are diverse and need to be alleviated before this technique can be adopted as a strategic tool for the dissemination of genetic progress. The case of the D'Man breed is a major concern and this paper puts forward a number of approaches integrating reproductive biotechnologies and health safety rules in order to boost genetic diversity within the breed.*

Keywords. *Sheep – Semen preservation – Artificial insemination – Embryo transfer.*

I – Population ovine nationale et stratégies d'amélioration génétique

Le paysage racial ovin en Tunisie est composé de 4 races ovines locales et quelques noyaux de races importées, dont le plus significatif est celui de la race D'Man, dont les effectifs ont nettement évolué depuis leur première introduction du Maroc en 1994. La Barbarine, la Queue Fine de l'Ouest et la Noire de Thibar sont des races à viande alors que la Sicilo-Sarde est considérée comme laitière ou plutôt à double objectif, lait et viande (Rekik et Ben Hamouda, 2000). D'un point de vue génétique, la revue de Rekik *et al.* (2005) considère que les races Barbarine et Queue Fine de l'Ouest ne présentent pas de risque de dégénérescence, vu leurs grands effectifs et la large variabilité qui les caractérisent. Par ailleurs, les races locales Noire de Thibar et Sicilo-Sarde étaient présentées comme étant très menacées par l'érosion génétique et la race D'Man exposée à un degré élevé de consanguinité. Pour l'ensemble de

ces races, les outils d'amélioration génétique se résument brièvement à la sélection de jeunes reproducteurs dans les troupeaux de la base de sélection et leur diffusion une année plus tard comme reproducteurs dans l'ensemble des élevages. Les femelles sont sélectionnées et gardées dans les mêmes troupeaux. Jusque là l'insémination artificielle a été très peu utilisée pour diffuser le progrès génétique.

Dans le cadre d'un programme de relance de la diversité génétique des races Noire de Thibar et Sicilo-Sarde, le choix a été fait depuis quelques années pour l'introduction de la semence congelée de race Sarda d'Italie et de la race Brune Noire de Suisse de la Suisse pour le croisement des races Sicilo-Sarde et Noire de Thibar respectivement. La deuxième étape de ce programme a consisté dans le repérage des meilleurs produits F1 et F2 et leur utilisation en insémination artificielle pour assurer une plus large diffusion et une meilleure durabilité à cette action de relance. Ces actions ont rendu indispensable le recours à certaines biotechnologies de la reproduction comme l'insémination artificielle (IA) intra-utérine et exo-cervicale, la production et la conservation de la semence et l'usage de l'ultrasonographie pour le diagnostic précoce de gestation des brebis inséminées. Ces biotechnologies participent à l'amélioration des paramètres de reproduction dans les troupeaux d'une manière générale. Ce papier fait le point des premiers efforts d'application de ces biotechnologies, efforts qui sont coordonnés à l'échelle nationale par l'OEP (Office de l'Élevage et des Pâturages, Ministère de l'Agriculture et des Ressources Hydrauliques de la République Tunisienne).

II – Les principales biotechnologies de la reproduction en soutien aux efforts d'amélioration génétique

1. Conservation du sperme

Pour les essais de mise au point des méthodes de conservation du sperme, le matériel animal utilisé est représenté par 6 béliers issus d'un croisement F2 entre des brebis Noire de Thibar et des béliers Brune Noire de Suisse (F2BNS) et 5 béliers F1 issus du croisement entre des brebis Sicilo-Sarde et des béliers de race Sarda (F1SS). Les essais ont eu lieu entre septembre 2007 et mars 2008.

Deux méthodes de conservation du sperme seront décrites dans ce qui suit. La première concerne du sperme frais refroidi à 15°C, dont la viabilité est ainsi prolongée jusqu'à 6 heures voire à 8 heures pour un sperme dont la qualité initiale en terme de motilité et de pourcentage de spermatozoïdes vivants est très bonne à excellente. Le milieu de dilution est à base de lait écrémé, de sulfamide et d'antibiotiques qui peut se conserver pour 48 heures à 4°C. Avant transport sur les lieux d'insémination, le sperme préalablement refroidi à 15°C au laboratoire (30 minutes doivent s'écouler entre la collecte et le refroidissement progressif jusqu'à 15°C), est maintenu à la même température en le plaçant à l'intérieur d'une glacière et par rajout de cubes de glaçons. En ce qui concerne le sperme congelé, 2 types de dilueurs ont été testés. Le premier est à base de lait écrémé additionné du jaune d'œuf. Le deuxième dilueur est à base d'Tris-hydroxyméthylaminométhane (TRIS), jaune d'œuf, acide citrique et fructose (Baril *et al.*, 1993). Dans les deux compositions, des antibiotiques sont rajoutés (pénicilline et streptomycine) et le cryoprotecteur utilisé est le glycérol. La congélation est faite soit manuellement en plaçant les rampes de sperme dans de la vapeur d'azote liquide à environ 20 cm de la surface du liquide pendant 8 minutes, suivie ensuite par immersion totale dans l'azote liquide. La deuxième méthode de congélation est complètement automatisée et elle utilise le Digit-Cool (IMV®, Paris, France). Les paillettes remplies de sperme dilué et après stabilisation à 5°C, sont refroidies jusqu'à -10°C à raison de 5°C par minute. Durant le deuxième palier de congélation, la température est abaissée de -10°C à -130°C à raison de 60°C par minute. Lors du troisième et dernier palier, les paillettes sont immergées dans de l'azote liquide.

Pour les deux méthodes de préservation du sperme, nous nous limiterons à présenter les résultats relatifs à la motilité progressive et le % de spermatozoïdes mobiles du sperme conditionné. Les deux races sont considérées ensemble, puisqu'il n'y avait pas de différences dues au génotype pour l'ensemble des paramètres étudiés.

En ce qui concerne la semence refroidie à 15°C, les résultats par mois ne révèlent pas un effet saison particulier sur les paramètres du sperme refroidi (Tableau 1). Ils dénotent également une maîtrise du processus de refroidissement du sperme et l'obtention d'une qualité acceptable de celui-ci à la sortie du laboratoire. L'amélioration des paramètres de viabilité durant les mois de février et mars dénote une adaptation des béliers à la collecte au vagin artificiel malgré la photopériode défavorable.

Tableau 1. Variation par mois de la motilité progressive et du % de spermatozoïdes mobiles du sperme refroidi à 15°C

	Mois						
	Sept.	Oct.	Nov.	Déc.	Jan.	Fév.	Mars
Motilité progressive	3,3±0,21	3,4±0,12	3,1±0,14	3,2±0,22	3,5±0,14	4,0±0,22	3,8±0,18
% de spz mobiles	56±4,6	62±2,6	52±3,1	53±4,8	61±3,1	71±4,9	71±4,1

Il est clair des résultats consignés dans le Tableau 2, que quelque soit la composition du dilueur, c'est plutôt la méthode de congélation qui a le plus grand effet sur la qualité du sperme après décongélation. Par conséquent, les procédures de congélation qui peuvent être préconisées sont Lait – Digit Cool et TRIS – Digit Cool avec des paramètres de viabilité du sperme qui devraient permettre son utilisation en insémination intra-utérine. Ces mêmes paramètres sont a priori suffisants pour permettre l'utilisation d'un tel sperme en insémination exo-cervicale, avec un œstrus naturel et non induit (Paulenz, 2007).

Tableau 2. Effet de l'interaction entre la composition du dilueur et la méthode de congélation sur les paramètres de viabilité (après décongélation) du sperme congelé

	Combinaison méthode de congélation – dilueur			
	Lait – Digit Cool	Lait – Manuelle	TRIS – Digit Cool	TRIS – Manuelle
Motilité progressive	3,1±0,26a	2,1±0,15b	3,4±0,21a	0,9±0,35c
% de spz mobiles	44±3,9a	16±2,9b	48±4,2a	9±6,9b

Les valeurs sur la même ligne avec au moins une même lettre ne diffèrent pas au seuil de P<0,05.

2. Insémination artificielle

Toutes les IA qu'elles soient par voie intra-utérine ou exo-cervicale sont réalisées après synchronisation des œstrus par la pose des éponges imprégnées d'un progestagène (40 mg de fluorogestone acétate) pendant 14 jours. Au moment du retrait des éponges, les brebis reçoivent chacune une injection intramusculaire de 400 ou 500 U.I. d'Equine Chorionic Gonadotropin (eCG). Les recommandations sont telles que les IA devaient être effectuées à environ 55±1 heures de la fin du traitement hormonal en se basant sur des résultats antérieurs obtenus par Rekik et Ben Sassi (1996). En effet, il a été montré sur des brebis de race Barbarine que les taux de réussite en IA étaient de 59, 48,6 et 52% quand les femelles étaient inséminées respectivement à 55, 56 et 57 heures de la fin du traitement hormonal. Quand le temps d'insémination se situait entre 58 et 60 heures de la fin du traitement hormonal, les taux de réussite ont chuté à 25 et 26,5%. Il a été aussi recommandé aux équipes d'insémination de tenir compte de la division en lots de 25, les femelles dans un même élevage, pour prévenir les

décalages de temps. Dans le cas des inséminations par voie intra-utérine, les éleveurs ont été prévenus de maintenir à jeun les brebis au cours des 24 heures précédant la réalisation des inséminations. Les résultats qui sont rapportés dans ce qui suit, ont été obtenus lors de deux années consécutives (2007 et 2008) pour la méthode exo-cervicale et durant l'année 2008 pour l'intra-utérine. Le programme de 2007 pour la méthode exo-cervicale est considéré comme pilote puisqu'il y a eu suivi et encadrement des équipes d'insémination tout au long du processus de production et de conditionnement de la semence, ainsi que pendant les opérations de synchronisation et d'IA des brebis.

Les résultats de réussite de l'IA qui sont présentés plus loin, ont été obtenus par diagnostic de la gestation par ultrasonographie trans-rectale effectuée entre 35 et 40 jours après IA. Le choix de l'ultrasonographie trans-rectale s'est basé sur tous les avantages que présente cette technique en comparaison à la méthode trans-abdominale. En effet, la méthode trans-rectale est plus fiable, plus précoce et plus informative concernant l'état physiologique (dénombrement fœtal, état sanitaire de l'appareil génital, gestation sur IA, gestation sur 1er retour, vide au diagnostic, stade avancé de gestation dénotant des gestations antérieures à l'IA...) que l'usage trans-abdominal de l'échographie (Martinez *et al.*, 1998).

A. Insémination artificielle intra-utérine

Sur un total de 394 brebis de race Noire de Thibar appartenant à 10 élevages différents qui ont été inséminées par de la semence congelée issue de béliers Brune Noire de Suisse, le taux de réussite global après diagnostic de gestation est de 56,8% variant de 51,6 à 81,3%. Une telle variabilité est aussi rapportée par Findlater *et al.* (1991) pour des brebis croisées Mule avec des taux de réussite variant de 45 à 79%, que les auteurs ont attribuée à des différences de conduite des troupeaux. Dans le cas des brebis Noire de Thibar, il n'y avait pas de variation liée à l'origine de la semence puisque pour les 3 béliers dont la semence a été utilisée, les taux de réussite étaient respectivement de 66,3, 65,3 et 67,8%.

L'une des principales sources de variation qui s'est révélée statistiquement significative de la réussite des IA, est le moment d'insémination par rapport à la fin du traitement hormonal. Il y avait en effet une différence de l'ordre de 8.3% de diminution du taux de réussite quand les IA sont réalisées avant 54 heures ou après 56 heures de la fin du traitement hormonal. D'après Findlater *et al.* (1991), le taux de réussite après IA par voie intra-utérine est de 65, 63 et 46% quand les IA sont effectuées respectivement 48, 60 et 72 heures après la fin du traitement hormonal. Pour les races ovines Françaises, les meilleurs taux de réussite en IA intra-utérine de l'ordre de 80%, sont obtenus quand l'intervalle de 55±1 heure est respecté (Baril *et al.*, 1993).

B. Insémination artificielle exo-cervicale

Pour l'année 2007, le programme d'insémination a porté sur 600 brebis de race Noire de Thibar dans la région de Béja. Au total, 537 brebis ont été échographiées avec 278 brebis diagnostiquées vides sur échographie ou gestantes sur retour des chaleurs. Le taux de réussite global sur IA toutes fermes confondues est par conséquent de 48,2%. Les valeurs minimales et maximales étaient respectivement de 31,2 et 69%.

Pour l'année 2008, le programme a concerné 1739 brebis des races Noire de Thibar et Sicilo-Sarde. Après échographie, le taux de réussite global a été de 16,2% nettement plus bas que pendant l'année 2007. Une très grande variabilité entre élevages a aussi caractérisé ces résultats avec des valeurs minimales et maximales de 0 et 42% respectivement. Par race, le taux de réussite a été de 18 et 11% respectivement pour la Noire de Thibar et la Sicilo-Sarde.

Bien que le taux de réussite en 2007 est considéré en dessous des normes généralement admises pour l'IA exo-cervicale (Baril *et al.*, 1993), celui de 2008 est jugé trop bas. L'enquête qui a été menée en parallèle au déroulement des échographies a permis de relever certaines causes qui peuvent être à l'origine des faibles taux de réussite et qui sont par ordre

d'importance décroissante : (i) l'absence de contrôle de la température de la semence entre le centre de production et les lieux d'insémination ; (ii) le choix inadéquat des troupeaux pour l'IA puisqu'une fréquence élevée des brebis étaient encore suitées pendant les IA et pour certaines, elles étaient encore allaitantes lors des échographies (1 mois après IA environ) ; (iii) l'état corporel des animaux dans certains troupeaux était très mauvais pour que les brebis soient retenues pour l'IA ; et (iv) la mauvaise organisation lors de l'IA, un facteur qui a été unanimement rapporté par les éleveurs et les techniciens. Toutes ces causes dont certaines ont pu agir en interaction dans le cas de plusieurs élevages, sont de nature à expliquer les très faibles taux de réussite en 2008.

III – Cas spécifique de la race D'Man

La race ovine D'Man a été introduite en Tunisie depuis 1994, dans le cadre de la coopération Tuniso-Marocaine et a été diffusée autour des oasis, dans le but de diversifier le système de production. Originaire du Maroc, la race D'Man est très intéressante pour sa prolificité élevée. La brebis, en œstrus dès l'âge de 7 mois, peut accepter le mâle toute l'année à cause de l'absence d'un effet de saison et peut donner en l'occurrence trois agnelages en deux ans, voire deux agnelages par an. Les effectifs actuels de la race D'Man en Tunisie représentent plusieurs générations issues d'une importation initiale en 1994 de 200 brebis et 25 béliers. Comme il n'y a pas eu depuis, d'autres introductions d'animaux sur pied ou de sperme de béliers, nous anticipons que le potentiel génétique des animaux existants soit menacé par la consanguinité.

Toutefois, toutes les tentatives d'importer des animaux du Maroc sont vouées à l'échec, à cause de la situation sanitaire instable du pays, qui a vu son statut sanitaire perturbé dès l'an 2000 par l'apparition de la Fièvre Catarrhale du Mouton (FCM), et en 2008 par la survenue de la Peste des Petits Ruminants (PPR). En effet, 230 foyers de FCM ont été déclarés par le Maroc en 2004, confirmés par les analyses de laboratoire comme étant dus au virus sérotype 4, puis, à partir du mois de juin 2008, et pour la première fois au Nord de l'Afrique, il notifie 5 foyers de la Peste des Petits Ruminants, maladie, qui continue à circuler jusqu'à ce jour [Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE), 2008a]. De l'autre côté, en Tunisie, la FCM, faisant son apparition pour la première fois en décembre 1999 avec le sérotype 2 et en 2006 avec le sérotype 1. La Tunisie n'a pas jusqu'à ce jour déclaré la circulation du sérotype 4, ni la survenue de la Peste des Petits Ruminants, une pathologie qui fait actuellement l'objet d'une vigilance intense aux frontières tunisiennes (Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE), 2008a). La crainte de voir apparaître en Tunisie la FCM due au sérotype 4 et notamment la PPR est justifiée, et des mesures d'interdiction d'importer des animaux ou des produits animaux contaminés ont été appliquées par l'ensemble des pays membres de l'OIE concernées par ces deux maladies, non pas pour annuler les risques, mais pour les réduire au minimum. En effet, lors de l'infection par la FCM, la virémie qui peut atteindre 55 jours chez les ovins est une période de risque, au cours de laquelle le virus est présent dans le sang et le sperme. Mais si l'infection du vecteur à partir du sang est de règle, la transmission vénérienne du virus est considérée comme peu fréquente et de moindre importance dans l'épidémiologie de la maladie (Parsonson, 1990 ; Paul *et al.*, 1994). Justement, c'est pour réduire le risque de transmission entre animaux réceptifs et pour pallier à ces situations précaires, que les nouvelles biotechnologies de la reproduction, principalement le transfert d'embryons, ont été développées et ont prouvé leur succès à contrôler la propagation de maladies animales (Singh, 1985 ; 1987 ; Singh *et al.*, 1982 ; Singh *et al.*, 1997). Cependant, l'importation de semence ou d'embryons d'origine ovine de pays ou de zones infectés soit de PPR, soit de FCM vers un pays présumé indemne, présente toujours un risque, et elle n'est possible que sous certaines conditions (OIE, 2008b,c) qui exigent : (i) la surveillance des animaux donneurs de semence ou d'embryons, ainsi que leurs troupeaux d'origine, avant (pendant la quarantaine), au cours et après les prélèvements, en se fondant sur les durées normales d'incubation définies par le Code Sanitaire des Animaux Terrestres de l'OIE (60 jours pour la FCM et 21 jours pour la PPR) ; et/ou (ii) des examens sérologiques et/ou viraux sur les animaux donneurs, avant, au cours et

après les prélèvements (conformément au Manuel des tests de diagnostic de l'OIE), et/ou (iii) examen de la semence ou des embryons avec respect des normes de collecte, de manipulation et de stockages énumérées dans le Code terrestre (OIE, 2008 d et e) et le Manuel de la société internationale de transfert d'embryons (Stringfellow et Seidel, 1998).

A l'issu de ces dispositions, un certificat vétérinaire international (OIE, 2008f) signé par les autorités compétentes, devra accompagner la semence ou les embryons au pays importateur, qui, en l'occurrence, peut exiger du pays exportateur des informations qu'il juge importantes pour la sécurité du commerce de ces produits (semence ou embryons) et qui peuvent inclure entre autre les résultats d'une évaluation récente des services vétérinaires ou les données de toute analyse de risque conduite même par d'autres pays (OIE, 2008 g).

D'autres procédés visant aux traitements de la semence et des embryons contre les virus ont été mis au point et approuvés par l'OIE, incluant le lavage des embryons comme moyen le plus approprié et la désinfection de la semence (Thibier et Guérin, 2000a,b) ; Bielenski, 2007). Ces procédés sont détaillés et consultables directement sur le site de l'OIE (OIE, 2008d,e).

A la lumière de ces données, il devient donc envisageable de pouvoir importer à partir du Maroc, soit du sperme, soit des embryons de la race ovine D'Man, tout en respectant les normes et recommandations édictées par l'OIE. En plus, la Tunisie, peut toujours exiger des informations supplémentaires et pourquoi pas procéder à une analyse du risque comme cela est énoncé au titre 2 du code sanitaire des animaux terrestres (OIE, 2008h).

IV – Conclusion

Il ressort des premiers résultats d'application des biotechnologies de la reproduction comme outil de diffusion du progrès génétique dans le cadre des schémas d'amélioration des races Noire de Thibar et Sicilo-Sarde, une maîtrise de l'IA par voie intra-utérine et des procédures de conditionnement du sperme à l'échelle de laboratoire. Toutefois, les expériences méditerranéennes ont toutes montré que c'est l'IA par voie exo-cervicale qui représente l'outil le plus efficace. Ceci rend urgent des mises au point techniques pour une amélioration des résultats de cette technique au risque de voir les éleveurs se démobiliser autour des efforts d'amélioration génétique. D'autres biotechnologies de l'embryon et du sperme peuvent débloquent les frontières sanitaires pour une relance de la diversité génétique au sein de la race D'Man en Tunisie.

Références

- Baril G., Chemineau P., Cognié Y., Guerin Y., Leboeuf B., Orgeur P. et Vallet J.C., 1993.** *Manuel de formation de l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins*. Etude FAO, Production et Santé Animale, 83, Rome, Italie.
- Bielanski A., 2007.** Disinfection procedures for controlling microorganisms in the semen and embryos of humans and farm animals. Dans : *Theriogenology*, 68, p. 1-22.
- Findlater R.C.F., Haresign W., Curnock R.M. et Beck N.F.G., 1991.** Evaluation of intra-uterine insemination of sheep with frozen semen: effects of time of insemination and semen dose on conception rates. Dans : *Animal Production*, 53, p. 89-96.
- Martinez M.F., Bosch P. et Bosch R.A., 1998.** Determination of early pregnancy and embryonic growth in goats by transrectal ultrasound scanning. Dans : *Theriogenology*, 49 (8), p. 1555-1565.
- OIE, 2008a.** World Animal Health Information Database. <http://www.oie.int/wahis/public.php?page=home>
- OIE, 2008b.**- La fièvre catarrhale du Mouton. Dans : *Code sanitaire des animaux terrestres*. Chapitre 8.3., Volume II, 17ème édition de l'OIE.
http://www.oie.int/fr/normes/mcode/fr_chapitre_1.8.3.htm#rubrique_fievre_catarrhale_du_mouton.
- OIE 2008c.** La Peste des Petits Ruminants. Dans : *Code sanitaire des animaux terrestres*. Chapitre 14.8., Volume II, 17ème édition de l'OIE.
http://www.oie.int/fr/normes/mcode/fr_chapitre_1.14.8.htm#rubrique_pestes_des_petits_ruminants.
- OIE 2008d.** Collecte et traitement de la semence de bovins et de petits ruminants. Dans : *Code sanitaire des animaux terrestres*. Chapitre 4.5., Volume I. 17ème édition de l'OIE.

- OIE 2008e.** Collecte et manipulation des ovules/embryons. Dans : *Code sanitaire des animaux terrestres*. Chapitre 4.7., Volume I, 17ème édition de l'OIE.
- OIE 2008f.** Définition des mesures sanitaires applicables à l'importation des animaux et des produits qui en sont issus. http://www.oie.int/fr/normes/guides/FR_commodity-based%20approach.pdf.
- OIE 2008g.** Modèles de certificats vétérinaires pour le commerce international d'animaux vivants, d'œufs à couvrir et de produits d'origine animale. Dans : *Code sanitaire des animaux terrestres*. Chapitre 5.10., Volume I, 17ème édition de l'OIE.
- OIE 2008h.** Analyse de Risque. Dans : *Code sanitaire des animaux terrestres*. Titre 2, Volume I, 17ème édition de l'OIE.
- Parsonson I.M., 1990.** Pathology and pathogenesis of bluetongue infections. Dans : *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 162, p. 119-141.
- Paul E., Gibbs J., et Greiner E.C., 1994.** The epidemiology of bluetongue. Dans : *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 17, p. 207-220.
- Paulenz H., 2007.** Fertility results in sheep and goats after routine use of a simplified insemination technique. Dans : Book of abstracts of the 23rd scientific meeting of the European Embryo Transfer Association, Alghero, Sardinia, 7-8 September 2007. pp. 216.
- Rekik M., Aloulou R. et Ben Hamouda M., 2005.** Small ruminant breeds of Tunisia. Dans : *Characterisation of Small Ruminant Breeds in West Asia and North Africa North Africa*, vol. 2. Iñiguez, L. (eds.), International Centre for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), Aleppo, Syria, pp. 91-140.
- Rekik M. et Ben Hammouda M., 2000.** A steering frame for the genetic improvement of sheep and goats in Tunisia. Dans : Analysis and definition of the objectives in genetic improvement programmes in sheep and goats. Gabiña D. (eds.). Meeting of the Sub-Network on Genetic Resources of the FAO-CIHEAM Inter-Regional Cooperative Research and Development Network on Sheep and Goats, 18-20 November 1999, Zaragoza, Spain. *Options Méditerranéennes, Série A (Séminaires Méditerranéens)*, n°43, p. 129-136.
- Rekik M. et Ben Sassi M., 1996.** Lambing outcome in native fat-tailed sheep flocks following AI: Effect of time of insemination. Dans : *Book of abstracts of the 47th Annual Meeting of the European Association for Animal Production*, 25-29 August 1996, Lillehammer, Norway. pp. 240. Wageningen Press.
- Singh E.L., 1985.** Disease control: Procedures for handling embryos. Dans : *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.*, 4, p. 867-872.
- Singh E.L., 1987.** The disease control potential of embryos. Dans : *Theriogenology*, 27, p. 9-20.
- Singh E.L., Eaglesome M.D., Thomas F.C., Papp-Vid G. et Hare W.C.D., 1982.** Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. Dans : *Theriogenology*, 17, p. 437-444.
- Singh E.L., Dulac G.C. et Henderson J.M., 1997.** Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. XV. Failure to transmit bluetongue virus through the transfer of embryos from viremic sheep donors. Dans : *Theriogenology*, 47, p. 1201-1214.
- Stringfellow D.A. et Seidel S.M., 1998.** *Manual of The International Embryo Transfer Society*, 3rd edition, 170 pages. The society publication, Denver, Colorado, USA.
- Thibier M. et Guérin B., 2000a.** Hygienic aspects of storage and use of semen for artificial insemination. Dans : *Livestock Production Science*, 62, p. 233-251.
- Thibier M. et Guérin B., 2000b.** Embryo transfer in small ruminants: The method of choice for health control in germplasm exchanges. Dans : *Livestock Production Science*, 62, p. 253-270.