

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE EL HARRACH-
ALGER**

MEMOIRE DE MAGISTERE

Option :

Nutrition et Reproduction des bovins

THEME

*Prévention des mortalités embryonnaires par
l'induction d'un corps jaune accessoire chez
la vache laitière*

Présenté par

BESBACI Mohamed

JURY

TEMIM.S	Professeur à l'ENSV El Harrach-Alger	Présidente
KHELEF.D	Maitre de conférences à l'ENSV El Harrach-Alger	Examineur
SOUAMES.S	Maitre assistant à l'ENSV El Harrach-Alger	Examineur
BOUDJELLABA.S	Maitre assistant à ENSV El Harrach-Alger	Examineur
KAIDL.R	Professeur à l'université de Blida	Promoteur

El Harrach le 23 Avril 2012.

Remerciement

A Madame. **TEMIM.S**

Qui nous a fait l'honneur de présider notre jury.

Hommage respectueux.

A Monsieur. **KHELEF.D**

Qui nous a fait l'honneur de juger ce travail.

Sincères remerciements.

A Monsieur. **SOUAMES.S**

Qui nous a fait l'honneur d'examiner ce travail.

Sincères remerciements.

A Monsieur. **BOUDJELLABA.S**

Qui nous a fait l'honneur de juger ce travail.

Sincères remerciements.

A mon promoteur **Pr. KAIDI.R.**

Qui a accepté d'encadrer ce travail avec son sourire rassurant et pour la confiance dont il a fait preuve à mon égard.

Qu'il trouve ici l'expression de ma fronde reconnaissance.

Sincères remerciements à l'ensemble des éleveurs qui ont contribué a ce travaille :

Dr. ZGHAIMI Hamza ; MAHI Djamel ; BIBI Hakim et RAHNI Abd El Karim

Dédicaces

A ma Maman,

*Si tu étais un astre, tu serais l'étoile polaire : unique, reconnaissable entre toutes,
infaillible point de repère, toujours là pour éclairer nos chemins quels qu'ils soient.
heureusement, tu es là, tout près, pour veiller sur nous chaque jour, et nous apprendre à
voler de nos propres ailes, m'as toujours indispensable à notre équilibre.
avec toute mon admiration et tout mon amour, merci.*

A mon père

Avec toute ma tendresse un grand merci, pour ton soutien.

A mes deux sœurs

*Zuiana et Farida . Je n'ai pas toujours su vous dire très adroitement comme vous
m'êtes indispensables et comme je vous aime..... et pourtant.....*

Parce que l'union fait la force, et quelle FORCE !!!!

A mes chers cousins

M'hamed, Fessine, Khalil, Assia Redouane et Riade.

A tous mes amis

*Mohamed, Mounir, Smail, Foussef, Rochdi, Houssine, Latra, Khalil, Saïd, Mokhtar, Krimou,
Asma et Amel.*

La passion qui nous anime m'est d'autant plus précieuse qu'elle nous réunit.

Merci d'être là.

Pour tous les bons moments qu'on a passé ensemble, je vous aime.

A toute la promotion de magistère 2009 pour les beaux moments que nous avons passé ensemble durant l'année théorique.

A Kamel Derfellou pour sa gentillesse.

A Serhaire SAHRAOUI

Avec qui la médecine vétérinaire est un art.

*A toute les confères veterinaires qui m'ont beaucoup aidé à Dr, SAHRAOUB Sarahene Dr,
TOULAT Mohamed et Dr, SEBEN Nabil.*

*A tous Les membres de
l'association culturelle de la musique arbo-andalouse el WADIA De Saida. Et El Djennadia de
Soufiane*

A toute la famille SEBEN, AAOU et HAOU.

A mes chers étudiants.

À tous ceux qui ont contribué à mon savoir et mon bonheur

Table des matières

<i>LISTE DES FIGURES.</i>	I
<i>LISTE DES TABLEAUX.</i>	II
<i>LISTE DES ABREVIATIONS.</i>	III
RESUME :	IV
SUMMARY:	V
ملخص:	VI
INTRODUCTION	VII
<i>I. CYCLE ŒSTRAL ET DYNAMIQUE OVARIENNE CHEZ LA VACHE.</i>	1
A. Cycle œstral	1
1. Phase folliculaire.....	1
2. Phase lutéale.....	1
B. Dynamique ovarienne	2
1. Vagues folliculaires	2
2. Historique par période de leur découverte	3
3. Dynamique et étapes d'une vague folliculaire	5
a. Recrutement.....	5
b. Sélection	6
c. Dominance.....	6
d. Atrésie ou ovulation folliculaire	7
e. Mise en place du corps jaune.....	7
<i>II. DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE CHEZ LA VACHE.</i>	9
A. Vie embryonnaire libre	9
B. Implantation embryonnaire	11
C. Reconnaissance maternelle de la gestation	12
1. Corps jaune cyclique (rappel).	13
2. Maintien du corps jaune par les signaux embryonnaires	14
3. blastocyste et son activité lutéotrope.....	15
4. Activité antilutéolytique.....	16
D. Durée de vie du corps jaune et mortalité embryonnaire	18
E. Milieu utérin et évolution de l'embryon.	18

III. INCIDENCE, IMPORTANCE ET FACTEURS IMPLIQUES DE LA MORTALITE EMBRYONNAIRE. 19

A. Définition..... 19

- 1. Mortalité embryonnaire précoce (ou MEP) 19
- 2. Mortalité embryonnaire tardive (ou MET)..... 19

B. Techniques et contraintes de quantification des mortalités embryonnaires 19

C. Incidence et importance des mortalités embryonnaires..... 21

- 1. Non fécondation (ou NF) 21
- 2. Mortalité embryonnaire précoce 22
- 3. Mortalité embryonnaire tardive..... 23

D. Période critique des mortalités embryonnaires 24

E. Dégradation de la situation..... 25

F. Facteurs de variation..... 26

- 1. Facteurs génétiques 27
- 2. Facteurs maternels 27
- 3. Facteurs environnementaux 28
- 4. Facteur nutritionnel 29
 - a. Alimentation énergétique..... 29
 - b. Impact de la note d'état corporel 29
 - i. Note d'état corporel, non-fécondation et mortalité embryonnaire précoce..... 29
 - ii. Note d'état corporel et mortalité embryonnaire tardive 30
 - c. Alimentation azotée 30
 - d. Alimentation minérale et vitaminique 31
- 5. Facteur climatique..... 32
- 6. Facteur environnement utérin 32

IV. RELATION ENTRE LA PROGESTERONE ET LA FERTILITE..... 34

A. Effet retardé du niveau de progestérone du cycle précédent sur celui du cycle suivant 34

B. Progestéronémie et mortalité embryonnaire..... 35

- 1. Entre J0 et J6 post-IA..... 36
- 2. Entre J4 et J9 post-IA..... 36
 - a. Effets lutéolytique et embryotoxique d'une sécrétion de prostaglandine prématurée 36
 - b. Progestéronémie et développement embryonnaire 37
- 3. Entre J14 et J17 post-IA..... 40
- 4. Entre J28 et J42 post-IA..... 40

C. Vagues folliculaires et sécrétion de la progestérone 41

V. UTILISATION DE L'HCG ET LA GNRH POUR AUGMENTER LA PROGESTERONEMIE ET PREVENIR LA MORTALITE EMBRYONNAIRE..... 43

A. Rôle de la progestérone dans le maintien de gestation.	43
1. Relation progestérone/ œstradiol/ocytocine.	43
2. Progestérone et interféron r	44
3. Concentration en progestérone et fertilité	44
B. Mise en place d'un corps jaune accessoire (ou secondaire).	46
1. Utilisation de le la GnRH (GONADOTROPIN-RELEASING HORMONE)	46
a. Mécanisme d'action	46
b. Incidence sur l'ovulation	47
c. Fonction du corps jaune.	48
2. Utilisation de le l'hCG (HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN)	50
a. Mécanisme d'action	50
b. Incidence sur l'ovulation	50
c. Fonction de corps jaune	53
C. Autres stratégies pour augmenter la progestéronémie.	55
1. Apport de la progestérone exogène	55
2. Stratégies visant à augmenter la progestéronémie par des manipulations réalisées avant l'insémination.	56
D. Quel est l'intérêt d'augmenter progestéronémie	57

VI. AUTRES STRATEGIES POUR PREVENIR LES MORTALITES EMBRYONNAIRES. **59**

A. Diminution de l'œstrogénémie après l'insémination	59
1. Effet des œstrogènes sur la survie de l'embryon.	59
2. Manipulations qui permettent la diminution de l'œstrogénémie.	59
a. Manipulations mécaniques	59
b. Manipulations pharmacologiques	60
B. Renforcement du signal embryonnaire	63
C. Utilisation de la flunexine meglumine.	64
D. Utilisation de l'alimentation grasse.	64
E. Utilisation de la bST	65
F. Les futures recherches	65

VII. ETUDE EXPERIMENTALE..... **68**

A. Objectif.	68
B. Matériel et méthode.	70
1. Période et lieu de l'étude	70
2. Sélection des vaches incluse dans l'étude	70
a. Sélection des élevages	70
i. Hébergement et condition d'élevage	70
ii. Alimentation	71
b. Notation de l'état corporel	71

c.	Examen de l'appareil génital	71
i.	Examen par voie rectale	71
ii.	Examen échographique	73
a.	Critères d'inclusion.....	74
b.	Critères d'exclusion.....	75
5.	Protocole expérimental	75
a.	Synchronisation des chaleurs et IA des vaches sélectionnées.	75
b.	Détection des chaleurs et insémination artificielle	76
c.	Confirmation de l'ovulation	76
d.	Induction du corps jaune accessoire le 5eme jour post-insémination	76
i.	Groupe 1 (hCG à J 5)	76
ii.	Groupe 2 (GnRH à J 5)	77
iii.	Groupe 3 (groupe témoin).....	78
e.	Prélèvement sanguin pour le dosage de la progestérone.....	80
f.	Examen échographique et réalisation des mesures	80
g.	Diagnostic de gestation.....	81
C.	Analyse statistique.....	81
D.	Résultats	82
1.	Synchronisation des chaleurs et des ovulations	82
a.	Manifestation des chaleurs et confirmation des ovulations	82
b.	Taille du follicule préovulatoire	82
2.	Statut ovarien des vaches à J5.....	84
3.	Induction du corps jaune accessoire.....	84
4.	Suivi échographique de l'évolution des corps jaune accessoires.....	86
5.	Suivi échographique de l'évolution des corps jaune préexistants	87
6.	Évolution de la superficie lutéale totale	89
7.	Progestéronémie.....	91
a.	Progestéronémie de toutes les vaches.....	91
b.	Progestéronémie des vaches gestantes.....	92
c.	Progestéronémie des vaches non gestantes.....	94
8.	Corrélation entre superficie lutéale et progestéronémie.....	95
9.	Fertilité des vaches après traitement	96
Discussion.....		97
Conclusion		103
Références.....		104
ANNEXES.....		122

Liste des figures.

<i>Figure 1 : Dynamiques de développement folliculaire et la sécrétion des gonadotrophines au cours des cycles oestral de deux et trois vagues folliculaires chez les vache. (Adaptée de Adams et al. 2008).</i>	3
<i>Figure 2 : Représentation schématique de la croissance folliculaire (Fiéni et al., 1995)</i>	5
<i>Figure 3: Embryon bovin en phase d'élongation recueilli à 16 jours de gestation. (Robinson et al. 2006).</i>	10
<i>Figure 4: phase d'implantation du blastocyste chez les ruminants (Spencer et al, 2007)</i>	12
<i>Figure 5 : Illustration du cycle œstral chez la vache (Adaptée de Geary, 2005).</i>	14
<i>Figure 6: Illustration du début de la grossesse chez une vache (Adaptée de Geary, 2005).</i>	15
<i>Figure 7 :</i>	17
<i>Figure 8: Quantification des échecs de reproduction (sur 100 IA) et leurs évolutions entre 1980 et 2006.</i>	26
<i>Figure 9: Relation note d'état/ ME (Humblot, 2001).</i>	30
<i>Figure 10: Relation entre la quantité, la nature des matières azotées et la reproduction. (Enjalbert, 2003)</i>	31
<i>Figure 11: Concentrations moyennes (\pm écart type) plasmatiques de PGFM, de 1h avant à 3h après stimulation à l'ocytocine, au 15ème jour du cycle suivant pour des vaches exposées à de hautes (\square, n=5) ou basses (\square, n=5) concentrations de progestérone dans le cycle précédent. (Shaham-Albalancyet al. 2001).</i>	35
<i>Figure 12 : Relation entre le niveau de progestérone dans le lait au jour 5 après insémination et le taux de gestation (n=1228 vaches laitières Holstein). (Starbuck et al. 2001).</i>	38
<i>Figure 13 : A - Quantité d'IFN-τ synthétisée après 24h de culture des embryons (J18) recueillis sur des génisses ayant reçu une injection d'hCG (1500 IU, n=9) ou un placebo (n=11) 5 jours après insémination. Source : Kerbler et al. (1997). B - Corrélation entre la concentration maternelle en progestérone et la synthèse d'IFN-τ par des embryons (J18, n=20) après 24h de culture in vitro. (Kerbler et al. 1997).</i>	39
<i>Figure 14 : Longueur moyenne du trophoblaste (barre vide) des embryons recueillis à J16 et concentration moyenne en interféron tau (20 mL fluide utérin, barre pleine) de vaches non traitées (control, n=4), de vaches supplémentées en progestérone de J5 à J9 (early, n=4) ou de J12 à J16 (late, n=3). Ab, p < 0,05 ; ac, p < 0,01. (Mann et al. 2006).</i>	40
<i>Figure 15 : effet du développement folliculaire sur la fertilité chez la vache (Inskeep, 2004).</i>	42
<i>Figure 16 : Concentrations moyennes (\pm 0.85ng/mL) plasmatiques en progestérone chez les génisses Holstein traitées par un agoniste à la GnRH (Buserelin 8μg i.m) ou par une solution saline le 5ème jour post-oestrus</i>	48
<i>Figure 17 : Concentrations moyennes (\pm 1.25ng/mL) plasmatiques en progestérone chez les génisses Holstein traitées par l'hCG (1000UI i.v et 2000UI i.m) ou par une solution saline le 5ème jour post-œstrus Schmitt et al (1996).</i>	51
<i>Figure 18 : Pourcentage d'augmentation des concentrations sériques en progestérone (P4) entre le 5ème, 7ème et 12ème jour après IA dans le groupe témoin, le groupe hCG, et le groupe GnRH</i>	52
<i>Figure 19 : la croissance du corps jaune original (\blacksquare) et induit (\square) chez les génisses traitées à l'hCG (A) et le corps jaune original dans le groupe témoin (\blacktriangle) (B) (Diaz et al 1998).</i>	53
<i>Figure 20 : images échographiques d'ovaires gauche et à droite montrant les corps jaunes en double (a) vache témoin et (b) vache taritée avec l'hCG à j0, et (c) follicule kystique (ovaire gauche) chez une vache traitée à j 0 : les corps jaunes induits ont été observés après traitement à l' hCG donnée soit au jour 7 (d, flèche courte) ou 14 jours (e, flèche courte) après l'insémination (Rajamahendran et Sianangama 1992).</i>	54
<i>Figure 21 : croissance du follicule dominant de la première (\blacksquare), la deuxième (\square) et la troisième (\blacktriangle) vague folliculaire chez les génisses traitées par l'hCG à J 5 post-oestrus (Diaz et al 1998).</i>	61
<i>Figure 22 : concentrations plasmatiques d'estradiol-17β chez le groupe hCG (\blacksquare) et le groupe témoin des génisses (\blacktriangle) (Diaz et al 1998).</i>	62
<i>Figure 23 : démarche de diagnostic lors de la palpation des ovaires (Jean-Paul Mialoot, communication personnelle cité par Calais et Dreno (2004)).</i>	72
<i>Figure 24 : Coupe médiane du bassin de vache (Barone, 1990).</i>	73
<i>Figure 25 : réalisation des examens échographiques.</i>	74
<i>Figure 26 : protocole de l'étude dans le groupe 1 (hCG).</i>	77
<i>Figure 27 : protocole de l'étude dans le groupe 2 (GnRH).</i>	78
<i>Figure 28 : protocole de l'étude dans le groupe 3 (témoin).</i>	79

Figure 29 : image échographique d'une vésicule embryonnaire de 45J :(A) liquide amniotique, (B) embryon.	81
Figure 30 : nombre de vaches synchronisées par le protocole GPG et nombre de vache qui ont répondu à ce protocole.	82
Figure 31 : image échographique d'une corne utérine d'une vache en chaleur :(A) tissu de la corne utérine, (B) accumulation du liquide intra-utérin.	83
Figure 32 : image échographique d'un ovaire portant un follicule préovulatoire. :(A) follicule préovulatoire, (B) stroma ovarien.	83
Figure 33 : image échographique d'un ovaire à J14 post IA montrant deux corps jaune après traitement par la GnRH :(A) corps jaune préexistant, (B) corps jaunes accessoire induit par la GnRH .	85
Figure 34 : image échographique d'un ovaire à J14 post IA montrant deux corps jaune après traitement par la hCG. (A) corps jaune préexistant, (B) corps jaunes accessoire induit par l'hCG.	86
Figure 35 : évolution de la superficie (cm ²) des corps jaunes accessoires.	87
Figure 36 : évolution de la superficie (cm ²) des corps jaunes préexistants.	88
Figure 37 : image échographique d'un ovaire montrant deux corps jaunes :(A) corps jaune préexistant, (B) corps jaunes accessoire induit par l'hCG, (C) cavité du corps jaune.	89
Figure 38 : évolution de la superficie (cm ²) des structures lutéales totales.	90
Figure 39 : évolution de la progestéronémie (ng /mL) de toutes les vaches.	92
Figure 40 : évolution de la progestéronémie (ng /mL) des vaches gestante.	93
Figure 41 : évolution de la progestéronémie (ng /mL) des vaches non gestantes.	95
Figure 42 : corrélation entre la progestéronémie (ng /mL) et la superficie lutéale totale (cm ²).	95

Liste des tableaux.

Tableau I : Résumé des principales caractéristiques des cycles à 2 et 3 vagues (valeurs moyennes observées selon Ginther et al., 1989; Bo et al., 1998).....	2
Tableau II : Fréquence de mortalité embryonnaire précoce chez les vaches laitières.	23
Tableau III : Taux de fécondation, de survie embryonnaire à plusieurs jours post-insémination chez des génisses. (Diskin et Sreenan 1980).....	24
Tableau IV : Taux de fécondation, de survie embryonnaire à plusieurs jours post-insémination chez des génisses. (Diskin et Sreenan 1980).....	25
Tableau V: Principales relations entre alimentation et troubles de la reproduction (Enjalbert, 2003)	31
Tableau VI : Caractéristiques des fluides utérins de vaches ayant un embryon normal ou anormal. Source	33
Tableau VII: Association entre le maintien de la gestation et les concentrations en progestérone à deux périodes de gestation. (Starbuck et al. 2004).....	41
Tableau VIII : Concentrations moyennes (\pm écart type) plasmatiques en progestérone et LH (ng/mL) après traitement par la GnRH ou une solution saline à J 12 post insémination (Yildiz et al 2009)	49
Tableau IIX : Concentrations moyennes (\pm écart type) plasmatiques en progestérone (ng/mL) chez les vaches gestantes et non gestantes après traitement à la GnRH ou à solution saline (Yildiz et al 2009).	49
Tableau X : moyennes du diamètre du FD et de superficie du CJP à J5 post IA.	84
Tableau XI : nombre et les pourcentages des corps jaunes accessoires induits	85
Tableau XII : Evolution de la superficie (cm ²) des corps jaunes accessoires.	86
Tableau XIII : Evolution de la superficie (cm ²) des corps jaunes préexistants.	88
Tableau XIV : Evolution de la superficie (cm ²) des structures lutéale totales (CJP+CJa).	90
Tableau XV : Evolution de la progestéronémie (ng /mL) chez toutes les vaches.	91
Tableau XVI : Evolution de la progestéronémie (ng /mL) chez vaches gestantes.	93
Tableau XVII : Evolution de la progestéronémie (ng /mL) chez vaches non gestantes.	94
Tableau XVIII : nombre et les pourcentages des vaches gestantes.	96

Liste des abréviations.

AC : anti corps.

AG : anti gene

CJ : corps jaune.

CJa : corps jaune accessoire.

CJp : corps jaune préexistant.

COX : cyclo-oxygenase.

CPROG : concentration de progestérone.

EC : état corporel.

FSH : follicle stimulating hormone.

GnRH : gonadolibérine releasing hormone.

hCG : human chorionic gonadotropine.

IA : insémination artificielle.

IFN- τ : interféron tau ou trophoblastine.

IGF-1 : insulin-like growth hormone.

LH : luteinizing hormone.

ME : mortalité embryonnaire.

MEP : mortalité embryonnaire précoce.

MET : mortalité embryonnaire tardive.

PGF 2α : prostaglandine f 2α .

RB : Repeat Breeding.

Rc : récepteur.

RIA : radio immuno aissay

Prévention des mortalités embryonnaires par l'induction d'un corps jaune accessoire chez la vache laitière.

BESBACI Mohamed

Résumé :

Dans le but de prévenir l'insuffisance lutéale afin de lutter contre la mortalité embryonnaire, l'objectif de notre travail était d'optimiser la fonction lutéale par l'injection de l'hCG ou la GnRH le 5eme jour post insémination artificielle (IA) afin de provoquer l'ovulation du follicule dominant de la première vague folliculaire et obtenir un corps jaune accessoire (CJa). Ce dernier a augmenté significativement la progestéronémie des vaches traitées. L'étude a porté sur 33 vaches laitières hautes productrices. Ces vaches étaient synchronisées par le protocole Ovsynch (GPG) et réparties en 3 groupes de 11 vaches selon le type de traitement utilisé à J5 post IA. Des examens échographiques étaient réalisées afin de suivre la superficie des structures lutéales présentes ainsi des prélèvements sanguins étaient effectués pour doser la progestéronémie des vaches suivies. Nous avons étudié l'effet de la GnRH et de l'hCG sur la formation d'un CJa et sur la progestéronémie. Les vaches traitées à J5 post IA par la GnRH ont formé un CJa avec un pourcentage de 100% contre 90.9% chez les vaches traitées par l'hCG. Les vaches qui ont formé un CJa ont eu une progestéronémie significativement supérieure ($p < 0.05$) aux vaches non traitées et qui n'ont pas formé un CJa. La progestéronémie était significativement supérieure chez les vaches traitées à l'hCG, cela est due à l'effet de cette hormone sur la taille du corps jaune préexistant (CJp) qui avait une superficie significativement supérieure au CJp des vaches traitées à la GnRH et des vaches témoins. Il n'y avait aucune différence significative entre les taux de gestation chez les trois groupes de vaches.

Nous avons retrouvé une forte corrélation positive et hautement significative ($r=0,75$; $p = 0,001$) entre la superficie lutéale totale (CJp+CJa) et le taux de progestéronémie.

Mots clés :

Corps jaune / corps jaune accessoire / progestéronémie / mortalité embryonnaire / hCG / GnRH / bovin / vache.

Prevention of embryonic loss by the induction of an accessory corpus luteum in dairy cows.

BESBACI Mohamed

Summary:

In order to prevent low luteal to strive against embryonic mortality, the goal of our work was to optimize luteal function by the injection of hCG or GnRH on Day 5 post insemination (AI) to induce ovulation of the dominant follicle of first follicular wave, and obtain an accessory corpus luteum (CJa). This significantly increased the progesterone treated cows. The study included 33 high-producing dairy cows. These cows were synchronized by the Ovsynch protocol (GPG) and divided into 3 groups of 11 cows with the type of treatment used on day 5 post AI. Ultrasound scans were performed to monitor the surface structures present and luteal blood samples were taken for assaying progesterone cows followed. We studied the effect of GnRH and hCG on the formation of a CJa and progesterone. Treated cows on day 5 post AI by GnRH formed a CJa with a percentage of 100% against 90.9% in cows treated with hCG. Cows that formed a CJa progesterone had a significantly higher ($p < 0.05$) in untreated cows and not formed a CJa. Progesterone was significantly higher in cows treated with hCG, this is due to the effect of this hormone on the size of the existing corpus luteum (CJp) which had a surface area significantly higher than the CJp of cows treated with GnRH and control cows. There was no significant difference between pregnancy rates among three groups of cows.

We found a strong positive and highly significant ($r = 0.75$, $p = 0.001$) between the total luteal area (CJp + CJa) and the rate of progesterone.

Keywords:

Corpus luteum / accessory corpus luteum / progesterone / embryo mortality / hCG / GnRH / cattle / cow.

الوقاية ضد وفيات الأجنة بالحصول على جسم أصفر ملحق عند البقر الحلوب .

بسباسي محمد

ملخص :

تهدف دراستنا هذه إلى الوقاية ضد وفيات الأجنة عند البقر الحلوب وذلك بالحصول على جسم أصفر ملحق للجسم الأصفر الأولي الذي يعمل على زيادة في "البروجسترون" , عند الأبقار المعالجة في اليوم GPG الخامس بعد التلقيح الإصطناعي , قمنا هذه الدراسة على 33 بقرة حلوب وبعد معالجتها تبعا للبروتوكول لتزمين فترة التهيج , قسمت هذه الأبقار إلى ثلاثة أفواج يحتوي كل فوج على 11 بقرة وذلك تبعا لنوع العلاج المقدم في اليوم الخامس بعد التلقيح الإصطناعي .

الأبقار المعالجة كانت لديها نسبة عالية مقارنة بالأبقار غير المعالجة حيث كانت جد عالية عند الأبقار وهذا راجع لفعل هذا الهرمون على الجسم الأصفر الأول الذي كانت لديه مساحة كبيرة عند hCG المعالجة بال والأبقار غير المعالجة GnRH الأبقار المعالجة بال

شكلت (hCG) شكل لديها جسم أصفر ملحق , والأبقار المعالجة بال% (GnRH100 كل الأبقار المعالجة بال % لديها أجسام صفراء بنسبة 90.9

لم نلاحظ أي إختلاف في معدلات الحمل بين الأفواج الثلاثة للبقر

وفي الأخير وجدنا علاقة إيجابية وجد هامة بين مساحة الأجسام الصفراء و"البروجسترون".

الكلمات الأساسية :

- جسم أصفر/ جسم أصفر ملحق/ البروجسترون / وفاة الأجنة/ hCG / GnRH/ البقرة.

Introduction

L'évolution pratique d'élevage a entraîné une baisse de la fertilité chez la vache laitière. Suite à l'insémination, la mortalité embryonnaire représente l'une des causes majeures d'échecs de la reproduction et l'insuffisance lutéale est l'une des causes majeures de la mortalité embryonnaire (Willard et coll., 2003). Bien que d'autres facteurs puissent également contribuer à cette perte embryonnaire précoce, la plus grande partie a été attribuée à une fonction inadéquate du corps jaune (Weilbold 1988). La progestérone est indispensable dès le début de la gestation, immédiatement après la fécondation et le reste pour toute la durée de la gestation. Elle contrôle le transit de l'embryon depuis l'oviducte jusqu'au lieu de son implantation dans l'utérus. Elle stimule également les sécrétions utérines qui vont nourrir l'embryon avant son implantation ainsi permettre sa survie dans le tractus génital. Les vaches gestantes ont toujours eue une concentration périphérique de progestérone plus élevée que les vaches non gestantes (Butler 1996).

On sait que le risque de mortalité embryonnaire se trouve augmenté soit lorsque la progestérone n'augmente pas rapidement après l'œstrus ou que ses concentrations ne sont pas suffisantes (Amiridis et al ; 2009). On sait aussi que la progestérone joue un rôle majeur sur le maintien de la gestation par ses effets sur la fonction trophoblastique et hypophysaire. A l'inverse, l'augmentation de la production laitière s'accompagne de celle du catabolisme hépatique de cette hormone voire d'une réduction de la fonction lutéale (Bech-Sabat et al. 2009). La mortalité précoce de l'embryon suivie de résorption concerne environ 25% des embryons de vaches normalement fertiles et 40% à 60% des femelles « repeat breeder » (infertiles à chaleurs normales) (Hanzen et al ; 1999). De plus, selon les auteurs, 4% à 22% des vaches sont suivies ou sont traitées au cours d'une année entière pour infertilité (Arthur et al ; 1996). Toutefois, l'incidence exacte de l'insuffisance lutéale reste inconnue, car prouver son existence est souvent difficile, alors la meilleure démarche à suivre pour éliminer la présence ou l'absence de cette insuffisance lutéale est d'augmenter la progestéronémie durant la période critique du développement embryonnaire.

Pour augmenter la progestéronémie après l'insémination beaucoup de protocole ont été mis en places : on peut alors soit apporter de la progestérone exogène, soit augmenter sa production endogène. L'apport de progestérone exogène donne des résultats très variables. Pour être efficace, le traitement doit être long et couvrir la période critique soit 15 à 17 jours après

l'insémination (Mialot et al., 2004). L'apport endogène de progestérone peut se faire en augmentant la production de progestérone par le corps jaune existant ou bien en créant un second corps jaune dit accessoire. Les deux hormones GnRH et l'hCG ont été utilisées pour induire la formation d'un corps jaune accessoire après l'insémination afin de réduire les mortalités embryonnaires. L'utilisation d'hormone chorionique gonadotrope humaine (hCG) à J5 après insémination (Diaze et al. 1998 ; Santos et al., 2001 ; Beltran et Vasconcelos 2008) ou à J7 (Rajamahendran et Sianangama, 1992) a montré des résultats intéressants dans cette voie malgré des résultats controversés quant à la diminution de la mortalité embryonnaire. Sterry et al. (2006) a observé que le traitement par la GnRH à J5 post insemination artificielle a augmenté les taux de conception.

L'objectif de notre travail, consiste à évaluer l'efficacité d'une méthode de prévenir les mortalités embryonnaires. L'induction d'un corps jaune accessoire par l'administration de la GnRH ou l'hCG le 5eme jour après l'insémination artificielle était la méthode utilisée. Après avoir rappelé dans la partie bibliographique la physiologie du cycle de la vache, dont on a défini la notion des vagues folliculaires afin de savoir à quel jour du cycle on peut trouver un follicule dominant pour le faire ovuler, ainsi qu'on a rappelé les différentes étapes du développement embryonnaire. Tous ces rappels étaient nécessaires afin de décrire les mortalités embryonnaires. Dans la dernière partie bibliographique nous avons présenté les méthodes hormonales et non hormonales qu'on peut utiliser afin de prévenir ces mortalités embryonnaires.

I. Cycle œstral et dynamique ovarienne chez la vache.

La connaissance de la physiologie ovarienne est indispensable pour comprendre les mécanismes de l'infécondité en général, nécessaires aussi pour rechercher les stratégies hormonales potentielles visant à limiter le risque de mortalité embryonnaire.

A. Cycle œstral

Le cycle œstral de la vache se déroule en deux phases, folliculaire et lutéale.

1. Phase folliculaire

La phase folliculaire dure en moyenne de 3 à 5 jours. Elle est initiée au moment du recrutement d'un pool de follicules par un pic de sécrétion de FSH et se termine au moment de l'ovulation (considéré comme le jour J0 du cycle).

2. Phase lutéale

La phase lutéale, dure en moyenne 14 à 16 jours. Elle commence dans les 5 à 6 jours suivant l'ovulation, les cellules de la granulosa se différencient en grandes cellules lutéales et celles de la thèque en petites cellules lutéales qui acquièrent la capacité de sécréter de la progestérone. Cette lutéinisation du follicule aboutit à la formation d'un corps jaune. La concentration plasmatique en progestérone augmente ainsi de moins de 1 ng/ml à 3 jours post ovulation, à 3 ng/ml à 6 jours post ovulation (Adams et al., 2008). Elle atteint un plateau entre 10 et 14 jours post ovulation (>4 ng/ml). Vers le seizième jour du cycle, la libération de prostaglandine F_{2α} (PGF_{2α}) par l'endomètre de la vache non gestante provoque la hyalinisation des vaisseaux du corps jaune. Les cellules hypoxiques ne produisent plus de progestérone et la concentration chute : on parle de lutéolyse.

B. Dynamique ovarienne

1. Vagues folliculaires

C'est le phénomène cyclique et continu selon lequel des follicules entrent dans un schéma de croissance puis de décroissance aboutissant à une ovulation ou à une atresie d'un ou plusieurs follicules, selon les espèces.

Le cycle œstral des vaches se compose de 2 ou 3 vagues folliculaires (*cf.* fig.1): les cycles à deux vagues folliculaires durent 2 à 3 jours de moins que les cycles à 3 vagues (*cf.* tableau I), (19-20 jours contre 22-23jours) (Noseir, 2003 ; Adams et al., 2008). La tendance chez les vaches laitières à fort potentiel laitier, telles que les Prim'Holstein, est d'avoir des cycles à 2 vagues (Townson et al., 2002) contrairement aux génisses laitières et aux vaches de races allaitantes qui ont une prédominance de cycles à 3 vagues folliculaires (Ginther et al, 1989). Lors de cycles à 3 vagues, on observe deux vagues anovulatoires avant une dernière vague ovulatoire (Macmillan et al., 2003). Ces vagues folliculaires intéressent des follicules provenant des 2 ovaires évoluant de manière synchronisée, répondant aux variations hormonales systémiques et locales comme une seule entité (Adams et al., 2008).

Tableau I : Résumé des principales caractéristiques des cycles à 2 et 3 vagues (valeurs moyennes observées selon Ginther et al., 1989; Bo et al., 1998)

	Cycles à 2 vagues	Cycles à 3 vagues
Jour d'émergence des vagues (J0=début du cycle)	1, 9-10	1, 8-9-16
Durée moyenne du cycle (j)	20-21	21-24
Durée moyenne de la phase lutéale (j)	17	19
Age moyen du follicule ovulatoire (nombre de jours entre émergence et ovulation)	7-11	5-7

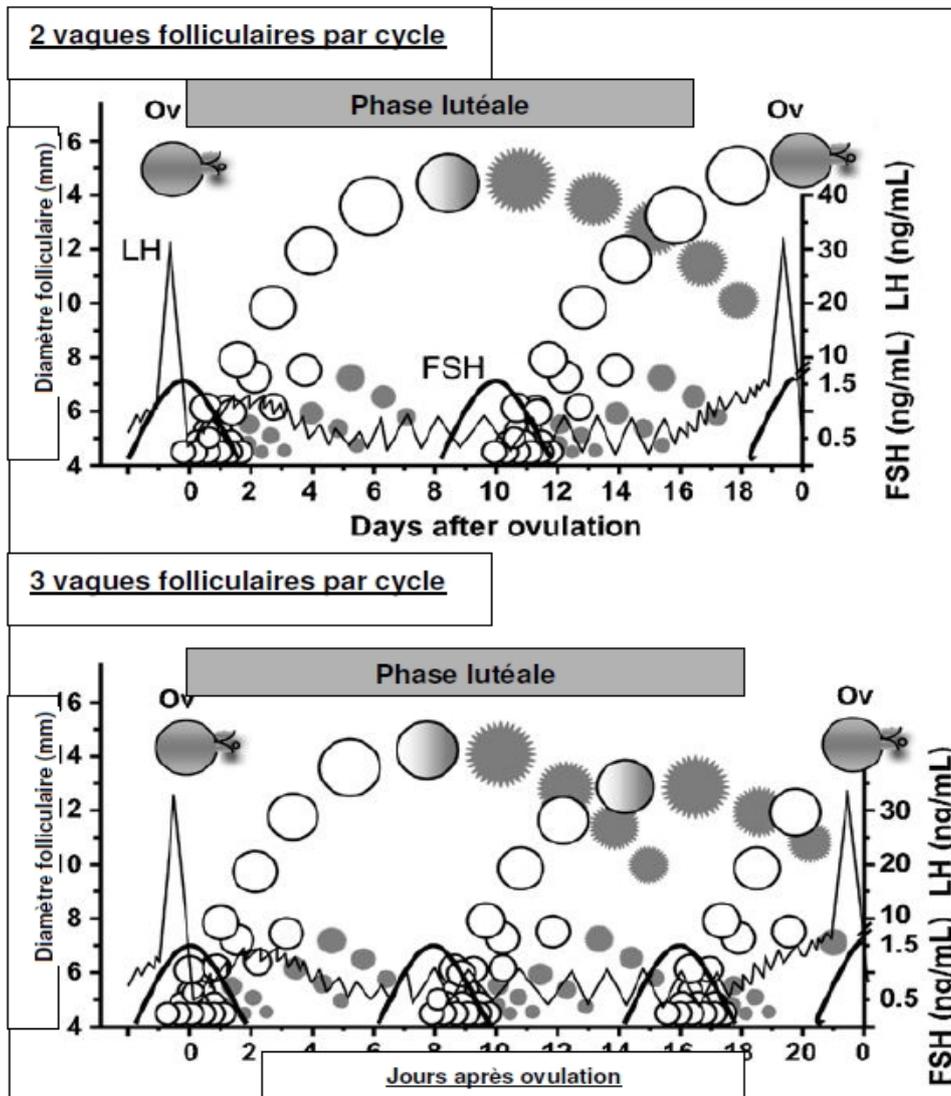


Figure 1 : Dynamiques de développement folliculaire et la sécrétion des gonadotrophines au cours des cycles oestral de deux et trois vagues folliculaires chez les vache. (Adaptée de Adams et al. 2008).

2. Historique par période de leur découverte

➤ De 1927 à 1986 :

Un article de Rajakoski (1960), très controversé par la suite, expose le fruit de ses observations histologiques effectuées sur des ovaires de vaches cyclées récoltés à l'abattoir. Rajakoski (1960) sera le premier à suggérer que le développement folliculaire chez la

vache se fait selon un cycle composé de deux vagues, où alternent des phases de croissance et d'atrésie des follicules.

➤ Années 1982-1983 :

Par des méthodes de dosage des hormones ovariennes dans l'artère ovarique ou dans le liquide folliculaire, Ireland et Roche (1983a) classifient les follicules antraux en deux catégories : les follicules sains, qui aboutissent à une ovulation ; les follicules non sains qui deviendront atrétiques.

Une concentration dans le liquide folliculaire plus importante en œstrogènes, un nombre de cellules de granulosa ainsi que de récepteurs à LH plus important sur ces cellules caractérisent les follicules sains (Ireland et Roche, 1983b).

➤ A partir de 1984 :

Jusqu'à l'apparition de l'outil échographique, les follicules s'observent sur des coupes histologiques, ceci rendant impossible l'appréciation de la dynamique de croissance ou de décroissance. L'application à l'étude de la physiologie ovarienne de la technologie des ultrasons conduit aux premières mesures de dynamique folliculaire et à l'observation de la croissance d'un follicule, puis son atrésie, suivie par un recrutement d'une nouvelle cohorte de follicules (Pierson et Ginther, 1988). L'échographie a ainsi grandement contribué à l'exploration et la compréhension de la dynamique folliculaire, en offrant la possibilité d'un suivi précis, répété et non invasif de chaque follicule au sein d'une vague (Adams et al., 2008).

➤ En 1987 :

Combinant les conclusions tirées précédemment à leurs recherches, O'Callaghan et Roche (1987) cité par Ireland et Roche (1987) aboutissent à la conclusion suivante : « Il se produit 3 cycles de croissance et décroissance avant l'ovulation d'un follicule dominant lors d'un cycle œstral chez la vache. Chaque cycle passe par des stades de sélection, dominance et d'atrésie ou d'ovulation, de manière identique à ce qui est déjà décrit lors du cycle menstruel chez les primates ».

3. Dynamique et étapes d'une vague folliculaire

Les étapes qui se succèdent lors d'une vague sont : le recrutement, la sélection, la dominance et finalement l'atrésie (cf. fig.2) ou l'ovulation suivie de la formation d'un corps jaune en fonction de la place de la vague folliculaire dans le cycle oestral .

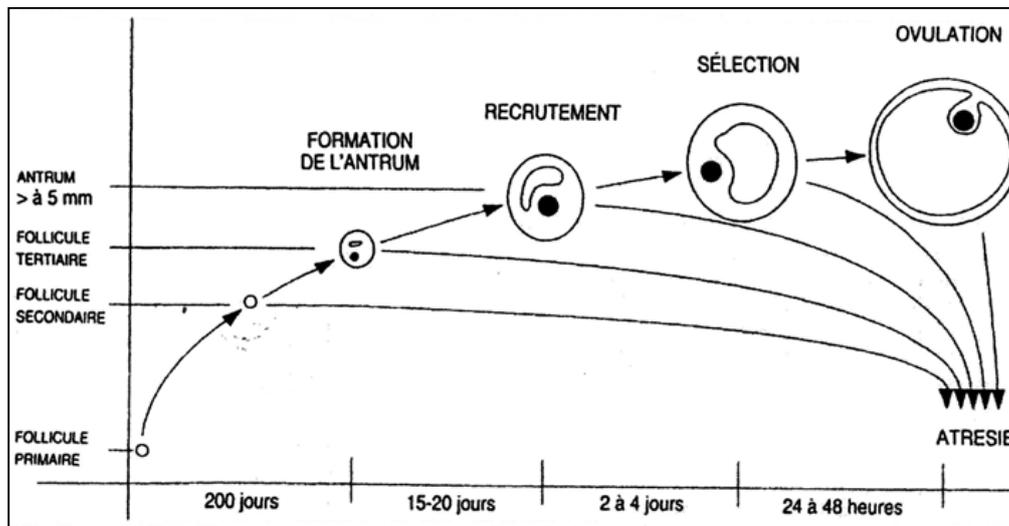


Figure 2 : Représentation schématique de la croissance folliculaire (Fiéni et al., 1995)

a. Recrutement

Le recrutement correspond à l'émergence d'une cohorte de follicules tertiaires entre J0 (ovulation) et J2 d'un cycle œstral. Cette étape marque le début d'une nouvelle vague folliculaire. Les follicules sont visualisés à l'examen échographique lorsqu'ils mesurent entre 4-5 mm (Ginther et al., 2001). L'émergence d'une nouvelle vague folliculaire est initiée par un pic de sécrétion de FSH. Après le retrait expérimental du follicule dominant par aspiration, on observe dans les 12 heures un pic de FSH et l'émergence d'une nouvelle vague folliculaire dans les 24 heures (Adams et al., 2008). Cette phase du cycle est caractérisée par sa « quasi indépendance » hormonale. Mise en évidence suite à l'observation qu'une croissance folliculaire précoce persiste après une hypophysectomie chez la brebis (Driancourt et al., 1987). Une complémentation des animaux hypophysectomisés en hormones gonadotropes a cependant démontré un recrutement plus efficace, c'est pourquoi leur rôle n'est pas nul. Une fois

recrutés, la dynamique des follicules est dépendante des variations hormonales qui conditionnent leur maturation jusqu'à stade de follicules pré-ovulatoires.

b. Sélection

Après le recrutement, suit une phase de sélection, ou de croissance, commune à certains follicules (au nombre de 7 à 11 généralement) qui permet de réduire au sein d'une cohorte le nombre de follicules primordiaux au quota ovulatoire spécifique d'une espèce (Ireland et al., 2000). La sélection est achevée lorsque le nombre de follicules sains d'une cohorte en cours de croissance équivaut au nombre de follicules qui ovuleront. Chez la vache, espèce mono-ovulante, on observe pendant la phase de sélection une divergence dans la croissance des deux plus grands follicules : ce moment correspond à la déviation. Généralement la déviation survient entre 60 et 62 heures après le recrutement, au moment où le plus grand follicule a atteint le diamètre de 8,5 mm (Ginther et al., 2001 ; Lopez et al., 2005a).

c. Dominance

La dominance est l'étape ultime dans le processus de croissance folliculaire. Elle est associée à l'amorce de la régression des autres follicules recrutés et au blocage du recrutement de nouveaux follicules (Driancourt *et al.*, 1991). Seul un follicule va acquérir les moyens de se développer dans un milieu pauvre en FSH. Il provoque l'atrésie des autres follicules 2 à 4 jours après le début de la vague folliculaire (Huyart, 2004). A cette période, le follicule est caractérisé par une taille plus importante pouvant atteindre jusqu'à 15 mm avant ovulation. Il s'agit de la phase LH-dépendante. En effet, le devenir du follicule dominant dépend de la fréquence des pics de LH.

On a ainsi deux cas de figure :

- si un corps jaune est présent : la fréquence de décharge de LH toutes les 3 ou 4 heures est insuffisante pour provoquer l'ovulation ; le follicule dominant devient atrétique.
- en l'absence de corps jaune fonctionnel, la fréquence de sécrétion de la LH est d'un pic par heure ce qui permet d'induire l'ovulation (Ennuyer, 2000).

d. Atrésie ou ovulation folliculaire

Quatre-vingt dix-neuf pourcent des follicules subissent une atrésie. L'avancement dans le cycle œstral (première, deuxième ou troisième vague folliculaire), l'environnement hormonal et plus précisément la concentration en progestérone dans laquelle évoluent les follicules déterminent l'avenir du follicule dominant. La sécrétion pulsatile de LH est régulée par les hormones stéroïdiennes et notamment la progestérone : de fortes concentrations de progestérone en cours de croissance folliculaire ont une action dépréciatrice sur la sécrétion pulsatile de LH (Lopez et al., 2005a). Ainsi en contexte de progestéronémie basse, la sécrétion pulsatile de LH est plus importante : la croissance et la dominance du follicule dominant s'exercent plus longtemps (Adams et al., 2008). C'est ce qui se produit au moment de la lutéolyse, la baisse de progestéronémie provoque une hausse de sécrétion pulsatile de LH culminant avec un pic de sécrétion pré ovulatoire.

Dès le moment de la déviation, la concentration en œstrogènes folliculaire baisse sensiblement dans tous les follicules, le follicule dominant compris. On parle de perte de dominance. Toutefois si la lutéolyse –lyse du corps jaune- avait eu lieu, les signes de vitalité du follicule dominant réapparaissent et l'ovulation a lieu (Rivera et Fortune, 2001).

e. Mise en place du corps jaune

Le corps jaune se forme immédiatement après l'ovulation : l'ovocyte est expulsé du follicule ovulatoire qui est alors transformé en corps jaune.

L'évolution du corps jaune peut se découper en trois temps :

- Une période de croissance de 4 à 5 jours pendant laquelle il est insensible à la prostaglandine F_{2α}
- Une période de maintien d'activité de 8 à 10 jours ;
- Enfin, s'il n'y a pas eu fécondation, une période de lutéolyse (environ à J17) d'abord brutale puis plus progressive en 24 à 48 heures.

Le corps jaune est constitué de deux types de cellules lutéales : les grandes cellules, issues de la granulosa, et les petites cellules, issues de la thèque interne. Chez les Ruminants, ces deux types cellulaires sont bien identifiables lors de la formation du corps jaune puis se mêlent pour former un tissu plus homogène (Drion et al., 1996).

Ces cellules sécrètent essentiellement de la progestérone mais, en fin de phase lutéale, les grandes cellules lutéales synthétisent une grande quantité d'ocytocine, hormone impliquée dans la lutéolyse (Fiéni et al., 1995).

II. Développement embryonnaire chez la vache.

Des rappels de physiologie de la reproduction chez la vache sont non seulement nécessaires pour comprendre les mécanismes sous-jacents de la MEP/MET et ses conséquences, mais permettront également de déceler les voies sur lesquelles il sera possible de trouver des traitements hormonaux ou d'autres traitements. Les phénomènes liés au développement embryonnaire pendant la vie libre de l'embryon, au moment de l'implantation et de la reconnaissance maternelle de la gestation, en relation avec le corps jaune (CJ) et la progesterone, seront particulièrement détaillés.

A. Vie embryonnaire libre

Le jour J0 est considéré comme le jour des chaleurs, la fécondation s'accomplit au jour J1 à la jonction de l'ampoule et de l'isthme de l'oviducte (Betteridge et Flechon, 1988, cités par Barre, 1992). Après la pénétration de l'ovocyte par le second globule polaire de l'ovocyte est expulsé à ce moment là. Une trentaine d'heures après la fécondation, il y a formation des 2 premiers blastomères. Cette étape est considérée comme critique pour le développement ultérieur de l'embryon (Poll, 2007). La mise en route du génome embryonnaire se produit à un moment précis du développement embryonnaire, au stade 8-16 cellules chez la vache. Tout retard à la mise en route de la lecture du génome embryonnaire met l'embryon en danger. Ces divisions aboutissent à la formation d'une morula (32-64 cellules) au jour J5 soit 3 à 4 jours après la fécondation. A ce stade, la plupart des embryons sont passés de l'oviducte dans l'utérus car l'embryon y pénètre trois jours après fécondation (Betteridge et Flechon, 1988, cités par Barre, 1992).

Le phénomène de compaction qui a lieu 5 à 6 jours après la fécondation (au stade 64 cellules) aboutit à la formation d'une cavité blastocoelique et à l'expansion du blastocyste. Les divisions suivantes sont asynchrones et aboutissent à la formation de deux populations cellulaires : l'une de petite taille appelée bouton embryonnaire et l'autre de grande taille appelée trophoblaste.

Le blastocyste est constitué d'une centaine de cellules entourée par la zone pellucide. L'expansion du blastocyste suite à l'accumulation de liquide provoque une augmentation de 60 % de son diamètre. La pellucide s'amincit jusqu'à provoquer sa rupture. L'éclosion se produit alors,

elle intervient vers le 9^{ème} -10^{ème} jour après fécondation. L'éclosion constitue une étape cruciale du développement.

La phase d'élongation commence vers le 12^{ème} -14^{ème} jour (*cf.* fig.3).



Figure 3: Embryon bovin en phase d'élongation recueilli à 16 jours de gestation. (Robinson et al. 2006).

Chez les ruminants, la durée de vie libre de l'embryon est relativement longue ce qui le rend plus dépendant des sécrétions utérines. A chaque stade du développement correspond un emplacement, l'embryon baignant dans des sécrétions dont la composition correspond à ses besoins.

La synchronisation entre l'embryon et l'utérus est très importante. En effet, un blocage ou un simple retard du développement embryonnaire peuvent entraîner la mort de l'embryon ou sa dégénérescence (Humblot et Dalla-Porta, 1984).

De même, un environnement utérin inapproprié compromet la survie embryonnaire : les travaux de Lawson *et al.*, 1983 (cités par Barre, 1992) montrent que la mise en place d'un embryon de 4 jours dans un utérus plus jeune conduit à un ralentissement de sa croissance alors que sa mise en place dans un utérus de 6 ou 7 jours provoque son accélération. Newcomb et

Rowson (1975), cités par Barre (1992), montrent que le développement embryonnaire normal n'est possible que s'il y a synchronisme entre le stade du blastocyste et celui de l'utérus.

L'environnement, par la modification des conditions qui s'y opère, produit une forte pression de sélection sur les embryons de telle sorte que seuls ceux qui se développent de façon synchrone peuvent survivre.

B. Implantation embryonnaire

Le début de la phase d'implantation est marqué par les premiers contacts entre l'épithélium caronculaire et l'embryon, s'établissent dès le 20^{ème} jour (King *et al.*, 1980, cités par Barre, 1992). Il s'agit d'une interaction entre l'utérus et le trophoblaste aboutissant à la formation des structures placentaires. Elle se déroule en plusieurs étapes : orientation et accolement du blastocyste à l'endomètre, apposition et adhésion. Chez les ruminants, l'allongement du blastocyste est crucial : ce dernier occupe la totalité de la cavité utérine au moment de l'implantation. Cet allongement participe à la reconnaissance maternelle de la gestation car il permet de mettre en contact le trophoblaste avec la totalité de l'épithélium utérin. L'ancrage définitif se fait par la mise en place d'un système d'interpénétration des microvillosités utérines et des cellules trophoblastiques. Pour que l'implantation réussisse, le synchronisme entre le stade de développement du blastocyste et celui de l'utérus est indispensable (*cf.* fig.1).

Le placenta commence à se former dans la région de l'embryon et s'étend dans un second temps vers chaque extrémité du blastocyste (King *et al.*, 1980, cités par Barre, 1992). Chez la vache, la placentation est de type épithélio-choriale.

Vers 22 jours, les vésicules optiques se forment ; suivent les bourgeons des membres à partir du 24^{ème} et 25^{ème} jours. La période foetale débute au 43^{ème} jour.

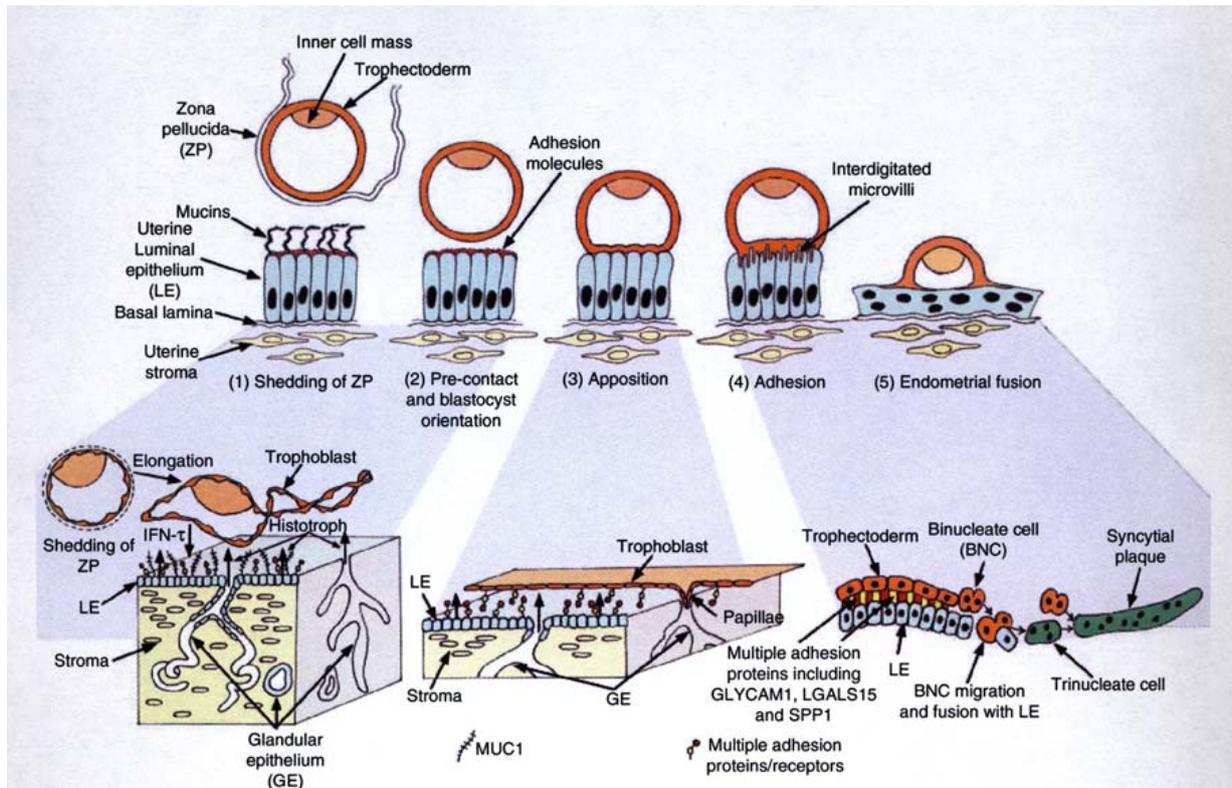


Figure 4: phase d'implantation du blastocyste chez les ruminants (Spencer et al, 2007)

Chez la vache, les expériences ont montré que l'implantation peut se faire en présence de progestérone et qu'elle ne peut se faire sans (Humblot, 1981). C'est pour cette raison que le CJ doit être conservé. Ainsi, tous les moyens nutritionnels qui permettraient de garantir un niveau élevé de progestérone au moment de l'implantation, ou qui pourraient inhiber la lutéolyse, devront être utilisés. L'aspect lié à la progestérone sera abordé par la suite dans une partie qui lui est dédiée.

C. Reconnaissance maternelle de la gestation

La reconnaissance de la gestation par la vache et la poursuite de la gestation soulèvent un problème majeur d'ordre physiologique qui est le maintien du CJ et la modification de son rôle cyclique en un rôle gestatif.

1. Corps jaune cyclique (rappel).

La durée de vie du CJ est brève chez la plupart des mammifères ainsi que sa régression, ou lutéolyse, intervient en permettant un nouveau cycle ovulatoire.

C'est par une transformation morphologique et fonctionnelle (lutéinisation) des cellules de la thèque interne et de la granulosa du follicule ovulant que se constitue le CJ, sous l'influence de l'hormone LH. Cette lutéinisation coïncide avec une augmentation très importante de la sécrétion de progestérone. Il y a colonisation de la cavité folliculaire par des vaisseaux sanguins. Les cellules thécales s'hypertrophient, se divisent et envahissent cette cavité. La synthèse d'oestrogènes diminue progressivement tandis que celle de progestérone augmente jusqu'au milieu du cycle sous l'effet de l'augmentation du nombre de récepteurs à la LH (Poll, 2007). Le CJ est constitué de 2 populations cellulaires différentes : des cellules de petite taille issues de la thèque interne et de plus grande taille issues de la granulosa. Ces dernières sont capables de synthétiser de l'ocytocine, de la relaxine et produisent 80 % de la progestérone synthétisée par le corps jaune au cours du cycle. Au cours des 10 à 12 premiers jours du cycle, la progestérone stimule la synthèse de phospholipides et leur stockage endométrial en vue de leur utilisation ultérieure dans la synthèse de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Elle est également responsable de l'inhibition de la synthèse de récepteurs à l'ocytocine par le myomètre. L'utérus devient petit à petit sensible aux oestrogènes, se traduisant par une augmentation du nombre de récepteurs à l'ocytocine. En outre, les oestrogènes favorisent la libération d'acide arachidonique des phospholipides puis sa transformation en prostaglandines de type F en agissant sur la phospholipase et le complexe prostaglandine-synthetase. Le corps jaune sécrète de l'ocytocine ce qui va stimuler la production endométriale de $\text{PGF}_{2\alpha}$.

En l'absence de fécondation, il y a lyse du corps jaune sous l'action de la prostaglandine $\text{PGF}_{2\alpha}$ produite par l'endomètre vers J16-J17 (*cf.* fig.5)

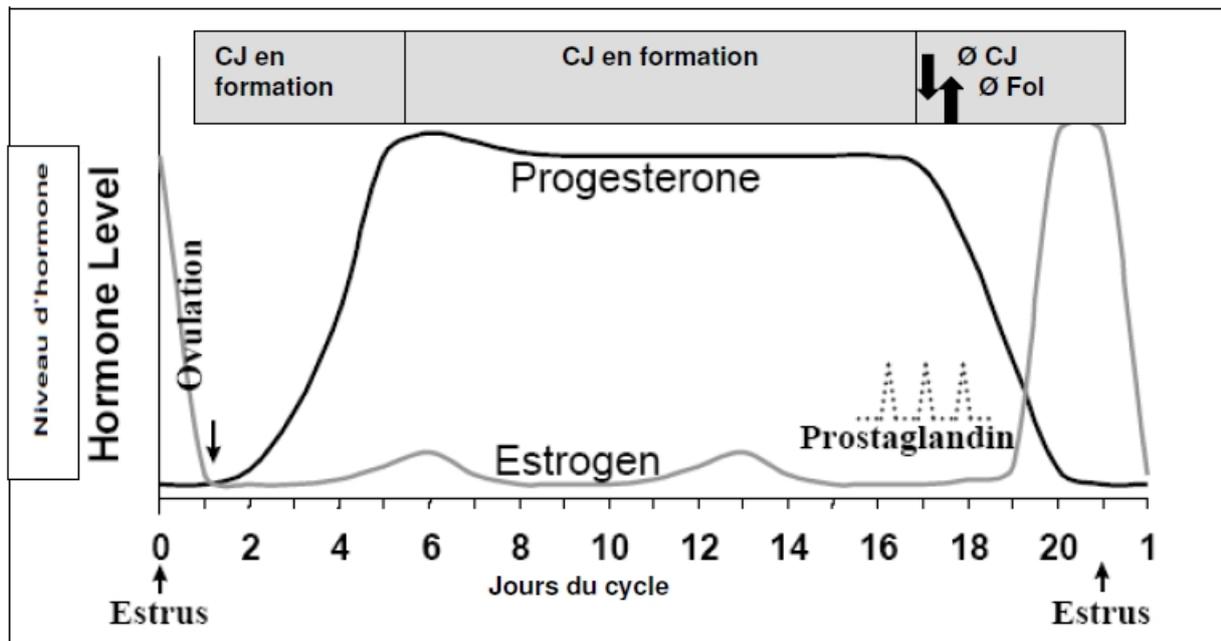


Figure 5 : Illustration du cycle œstral chez la vache (Adaptée de Geary, 2005).

2. Maintien du corps jaune par les signaux embryonnaires

La progestérone demeure nécessaire et importantes au maintien de la gestation chez les animaux de rente, la prolongation de la durée de vie du CJ par l'embryon est essentielle pour sa survie et l'établissement de la gestation (Northey et French, 1980). La sécrétion de progestérone d'origine lutéale est en effet indispensable pour empêcher les contractions utérines et pour maintenir un environnement utérin complexe essentiel au bon développement de l'embryon. Une ovariectomie réalisée chez la vache durant la première moitié de la gestation induit un avortement, ce qui met en évidence l'importance du CJ (Martal et Charlier, 1985).

La transformation du CJ cyclique en CJ gestatif suppose à la fois l'inhibition de la lutéolyse et le maintien de stimuli hormonaux lutéotropes. Chez les ruminants, cette transformation est assurée, d'une part, par une intervention de l'embryon qui bloque l'action lutéolytique de l'utérus, et, d'autre part, par le maintien de l'action lutéotrope d'hormones hypophysaires avec une contribution progressive, et plus ou moins importante, du placenta.

Le rôle majeur du conceptus sur le maintien du CJ a tout d'abord été mis en évidence chez les bovins par Northey et French (1980) ainsi que par Dalla-Porta et Humblot (1983, cités par Barre, 1992). Ils ont montré que le conceptus bovin a une action sur le CJ entre le 15^{ème} et le 17^{ème} jour (*cf.* fig.6). Le retrait de l'embryon avant le 16^{ème} jour n'influe pas sur le moment du retour en chaleurs, par contre l'administration intra-utérine de broyats d'embryons de plus de 16 jours conduit à un retour en chaleurs décalé (Northey et French, 1980).

Heymann *et al.* (1984), cités par Barre (1992), ont montré que le CJ pouvait être maintenu uniquement avec des vésicules trophoblastiques, il semble donc que le signal embryonnaire ait pour origine cette structure. Ce signal peut être soit lutéotrope et agir sur l'ovaire soit antilutéolytique et agir sur l'utérus ou l'ovaire.

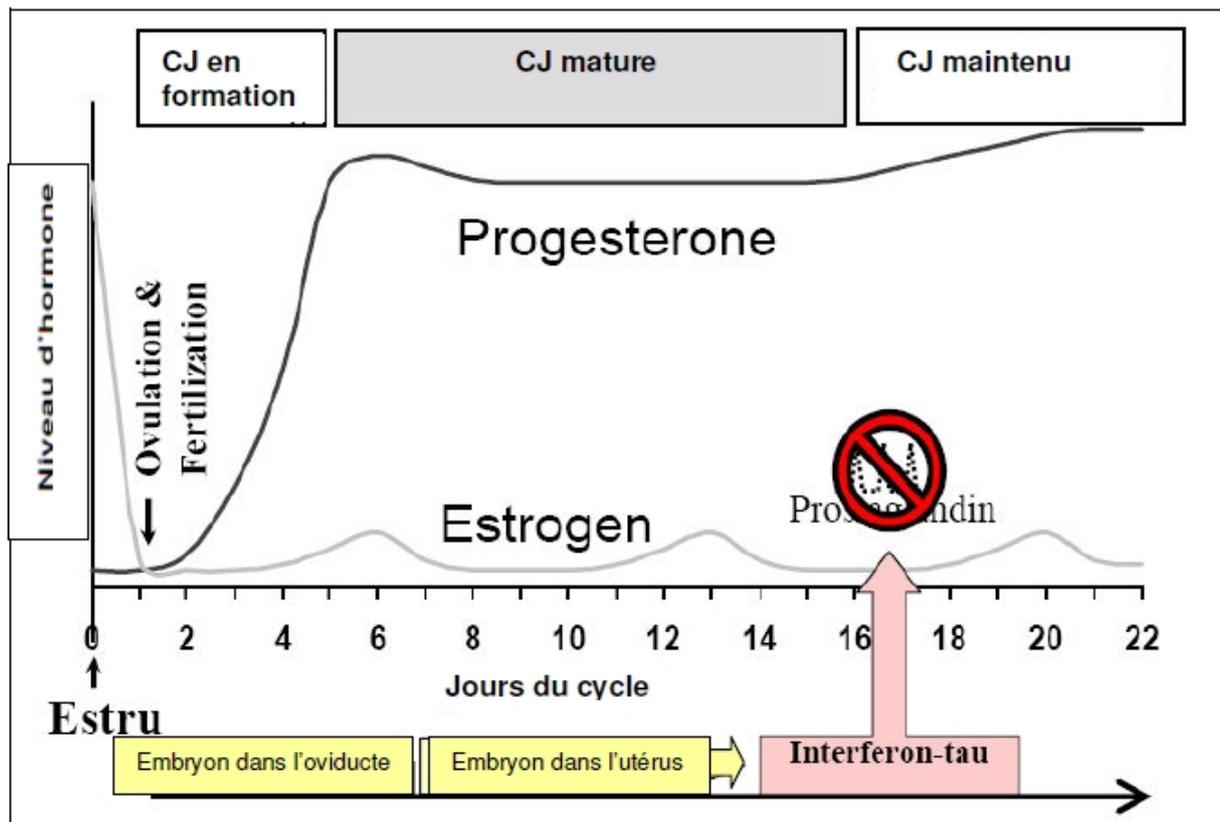


Figure 6: Illustration du début de la grossesse chez une vache (Adaptée de Geary, 2005).

3. blastocyste et son activité lutéotrope

L'activité lutéotrope du blastocyste a été mise en évidence par la découverte d'une gonadotrophine chorionique bovine d'origine placentaire par Beckers *et al.* (1988), cités par Barre (1992), capable de stimuler la sécrétion de progestérone par le CJ. En effet, Humblot (1981) a montré que la concentration de progestérone (CPROG) est plus élevée chez les femelles gestantes que chez les femelles cyclées à partir du 10^{ème} jour.

4. Activité antilutéolytique

Knickerbocker *et al.* (1986), cités par Barre (1992), ont montré que les protéines d'origine embryonnaire permettent le maintien du CJ. Gross *et al.* (1988) indiquent que les protéines du conceptus peuvent réguler la sécrétion des protéines endométriales et la synthèse de $\text{PGF}_{2\alpha}$ par l'endomètre. Le maintien du CJ se produirait donc par une atténuation de la production de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Knickerbocker *et al.*, 1986 ; Gross *et al.*, 1988). Ceci est confirmé par l'action du conceptus (maintien du CJ) prouvée par Northey et French (1980), qui se produit vers le 16^{ème} jour (juste avant l'augmentation de la production de $\text{PGF}_{2\alpha}$, observée en absence d'embryon).

Parmi ces protéines, l'une d'entre elles, produite par les cellules externes du trophoblaste, joue un rôle tout à fait particulier : la trophoblastine, ou interféron-tau (IFN- τ). La période de synthèse de la trophoblastine bovine est limitée à la phase péri-implantatoire de la gestation, soit entre J15 et J25. L'interféron bovin diminue la synthèse de $\text{PGF}_{2\alpha}$ ³ au niveau de l'utérus au moment de la lutéolyse (Leymarie et Martal, 1991), en inhibant le développement des récepteurs à l'ocytocine dans la lumière épithéliale (Robinson *et al.*, 1999), et en diminuant le niveau d'expression des enzymes impliquées dans la synthèse des prostaglandines (inhibition de l'expression de la PGHS-2, (Mattos *et al.*, 2003). Arosh *et al.* (2004) ont montré que la présence d'IFN- τ augmentait les niveaux d'expression de COX-2 (seulement dans l'endomètre), de PGES et de certains récepteurs des prostaglandines (EP2). L'IFN- τ n'influence pas l'expression de COX-1, des transporteurs des prostaglandines alors qu'il réduit celle de PGFS. Ainsi, l'IFN- τ augmente le ratio PGES/PGFS dans l'endomètre et le myomètre. Ces résultats indiquent que l'IFN- τ oriente le métabolisme des prostaglandines vers la synthèse de PGE au détriment de $\text{PGF}_{2\alpha}$.

Robinson *et al.* (2006) ont montré que l'augmentation de la teneur totale en IFN- τ dans l'utérus est majeure entre 14 et 18 jours après IA chez la vache (*cf.* fig.7Aa). En revanche, cette augmentation n'est pas accompagnée de changement significatif du niveau d'expression de cette protéine par le trophoctoderme (*cf.* fig.7Ab). Une fois l'élongation débutée, le niveau d'expression n'est pas modifié. Le niveau d'expression de l'IFN- τ n'est pas le facteur déterminant pour expliquer l'augmentation de la teneur d'IFN- τ dans l'utérus entre 14 et 18 jours après IA. Les mêmes auteurs ont mis en évidence que la sécrétion est très différente selon la taille du conceptus : plus le conceptus est de taille élevée, plus la sécrétion en IFN- τ est forte (*cf.* fig.7Ba). La quantité d'ARNm de cette protéine n'est pas différente selon la taille de l'embryon recueilli (*cf.* fig.7Bb).

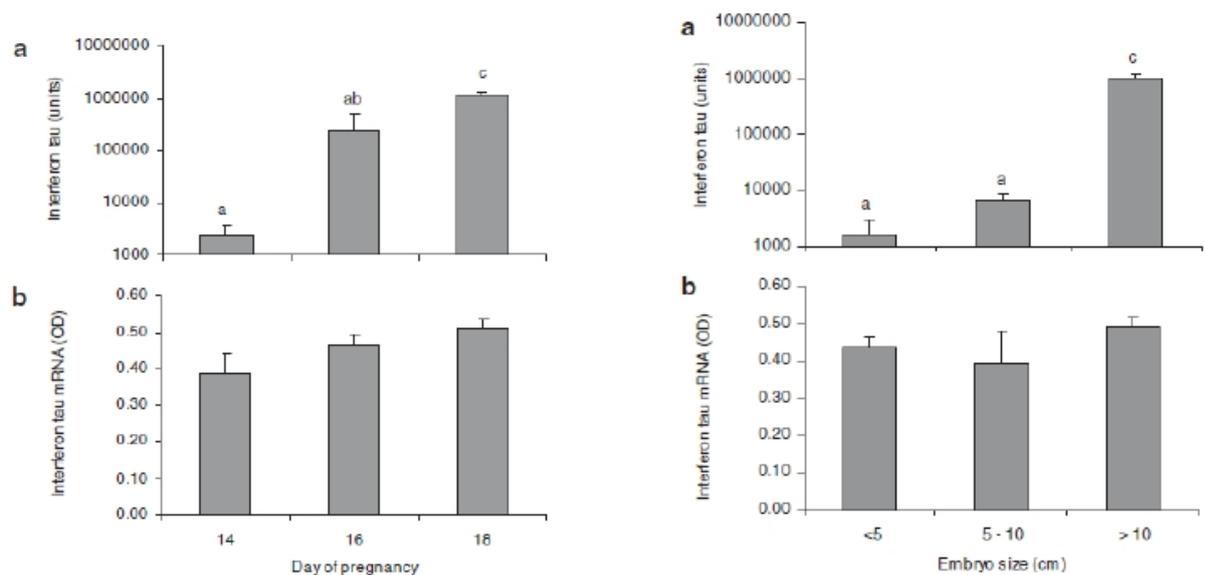


Figure 7 :

A - (a) contenu total utérin en IFN- τ et (b) niveau d'expression en ARNm IFN- τ par le trophoblaste recueilli 14 (n=4), 16 (n=3) et 18 (n=3) jours post-IA (moyenne \pm écart-type, ab $p < 0,05$; bc $p < 0,001$). Source : Robinson et al. (2006).

B - (a) contenu total utérin en IFN- τ et (b) niveau d'expression en ARNm IFN- τ par le trophoblaste selon la taille des embryons recueillis entre 14 et 18 jours post-IA. <5 cm (n=3), 5-10 cm (n=3), >10 cm (n=4) (moyenne \pm écart-type, ac $p < 0,001$). (Robinson et al. 2006).

Favoriser le développement de l'embryon est donc primordial. Cela permet une sécrétion suffisante d'IFN- τ , inhibant celle de prostaglandines, assurant ainsi le maintien du conceptus. Le blocage de la sécrétion de prostaglandines nécessite une élongation suffisante, que le conceptus occupe la majorité de la corne ipsilatérale au corps jaune au moment de la période critique (Binelli *et al.*, 2001). La lutéolyse peut intervenir malgré la présence d'embryons s'il n'est pas suffisamment développé.

D. Durée de vie du corps jaune et mortalité embryonnaire

Le retrait de l'embryon ou sa mort avant J16 sont suivis d'une ovulation dans un délai identique à celui d'une vache non inséminée, c'est-à-dire avant le 24ème jour post-insémination. En effet, une mort de l'embryon avant J16 ne lui a pas permis de libérer suffisamment de facteurs antilutéolytiques, et n'a pas donné à la mère un temps suffisant pour le reconnaître, se traduisant par une lutéolyse. Les effets et les impacts économiques de la MEP sont donc similaires à ceux engendrés par un échec de fécondation. En revanche, les pertes embryonnaires postérieures au 16ème jour de gestation s'accompagnent d'une lutéolyse différée par l'action des signaux embryonnaires de maintien du CJ (Martal et Charlier, 1985), d'un allongement du cycle de 6-7 jours minimum (Humblot, 1981) et d'un retour en chaleurs tardif pouvant se manifester entre J25 et J45. Les conséquences économiques de la MET sont plus dommageables que celles engendrées par la MEP.

E. Milieu utérin et évolution de l'embryon.

Les réserves de l'embryon sont limitées, c'est pourquoi il est nourri par diffusion à partir du milieu qui l'entoure. Les sécrétions tubaires et utérines dans lesquelles baigne l'embryon avant son implantation sont donc d'une importance considérable. Il est très vulnérable même s'il est capable d'une grande adaptation. Après implantation, il est nourri directement à partir du sang maternel et la perte d'embryon suite à cette étape est moins fréquente.

Le milieu maternel entourant l'embryon évolue pour satisfaire son métabolisme. Si ce dernier est modifié, ou si l'embryon n'est pas capable de s'y adapter, son développement peut alors être retardé, ce qui peut provoquer sa perte. Des expériences *in vitro* ont montré que l'embryon était sensible à des variations de pressions osmotiques, de pH, de pression oncotique et de température (Poll, 2007).

III. Incidence, importance et facteurs impliqués de la mortalité embryonnaire.

A. Définition

Au cours d'une gestation, la phase embryonnaire se définit par convention comme la période comprise entre la fécondation et la fin de l'organogenèse. La période fœtale couvre le reste de la gestation jusqu'au vêlage.

L'échec à l'insémination ou à la saillie peut relever de 2 grandes causes : l'absence de fécondation ou la ME.

La ME peut être strictement interprétée comme la perte du ou des produits issus de la fécondation au stade de l'embryon, c'est-à-dire la période depuis la fécondation jusqu'au début de la différenciation, qui chez la vache, s'opère 45 jours après fécondation (Ayalon, 1978). On peut distinguer deux types de mortalités embryonnaires :

1. Mortalité embryonnaire précoce (ou MEP)

consiste en la mort de l'embryon avant l'émission des signaux embryonnaires de maintien du CJ, soit avant le 16^{ème} jour de gestation. En pratique il est difficile de faire la distinction entre l'absence de fécondation et la MEP. L'absence de fécondation peut provenir d'une part d'une mauvaise synchronisation entre l'ovulation et l'insémination et d'autre part de l'échec de la fusion des gamètes mâle et femelle ;

2. Mortalité embryonnaire tardive (ou MET)

C'est la mort de l'embryon entre le 16^{ème} et le 45^{ème} jour de gestation.

B. Techniques et contraintes de quantification des mortalités embryonnaires

L'examen de tractus de vaches après abattage, à des temps différents après insémination peut donner des estimations de l'incidence des échecs de gestation (Ball, 1978). Seul l'abattage permet de récupérer dans les premiers jours suivant la fécondation l'ovocyte ou le jeune embryon avec une grande certitude par perfusion de l'oviducte. Cependant, seul un nombre limité d'animaux peut suivre cette démarche en raison du coût qu'elle demande. Elle est aussi limitée car une seule mesure par animal peut être réalisée (Ball, 1978). La perfusion de l'oviducte est possible par voie chirurgicale, mais la technique est invasive et moins sûre.

La vache étant une espèce mono-ovulante limite énormément l'utilisation de ces techniques expérimentales. L'abattage ou la perfusion de l'oviducte, bien que lourdes, sont les seules

méthodes qui permettent de différencier la NF de la MEP lors d'intervention dès le 3ème jour après la mise à la reproduction (collecte respectivement dans l'oviducte d'un ovocyte non fécondé ou d'un embryon). Après le passage de l'embryon dans l'utérus (vers J6 après fécondation), il est possible de récupérer l'embryon pendant sa vie libre par lavage de l'utérus par voie cervicale (jusqu'à J20 pour les équipes expérimentées).

Ces techniques précoces permettent non seulement de quantifier dès les premiers jours de gestation la mortalité embryonnaire mais également de réaliser des analyses complémentaires sur le conceptus récolté (évaluation morphologique, quantification de l'expression de gènes ou d'activité de synthèse).

Dans un contexte d'élevage, plus l'échec de gestation sera mis en évidence précocement, moins la fécondité sera dégradée puisque l'éleveur peut alors rapidement prendre la décision de remettre la femelle à la reproduction.

La proportion de vaches retournant en chaleurs et nécessitant une nouvelle insémination après un intervalle plus long qu'un cycle normal est souvent utilisée comme un indicateur de la MET (Kummerfeld *et al.*, 1978), dans les élevages où l'IA est une pratique courante. Cette méthode a l'avantage de fournir un grand nombre de données (Ball, 1978). En revanche, le retour en chaleur d'une vache dans un délai normal ne permet pas de distinguer les cas de MEP des cas de non fécondation.

Ce problème peut être résolu quand l'observation des chaleurs est associée à la mesure de progestérone du jour d'insémination jusqu'à 20 jours plus tard (Ball, 1978). Ces mesures fréquentes donnent de meilleurs résultats pour déterminer l'incidence et la période pendant laquelle des pertes d'embryon ont eu lieu. Le dosage de la progestérone peut être associé à ceux de la PSPB (pregnancy specific protein B) ou la PSP60 (Chene et Martal, 1996). Analysé tout d'abord au moment de la mise à la reproduction, le résultat du dosage de la progestérone donne des informations sur la phase du cycle à laquelle se trouve la femelle inséminée, soit en phase folliculaire donc possiblement en chaleurs, la quantité de P4 est inférieure au seuil de détection dans le plasma ou dans le lait, soit en phase lutéale donc non en chaleurs, la quantité de P4 est supérieure au seuil de détection dans le plasma ou dans le lait. Lors de l'analyse à 21-24 jours après l'insémination, un niveau bas de progestérone indique l'absence de gestation.

Fréret *et al.* (2006) déterminent les épisodes de NF-MEP et de MET selon les concentrations de progestérone dans le lait à J0 et J23, les retours et les résultats du constat de gestation :

- Des niveaux de progestérone dans le lait inférieurs à 2,5 ng/mL le jour de l'IA et à J23, associé à un retour régulier, évoquent un épisode de NF-MEP
- Un niveau de progestérone dans le lait inférieur à 2,5 ng/mL à J0, un niveau supérieur à 3,5 ng/mL à J23, et un retour décalé, évoque un épisode de MET.

Enfin, des examens par palpation, pour vérifier l'existence ou non du CJ peuvent être un appui au diagnostic. Des examens échographiques permettent également de mettre en évidence la survie ou la mort des embryons. La viabilité des embryons s'appuie sur plusieurs critères :

- Présence d'un embryon dont les battements cardiaques sont visibles.
- Mouvement de l'embryon ou du fœtus.
- Taille du conceptus compatible avec le stade de gestation.
- Présence d'un liquide amniotique clair.

Cela n'est possible qu'à partir de 22 jours post-insémination (Kastelic *et al.*, 1991).

C. Incidence et importance des mortalités embryonnaires

Après insémination, la ME est reconnue comme la cause majeure d'échec de reproduction en élevage (Ayalon, 1978 ; Kummerfeld *et al.*, 1978 ; Dunne *et al.*, 2000 ; Inskip et Dailey, 2005). Elle se traduit par un nombre moins important de nouveau-nés, d'une perte en lait (pour les élevages laitiers), d'un progrès génétique ralenti et d'une perte financière significative de revenu pour l'éleveur laitier (Dunne *et al.*, 2000) et pour l'éleveur de vaches allaitantes (Diskin et Sreenan, 1980). Elle entraîne également des coûts de réforme et de renouvellement anticipés, des charges financières liées aux traitements et aux mesures de prévention, qui ne se limitent pas aux seuls frais vétérinaires mais peuvent aller au-delà (Seegers, 1992). Les auteurs estiment que le taux de fécondation est compris entre 85 et 95 %, que ce soit chez des vaches laitières ou allaitantes, et que l'échec de fécondation survient dans environ 10 % des inséminations. Lorsque les problèmes associés à l'ovulation ou au transport de l'ovocyte dans l'utérus (anovulation, adhésions) sont comptabilisés, de 75 à 78 % des IA aboutissent à une gestation. Ainsi le taux de gestation suite à une IA devrait atteindre idéalement 75-80 % (Inskip et Dailey, 2005). Pourtant le taux de gestation est d'environ 55 % (Diskin et Sreenan, 1980).

1. Non fécondation (ou NF)

L'insémination des vaches au mauvais moment concerne en moyenne 4 à 5 % des vaches laitières mises à la reproduction mais cette fréquence est très variable entre élevages (Fréret *et al.*, 2005).

2. Mortalité embryonnaire précoce

Hawk (1979), cité par Inskeep et Dailey (2005), estime que la ME interviendrait dans 15 % des inséminations. Sreenan et Diskin (1986), cités par les mêmes auteurs, concluent qu'une grande partie des pertes de gestation est due à la MEP. Une grande part des pertes de gestation a lieu durant la période embryonnaire, c'est-à-dire dans les 42 premiers jours après insémination (Inskeep et Dailey, 2005).

Les pertes d'embryon compteraient pour 30-40 % des pertes post-fécondation. Outre les avortements d'origine pathologique, les cas de mortalités foetales chez les bovins (estimées au-delà de 45 jours après la gestation jusqu'à la mise bas) sont très faibles, de l'ordre de 5 %. Il en résulte donc que les mortalités embryonnaires correspondent quasiment aux $\frac{3}{4}$ des échecs de gestation (Chene et Martal, 1996).

La fréquence de la MEP est très variable : entre 11,0 % à 81,6 %, pour une moyenne de 36,6 %, tout pays et toutes races confondus (*cf.* tableau II). Cette large fourchette peut être expliquée notamment par les différences de méthodologie utilisée et par des conditions d'échantillonnage propre à chaque étude réalisée dans des pays différents et pour des races différentes. En France, la fréquence de la mortalité embryonnaire précoce varie de 25 à 45 % pour les vaches laitières Prim'Holstein (*cf.* tableau II). Dans la plupart des études, elle ne peut être différenciée de la non fécondation, il s'agit donc d'une fréquence cumulée NF + MEP. Quand les pertes très précoces sont cumulées (NF+MEP), elles apparaissent quantitativement plus importantes que les MET et concernent le plus souvent plus d'un tiers des échecs après insémination.

Il est important de comprendre les raisons pour lesquelles ces pertes embryonnaires persistent, malgré la mise en oeuvre de moyens pour y faire face (Wilmot *et al.*, 1986). De plus, de cette connaissance pourrait émerger des applications utilisables pour accroître la survie des embryons, notamment pour le transfert d'embryons, et les biotechnologies qui s'y rattachent. La question est donc de savoir à quel moment ont lieu les pertes de produits de conception et quels sont les facteurs impliqués.

Tableau II : Fréquence de mortalité embryonnaire précoce chez les vaches laitières.

Année	Pays	Types de vache	Méthodes	Effectifs	Fréquence (%)	Références
1978	Israël	VL	Abattage	18	11	Ayalon, 1978
				20	20	
				21	43	
1986		PH		1063	25,8*	Humblot, 1986 ; Humblot, 2000
		Normande		1001	20,5*	
		Montbéliarde		622	25,5*	
1989	France	PH		753	43,6*	Fournier et Humblot, 1989 ; Humblot, 2000
1991				177	35,6*	
				119	37*	
2000		PH	Observation des chaleurs et dosages hormonaux	1395	31,6*	Humblot, 2001 ; Grimard et al., 2006 ; Pinto et al., 2000
2001	France (Réunion)			847	36,8*	Tillard et al., 2001
2002	France	Normande / PH		882	37,76*	Michel et al., 2003
2002-2003	Irlande	Holstein américaine		78	43*	Horan et al., 2005
		Holstein NZ		78	32*	
2004				269	37,2*	Fréret et al., 2005
2004-2005	France	PH		234	45,3*	Ledoux et al., 2006
				4066	36,5*	
2002	Wisconsin (EU)	Vache en lactation	Lavage utérin	38	81,6	Sartori et al., 2002
				41	47,2	

MEP : Mortalité Embryonnaire Précoce ; * % englobant non-fécondation et MEP ; VL : Vache Laitière ; EU : Etats-Unis ; PH : Prim'Holstein ; NZ : Nouvelle Zélande

3. Mortalité embryonnaire tardive

Lorsqu'elle est mesurée en élevage, la fréquence des MET paraît moins élevée que celle de l'ensemble NF-MEP. Elle concerne environ 15% des inséminations et représente 30 % du total des pertes embryonnaires. Des estimations du taux de MET chez les vaches laitières sont comprises entre 10 et 12 % selon les études. En revanche, la MET chez les vaches allaitantes et les génisses laitières avoisinerait entre 2 et 6 % (Inskeep, 2004). Silke *et al.* (2002) observent une perte du conceptus entre les jours 28 et 84 de gestation de 7,2 % pour les vaches et de 6,1 % chez les génisses. Environ la moitié des pertes (47,5 %) est survenue entre les jours 28 et 42 de gestation, en accord avec les résultats observés par Vasconcelos *et al.* (1997), cités par Silke *et al.* (2002). La moitié des embryons perdus dans le 2ème mois de gestation le sont entre les jours 28 et 42 de gestation. Ces derniers rapportent que Smith et Stevenson (1995) ont montré que la MET s'élevait à 16 %, alors que Vasconcelos *et al.* (1997) ont évalué les pertes de conceptus entre le 28ème et le 98ème jour de gestation à 20 %. L'incidence de ces pertes est néanmoins élevée. Les

pertes tardives contribuent davantage à la dégradation de la fécondité que les pertes précoces du fait du retard pris pour la remise à la reproduction et du risque de réforme encouru.

D. Période critique des mortalités embryonnaires

Il a été suggéré que la plupart de ces pertes avaient lieu avant J15 (Ayalon, 1972, cité par Diskin et Sreenan, 1980).

Pour déterminer à quelle période survient le plus souvent la ME, Diskin et Sreenan (1980) ont utilisé 256 génisses allaitantes, dont 119 pour établir le taux de fécondation et le taux de survie des embryons à J4, J8, J12 et J42 (post-insémination), et 127 pour les mêmes paramètres à J8, J12, J16 et J42 (*cf.* tableau III et IV respectivement).

Tableau III : Taux de fécondation, de survie embryonnaire à plusieurs jours post-insémination chez des génisses. (Diskin et Sreenan 1980).

	Jour après insémination			
	4	8	12	42
Nombre de génisses inséminées	35	18	37	29
Nombre de génisses avec embryons (%)	30 (86)	16 (89)	22 (59)	16 (55)
Taux de fécondation en %	90	88	82	-
Nombre d'embryons viables	27	14	15	14
Taux de survie des embryons* en %	100	100	45	58

Le taux de survie des embryons est égal au rapport du nombre des embryons viables sur le nombre d'embryons attendus. Le nombre d'embryons attendus repose sur le taux de fécondation global enregistré aux jours 4 et 8 au sein de chacune des deux expériences.

Les taux de collecte d'embryons à J4 et J8 sont similaires et sont significativement plus importants qu'à J12 et J42. Les taux de survie des embryons sont plus faibles à J12 et 42 qu'à J4-8.

Tableau IV : Taux de fécondation, de survie embryonnaire à plusieurs jours post-insémination chez des génisses. (Diskin et Sreenan1980).

	Jour après insémination			
	8	12	16	42
Nombre de génisses inséminées	26	18	39	44
Nombre de génisses avec embryons (%)	25 (96)	13 (72)	24 (62)	25 (57)
Taux de fécondation en %	92	92	100	-
Nombre d'embryons viables	20	9	23	23
Taux de survie des embryons en %	87	56	66	53

Les taux de survie des embryons pour J12, 16, et 42 sont similaires statistiquement mais sont significativement plus faibles que celui à J8 ($p < 0,05$).

Si les données des deux expériences sont rassemblées, le taux de fécondation est le même pour les deux essais, et la proportion globale d'ovocyte fécondé à J4 et J8 est de 90 % (64/71). Cette étude indique que les échecs de fécondation comptent pour 10 % des échecs de reproduction. Le taux de survie estimé est de 100, 92, 51, 66 et 58 % pour les jours 4, 8, 12, 16 et 42 respectivement. La ME participe donc à hauteur de 30 % des échecs de gestation. Les taux de survie à J16 et J42 sont proches ce qui indique que la plus grande part des pertes embryonnaires survient entre le 8^{ème} jour et le 16^{ème}.

Ceci semble en accord avec les résultats de Dunne *et al.* (2000), qui ont montré que la majorité des pertes se produisent avant J14. Ils sont en désaccord avec ceux obtenus par Ayalon (1972), qui observe des différences significatives entre les taux de fécondation et les taux de survie embryonnaire seulement à partir de J16, et les travaux de Maurer et Chenault (1983), qui ont suggéré que la plupart des pertes embryonnaires s'opérait avant le jour 8.

La fréquence de NF-MEP dans l'étude de Fréret *et al.* (2006) est estimée à 37,2 % en IA, alors que la fréquence de MET est évaluée à 20,2 %.

E. Dégradation de la situation

Il apparaît que l'incidence de la MEP est plus importante chez les vaches laitières hautes productrices actuelles et qu'une proportion supérieure des embryons est perdue avant le septième jour suivant l'insémination (*cf.* fig.8).

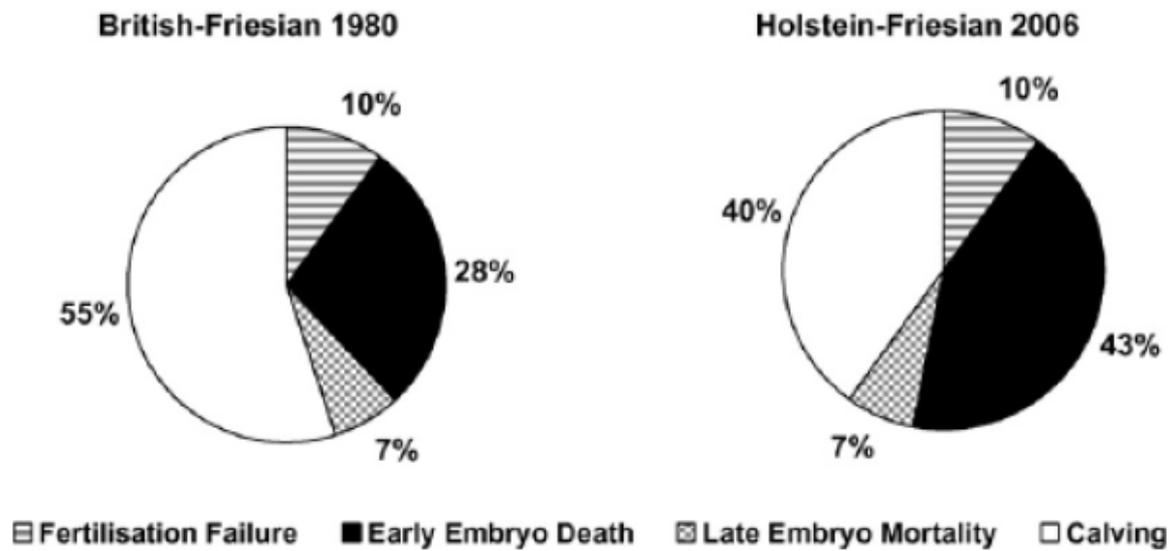


Figure 8: Quantification des échecs de reproduction (sur 100 IA) et leurs évolutions entre 1980 et 2006. (Diskin et al.2006).

F. Facteurs de variation

Wiebold (1988) identifie 3 facteurs responsables de la ME :

- Un facteur d'ordre génétique
- Une stéroïdogenèse ovarienne inappropriée, un signal embryonnaire insuffisant pour le maintien du CJ, ou un stress hormonal affectant l'axe hypothalamo-hypophysaire ou la fonction ovarienne (facteurs maternels).
- Des changements délétères de l'environnement de l'oviducte et/ou de l'utérus offre une troisième explication pour la ME (facteurs environnementaux).

1. Facteurs génétiques

Les facteurs génétiques comprennent les facteurs gamétiques et les facteurs embryonnaires. Comme le zygote dérive des gamètes, des erreurs dans la formation ou les fonctions de l'ovocyte et du spermatozoïde peuvent altérer la survie de l'embryon. La compétence de l'ovocyte peut être altérée par de nombreux facteurs. Ils peuvent affecter directement le développement de l'ovocyte ou bien empêcher les cellules folliculaires de remplir leur rôle. Le spermatozoïde apporte à l'embryon des caractéristiques qui conditionnent sa capacité à se développer. L'impact du mâle sur la ME est cependant mal connu. Un sperme de mauvaise qualité favoriserait la MEP (Poll, 2007). L'embryon peut être anormal en raison de défauts à l'échelle du gène (mutation de toute sorte). Des altérations au niveau des gènes codant pour l'IFN- τ pourraient conduire à une sécrétion insuffisante, voire inexistante, ou à un stade embryonnaire inadéquat. Wiebold (1988) indique que la ME peut être due à la présence de gènes létaux dans le conceptus ou de structures anormales. La fréquence des gènes létaux est estimée à 6 % chez la vache, les pertes qui y sont associées peuvent aussi bien intervenir précocement que tardivement dans la période embryonnaire (Inskeep et Dailey, 2005). Des anomalies peuvent porter sur le chromosome (anomalies de nombre, rares, de structure, plus fréquentes) : elles seraient responsables de 20 % des cas de ME et foetale (Ducos, 2003 ; cité par Poll, 2007).

Snijders *et al.* (2001), cités par Silke *et al.* (2002), ont mis en évidence que l'accroissement des index génétiques laitiers était associé à une réduction des performances de reproduction. Ils ont montré que les vaches dont l'index laitier était élevé présentaient de plus faibles taux de conception en première, seconde et quatrième IA comparé aux vaches de valeur génétique moyenne. Ils ont aussi montré que les ovocytes prélevés sur les animaux de haute valeur génétique produisaient moins de blastocystes *in vitro* par rapport aux ovocytes prélevés sur les animaux de valeur génétique moyenne.

2. Facteurs maternels

Les facteurs maternels sont nombreux. Un niveau de progestérone post-ovulatoire insuffisant, des anomalies de cyclicité après vêlage, les maladies telles que les rétentions placentaires, mammites ou métrites, peuvent être responsables d'une stéroïdogénèse ovarienne inappropriée, ou d'un stress hormonal affectant l'axe hypothalamo-hypophysaire ou la fonction ovarienne.

Roche (2006) rapporte que les vaches qui souffrent d'hypocalcémie, cétose, acidose ou de déplacement de la caillette présentent une diminution des taux de conception en IA1, demandent davantage d'IA pour établir une gestation. Ces maladies métaboliques sont des facteurs de risque pour l'installation de maladies gynécologiques pendant la période postpartum et notamment durant l'involution utérine. Ainsi, il est évident qu'une alimentation inappropriée pendant le tarissement et en début de lactation peut avoir un impact négatif sur la reproduction.

L'étude (Ponsart *et al.*, 2006) a montré qu'à 60 jours de lactation, une augmentation du rapport TB/TP est associée à une augmentation de la ME précoce. Une augmentation de ce rapport peut être le résultat d'une augmentation du TB, reflet d'une lipomobilisation importante, ou d'un TP bas. Une forte lipomobilisation et un TP faible résultent d'un seul et même phénomène : une carence énergétique dans les 60 premiers jours de lactation. De plus, la même étude révèle que le profil de la courbe laitière influence le taux de MET. La MET a été augmentée à la fois chez des femelles présentant un pic de lactation précoce et peu marqué, avec des taux élevés, correspondant à des femelles plutôt grasses, et dans le profil caractéristique des multipares, avec un pic précoce et très élevé associé à des TB faibles.

Santos *et al.* (2009) n'ont pas mis en évidence d'association entre la production laitière et la survie de l'embryon. La note d'état corporel et sa variation depuis le vêlage jusqu'au jour de l'insémination sont des indicateurs importants pour l'établissement d'une gestation et son maintien chez les vaches laitières fortes productrices. L'amélioration de la fertilité passe par des programmes nutritionnels permettant de minimiser la perte de poids en début de lactation, tout en limitant l'engraissement durant le tarissement.

De nombreuses études ont mis en évidence l'association entre une production laitière élevée et un faible taux de conception (Royal *et al.*, 2000). Ces auteurs suggèrent que les effets de cette production sur la fertilité s'exercent vraisemblablement sur l'embryon à son stade précoce, au cours de ses 2 premières semaines de vie. Une fois qu'il est installé, la survie de l'embryon ne semble pas affectée par le niveau de production laitière (Silke *et al.*, 2002).

3. Facteurs environnementaux

Fréret *et al.* (2006) ont montré que le taux de vaches présumées pleines à J21 et ne présentant pas de NF-MEP a été de 69 % dans les élevages utilisant systématiquement le contrôle d'involution. L'utilisation occasionnelle de ce contrôle ou son absence réduisent significativement les résultats de reproduction (65,5 % et 62,1 % respectivement). L'incidence de NF-MEP a été plus faible lorsque la contention lors de l'IA a été jugée bonne. Les moyens qui permettent une bonne contention pendant l'IA sont donc indispensables pour minimiser l'incidence de la ME : box avec cornadis, couloir avec anti-recul, étable entravée, logette avec vache tenue par l'éleveur... Ainsi, certaines pratiques d'élevage, qui constituent l'environnement de l'animal, influencent la survie de l'embryon. D'autres facteurs environnementaux exercent une influence sur les performances de reproduction.

4. Facteur nutritionnel

a. Alimentation énergétique

Le statut métabolique de la vache, s'exprimant par son état d'embonpoint, affecte la survie embryonnaire. En effet, une balance énergétique négative entraînerait une concentration en progestérone plus faible et donc augmenterait les pertes embryonnaires (Hanzen *et al.*, 1999). D'après Ayalon (1978), une sous-alimentation diminue les concentrations plasmatiques en progestérone ainsi que la proportion de génisses avec un ovocyte fécondé d'aspect normal. Cependant, la relation existante entre l'énergie contenue dans l'alimentation et la mortalité embryonnaire ne s'expliquerait pas seulement par le taux de progestérone.

Par exemple, Enjalbert (2003) constate que chez les génisses une suralimentation avant insémination suivie d'une sous-alimentation diminue sensiblement le taux de survie des embryons sans modifier la progestéronémie.

b. Impact de la note d'état corporel

Chez la vache laitière, les taux de vêlage après insémination sont proches voire inférieurs à 50%. Pourtant, plusieurs expériences ont démontré que les taux de fécondation étaient supérieurs à 80% (jusqu'à 90%) (Disenhaus *et al.*, 2005; Ponsart *et al.*, 2007). Hormis les cas d'avortement d'origine pathologique, les cas de mortalité foetale chez les bovins sont peu nombreux (5%). En revanche, 30 à 40 % des embryons meurent après fécondation (Ponter *et al.*, 2005). D'autres auteurs mettent en évidence la relation entre note d'état corporel et mortalité embryonnaire.

i. Note d'état corporel, non-fécondation et mortalité embryonnaire précoce

La mise à la reproduction trop précoce d'animaux dont l'état corporel est trop dégradé ou pas encore stabilisé augmente donc le risque de mortalité embryonnaire. Dans l'étude de Freret *et al.* (2005), la perte d'état entre 0 et 60 jours post-partum a eu un effet sur le taux de non fécondation-mortalité embryonnaire précoce (NFMP). Ce taux est de 41,7% pour une perte supérieure à un point, contre 29,8% lorsque la perte est inférieure à un point. Remarquons qu'aucune relation n'a été observée dans cette étude entre la note d'état au vêlage et les performances de reproduction après insémination artificielle.

Par ailleurs, Pinto *et al.* (2000) mettent en évidence un taux de gestation plus élevé dans la classe de vaches présentant un taux protéique (TP) supérieur à 30g/kg par rapport aux autres femelles (47,1% et 41,3% respectivement). Ceci est lié à une diminution des taux de NF-MEP pour les animaux de cette classe (28,6% et 32,8% pour la classe TP bas).

ii. Note d'état corporel et mortalité embryonnaire tardive

Les études montrent là encore un effet néfaste d'un mauvais état corporel (excessif ou insuffisant) sur la mortalité embryonnaire. Les taux de MET sont plus faibles chez les vaches maigres ou en état correct que chez les vaches grasses au moment de l'insémination, avec respectivement 13,5%, 15,1% et 24,5% de MET (Froment, 2007).

De nombreux auteurs mettent alors en évidence le rôle prépondérant du déficit énergétique sur le taux de MET. Le suivi de la note d'état en post-partum est alors important car le risque de mortalité embryonnaire tardive est multiplié par 2,4 pour chaque unité d'état corporel perdu durant le premier mois de lactation (Lopezgatus et al., 2002). De même, Grimard et al. (2006) observent qu'il y a plus de mortalité embryonnaire tardive lorsque les vaches ont des notes d'état au vêlage et à l'insémination supérieures à 2,5 ($P < 0,05$). Se basant sur une étude similaire, Humblot (2001) souligne l'existence d'une interaction entre la note d'état corporel et la mortalité embryonnaire (cf. fig.9). Pinto et al. (2000) rapportent aussi que la NEC est un facteur exerçant un effet très marqué sur la mortalité embryonnaire tardive.

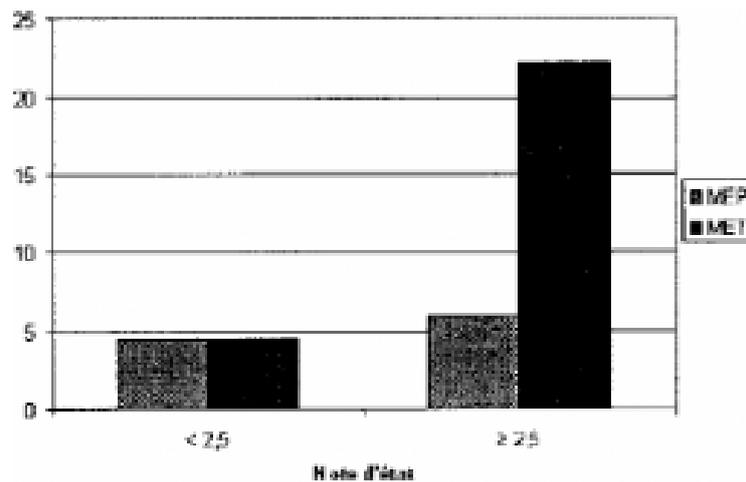


Figure 9: Relation note d'état/ ME (Humblot, 2001).

c. Alimentation azotée

Dans les conditions normales, l'ammoniac est le résultat de la dégradation ruminale de l'azote. Il est ensuite transformé en urée dans le foie de façon presque totale ce qui correspond à sa détoxification (Poll, 2007). Cependant, l'augmentation de protéines dégradables dans le rumen constituerait un risque d'augmentation de la concentration en ammoniac et donc de l'urée plasmatique et urinaire. Enjalbert (2003) observe l'existence d'une relation négative entre la fertilité et l'urémie. En effet, les vaches avec MET ont en moyenne une urémie supérieure à celle de vaches gravides, puis le taux de mortalité embryonnaire est sensiblement plus élevé lors de la distribution de la ration la plus riche en azote (cf. fig.10).

d. Alimentation minérale et vitaminique

Cela se produit lors d'un défaut d'apports dans la ration ou alors ces déficits sont dus à des carences secondaires. L'implication du cuivre est signalée pour la mortalité embryonnaire. Ainsi, une supplémentation de magnésium, manganèse, fer, cuivre et zinc sous forme organique diminuerait les mortalités embryonnaires précoces (Enjalbert, 2003). Une carence en vitamine A favorise également la mortalité embryonnaire (cf. tableau V).

Tableau V: Principales relations entre alimentation et troubles de la reproduction (Enjalbert, 2003)

Troubles	Élément invoqué
Anoestrus et baisse d'activité ovarienne	Déficit énergétique Déficit en phosphore
Défaut de fécondation Mortalité embryonnaire	Fortes carences en énergie et azote Excès d'azote (surtout dégradable) Déficit en phosphore et oligo-éléments
Avortements Mortinatalité	Carences en iode et vitamine A Excès d'azote

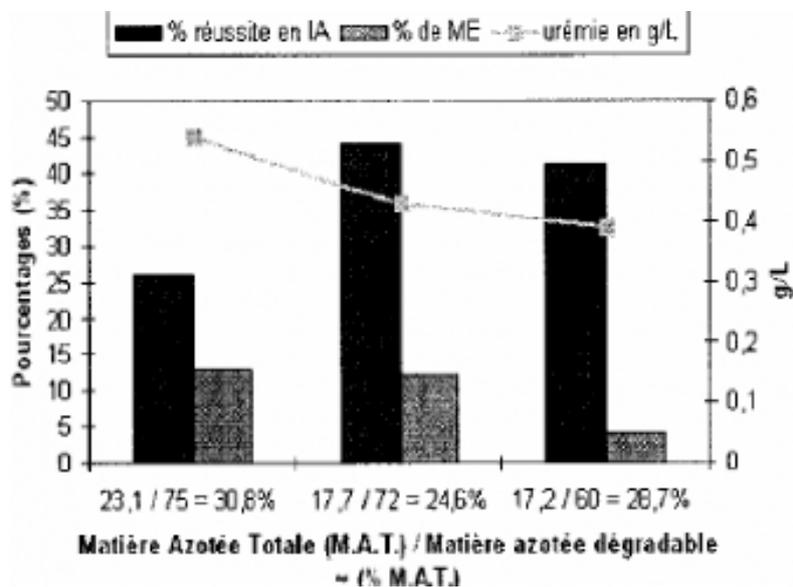


Figure 10: Relation entre la quantité, la nature des matières azotées et la reproduction. (Enjalbert, 2003)

5. Facteur climatique

Un stress thermique post-insémination a des effets désastreux, comme le montre une étude faite sur des génisses, exposées à une température de 32°C pendant 72 heures immédiatement après insémination. Aucune des génisses ne devient gestante, comparé au taux de conception de 48 % de génisses exposées à une température de 21°C (Dunlap et Vincent, 1971, rapporté par Ayalon, 1978).

Le stress thermique est aussi connu comme une cause d'altération de la qualité des ovocytes (Sartori *et al.*, 2002). L'augmentation de la température favoriserait l'absence de fécondation et/ou la mortalité embryonnaire précoce par défaut de développement embryonnaire (Wolfenson *et al.*, 2000). A contrario, deux études ont montré que la fréquence de MET diminuait en été par rapport à l'hiver (Fournier et Humblot, 1989 ; Grimard *et al.*, 2006). Du fait de l'hyperthermie associée, un processus infectieux (Maillard et Chastant-Maillard, 2002) et/ou inflammatoire (Fournier et Humblot, 1989 ; Hanzen, 2001) favorise aussi l'arrêt de la gestation à tous les stades (indépendamment de l'embryotoxicité propre de l'agent pathogène).

6. Facteur environnement utérin

L'exemple des vaches repeat breeders (RB) montre la relation qu'il existe entre le conceptus et son environnement. Chez les vaches RB, plusieurs hypothèses pourraient expliquer leur retour en chaleur à un intervalle normal : la ME pourrait intervenir avant J16, l'embryon ne pourrait pas émettre le signal embryonnaire nécessaire à son maintien, ou encore la mère pourrait ne pas recevoir ce signal (Gustafsson et Larsson, 1985).

Le taux de survie des embryons est plus faible chez les RB par rapport aux vaches normales. L'absence de tissu embryonnaire chez 30 % des RB à J16-J17 indique qu'une dégénérescence précoce des embryons a eu lieu chez ces animaux. 5 des 6 embryons transférés de RB à des vaches normales survivent, alors que seulement 2 des 9 embryons transférés de vaches normales à RB survivent. Ceci indique une capacité réduite des utérus des vaches RB à supporter un développement embryonnaire, et que l'environnement utérin de ces vaches exerce une influence négative sur la survie de l'embryon.

Lamothe et Guay (1970), cités par Ayalon (1978), ont comparé la composition de sécrétions endométriales de vaches (cyclées) normales et RB. Les RB ont des concentrations utérines de

Na⁺, P, glucose et de protéines totales plus faibles que les vaches normales, alors que celles de K⁺, Ca²⁺ et de Mg²⁺ sont plus fortes chez les vaches RB.

Ayalon (1978) a examiné les niveaux de protéines totales, et de quelques ions dans les fluides utérins de vaches fertiles et infertiles, durant la période 6-8 jours post-insémination, afin d'établir s'il existe ou non des corrélations entre des changements dans la concentration de ces constituants et la ME. Les prélèvements ont été réalisés sur des animaux après abattage. Les niveaux de protéines totales sont plus importants dans les fluides (oviducte et utérus) des vaches ne présentant pas de troubles de fertilité, sans regarder si un embryon normal ou non est présent. Les vaches dont l'embryon est anormal présentent des concentrations en K⁺, Zn²⁺, P et Ca²⁺ plus importantes. La hausse pour l'ensemble des ions suggérerait une cause commune pour ce changement. Le mécanisme sous-jacent n'est pas spécifique d'une zone anatomique, puisque les changements de concentrations se font aussi bien au niveau de l'utérus que de l'oviducte.

L'étude de Wiebold (1988) utilise le même dispositif que Ayalon (1978) mais sur des animaux vivants, chez lesquelles des embryons normaux ou non ont été collectés 7 jours après oestrus. La concentration du fluide utérin en certains constituants varie largement entre les vaches dont l'embryon est normal et celles dont l'embryon est anormal (*cf.* tableau VI).

Les concentrations de glucose, protéines totales, Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺, Zn²⁺ et de P sont plus élevées dans les fluides utérins des vaches ayant un embryon anormal par rapport à celles dont l'embryon est normal. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Ayalon (1978), notamment pour le calcium, le phosphore, le potassium et le zinc.

Tableau VI : Caractéristiques des fluides utérins de vaches ayant un embryon normal ou anormal. Source (Wiebold 1988).

Constituent	All cows			Cows with abnormal embryos		
	Normal (N=11)	Abnormal (N=12)	Significance	Cleavage (N=8)	Morula/blastocyst (N=4)	Significance
Glucose (mg/100 ml)	0.5 ± 0.1	1.1 ± 0.2	<i>P</i> < 0.03	0.9 ± 0.2	1.5 ± 0.6	N.S.
Phosphorus (µg/ml)	2.0 ± 0.3	2.8 ± 0.6	<i>P</i> < 0.10	2.3 ± 0.4	4.0 ± 1.5	<i>P</i> < 0.09
Total protein* (mg/100 ml)	26 ± 5	61 ± 16	<i>P</i> < 0.01	51 ± 18	81 ± 31	<i>P</i> < 0.06
Calcium (µg/ml)	2.1 ± 0.3	3.5 ± 0.6	<i>P</i> < 0.02	2.9 ± 0.4	4.6 ± 1.6	<i>P</i> < 0.09
Magnesium (µg/ml)	1.0 ± 0.2	1.6 ± 0.3	<i>P</i> < 0.03	1.3 ± 0.2	2.2 ± 0.7	<i>P</i> < 0.09
Potassium (µg/ml)	13 ± 3	33 ± 6	<i>P</i> < 0.01	29 ± 6	41 ± 16	N.S.
Zinc† (µg/ml)	0.16 ± 0.02	0.28 ± 0.04	<i>P</i> < 0.07	0.25 ± 0.04	0.33 ± 0.10	N.S.

Values are mean ± s.e.m.

*Age tended to have an effect, *P* < 0.08.

†Both days *post partum* (*P* = 0.001) and age (*P* = 0.02) had an effect.

IV. Relation entre la progestérone et la fertilité.

L'ovulation est suivie par la formation du CJ et de la production, faible initialement, de progestérone. Durant la phase lutéale (J5 à J18 environ), le CJ se développe et la production de progestérone s'accroît pour atteindre un plateau à J12 jusqu'à J18. A J18 commence alors la phase folliculaire, qui se traduit par une lutéolyse rapide avec un déclin important de la concentration en progestérone (CPROG). La progestérone étant indispensable à l'établissement et au maintien de la gestation (Sreenan et Diskin, 1983), la concentration de cette hormone pourrait influencer la réussite de la gestation chez la vache. La relation entre la progestérone et la réussite de la gestation n'est pas nouvelle.

A. Effet retardé du niveau de progestérone du cycle précédent sur celui du cycle suivant

La relation entre de faibles concentrations en progestérone et une faible fertilité a été mise en évidence dans un nombre conséquent de publication. Cependant, ces publications se sont intéressées aux concentrations après insémination. Pourtant, il apparaît qu'une fertilité réduite a aussi comme origine une faible CPROG dans le cycle précédent (Fonseca *et al.*, 1983 ; Folman *et al.*, 1990 et Holness *et al.*, 1981, cités par Shaham-Albalancy *et al.*, 2001). L'étude de Shaham-Albalancy *et al.* (2001) cherche à déterminer si une faible CPROG pendant un cycle oestral a un effet sur la CPROG et/ou la réponse utérine au traitement à l'ocytocine à la fin de la phase lutéale du cycle suivant. Des concentrations haute et basse de progestérone sont obtenues de manière exogène (implant intravaginal). Une forte CPROG avant oestrus ne se traduit pas par une concentration plus forte dans le cycle suivant. Après injection d'ocytocine, la concentration moyenne de PGFM (métabolite de PGF_{2α}) est plus importante pour le groupe dont la concentration en progestérone lors du cycle précédent était basse (*cf.* fig.11). Cette étude démontre un effet retardé de la progestérone sur la sécrétion de PGF_{2α} au cycle oestral suivant. Un faible niveau de progestérone pourrait compromettre la survie du conceptus lors du cycle suivant, par une sécrétion plus forte de prostaglandines. La réduction de la fertilité dans les études (Fonseca *et al.*, 1983, Folman *et al.*, 1990 et Holness *et al.*, 1981, cités par Shaham-Albalancy *et al.*, 2001) qui ont étudié ce paramètre pourrait être due à une sécrétion plus importante de PGF_{2α} au moment de la reconnaissance de la gestation par la mère, provoquant la lutéolyse et la fin de la gestation. Les effets bénéfiques de la supplémentation de progestérone avant insémination sur la fertilité des vaches et des génisses (Rosenberg *et al.*, 1990 ; Wherman *et al.*, 1993, cités par Shaham-Albalancy *et al.*, 2001) pourraient donc être liés à la diminution de la sécrétion de PGF_{2α} après insémination. Diskin *et al.* (2006) rapportent que de faibles concentrations en

progestérone lors du cycle précédant l'insémination pourraient entraîner une persistance du follicule dominant. Il produirait un ovocyte à un stade de maturation plus avancé qu'un ovocyte issu d'un follicule dominant d'âge normal, réduisant sa capacité à supporter un développement embryonnaire optimal après fécondation. L'embryon dont il serait issu serait alors plus sensible. Ces travaux montrent que la sécrétion de progestérone doit être optimale non seulement pendant le cycle pendant lequel l'insémination est réalisée, mais aussi durant le cycle qui le précède.

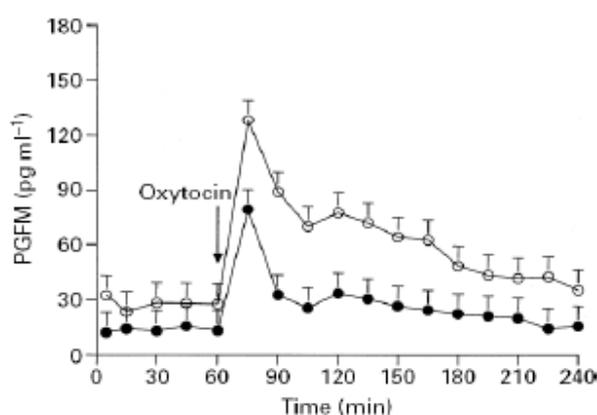


Figure 11: Concentrations moyennes (\pm écart type) plasmatiques de PGFM, de 1h avant à 3h après stimulation à l'ocytocine, au 15ème jour du cycle suivant pour des vaches exposées à de hautes (\square , $n=5$) ou basses (\blacksquare , $n=5$) concentrations de progestérone dans le cycle précédent. (Shaham-Albalancye *et al.* 2001).

B. Progestéronémie et mortalité embryonnaire

La sécrétion de progestérone durant la phase lutéale est essentielle pour assurer la gestation, pour la nutrition de l'embryon/foetus (Inskeep, 2004). La CPROG a été impliquée dans les épisodes de ME pour les périodes suivantes.

1. Entre J0 et J6 post-IA

Mann et Lamming (2001) cherchent à déterminer s'il existe une relation entre la CPROG pendant la phase lutéale et la production d'IFN- τ , bien que la sécrétion d'IFN- τ intervienne plus tardivement dans le cycle.

En début de gestation, l'embryon doit inhiber le développement de mécanisme lutéolytique pour maintenir la sécrétion de progestérone, nécessaire à son développement, à travers la production d'IFN- τ . Une compréhension des mécanismes permettant cette production est un paramètre important pour la détermination de stratégies visant à réduire la MEP.

Les vaches chez lesquelles aucun embryon n'est détecté ont connu une augmentation retardée de la CPROG après ovulation ($6,2 \pm 0,4$ jours) comparé aux vaches ayant un embryon ($4,9 \pm 0,2$ jours) et au témoin ($5,0 \pm 0,3$ jours). De plus, les vaches chez lesquelles l'IFN- τ n'est pas détecté ont un retard au niveau de l'augmentation de la CPROG post-ovulatoire, comparé à celles chez qui il est détecté ($4,1 \pm 0,1$ jours contre $5,6 \pm 0,4$ jours respectivement). Enfin, la concentration moyenne de PGFM en réponse à l'injection d'ocytocine est similaire entre les témoins et les vaches qui n'ont pas d'embryons, alors qu'elle est atténuée pour le groupe avec embryon. Chez ces dernières, la concentration moyenne de PGFM est plus faible pour les vaches chez qui on a détecté l'IFN- τ .

Il est clair que des embryons peu développés n'ont pas réussi à inhiber la décharge lutéolytique de $\text{PGF}_{2\alpha}$, alors qu'un certain nombre y est parvenu. Cela est en partie dû à l'incapacité de ces embryons peu développés à produire l'IFN- τ au moment optimal et dans des quantités suffisantes (Mann et Lamming, 2001).

Une augmentation précoce de la CPROG permet un développement optimal de l'embryon. La réussite de la reconnaissance de gestation s'appuie sur un développement adéquat et une production d'IFN- τ satisfaisante, qui dépendent d'un environnement maternel hormonal approprié, en particulier au niveau de la sécrétion de progestérone post-ovulatoire.

2. Entre J4 et J9 post-IA

a. Effets lutéolytique et embryotoxique d'une sécrétion de prostaglandine prématurée

Une régression précoce du CJ peut intervenir suite à une sécrétion prématurée de prostaglandines. La sécrétion de $\text{PGF}_{2\alpha}$ peut être importante durant les cycles où les CPROG sont relativement basses (Inskeep, 2004).

Chez les vaches dont la phase lutéale est courte, le moment des pertes embryonnaires, entre J5 et J8, correspond au moment où la sécrétion utérine de $\text{PGF}_{2\alpha}$ augmente (Cooper *et al.*, 1991, cités par Inskeep, 2004). De plus, Shrick *et al.* (1993), cités par Inskeep (2004) ont observé que la teneur en $\text{PGF}_{2\alpha}$ dans le fluide utérin de ce type d'animaux est le double de celle observée chez des animaux normaux (636 ± 82 et 288 ± 90 pg/mL, respectivement). La qualité des embryons semble être corrélée négativement avec les concentrations en $\text{PGF}_{2\alpha}$ dans les fluides utérins ($r = -0,42$), ce qui démontre l'effet embryotoxique de $\text{PGF}_{2\alpha}$.

Buford (1996) a voulu tester si la survie embryonnaire était améliorée chez des vaches traitées avec un inhibiteur de la synthèse des prostaglandines (flunixin meglumine). Le taux de gestation est amélioré uniquement chez les vaches sur lesquelles une lutectomie a été réalisée. Par conséquent, un CJ en régression apparaît comme une composante de l'effet embryotoxique de $\text{PGF}_{2\alpha}$.

Inskeep (2004) a suggéré que les pertes embryonnaires relevées avant 8 jours de gestation par Ayalon (1978) et Maurer et Chenault (1983) seraient en partie dues à une sécrétion précoce de $\text{PGF}_{2\alpha}$.

b. Progestéronémie et développement embryonnaire

En suivant le niveau de progestérone dans le lait chez des vaches laitières 5 jours après insémination, Starbuck *et al.* (2001), cités par Wathes *et al.* (2003), ont montré que les animaux avec un niveau de progestérone supérieur à 3 ng/mL présentaient les meilleurs taux de gestation, alors que ceux présentant de faibles niveaux souffraient d'une réduction importante du taux de gestation (*cf.* fig.12).

Stronge *et al.* (2005) ont montré qu'il existait une relation entre le taux de progestérone dans le lait aux jours 5, 6 et 7 post-IA et la probabilité de survie de l'embryon. La relation qui lie les 2 paramètres est de type quadratique au jour 5 : il existe un niveau de progestérone optimal (7,4 ng/mL) permettant une survie maximale de l'embryon. De plus, la relation quadratique indique que la probabilité de survie de l'embryon augmente lorsque le niveau de progestérone devient plus important, mais à un taux décroissant. Des concentrations supérieures ou inférieures sont associées à des taux de survie réduits. De la même façon, Starbuck *et al.* (1997, 2001), cités par Stronge *et al.* (2005), ont mis en évidence qu'un niveau de progestérone compris entre 7 et 8 ng/mL au jour 5 était associé à un taux de gestation maximal. Le même type de relation existe aux 6ème et 7ème jour (Stronge *et al.*, 2005). Pour les jours 5, 6 et 7 post-IA, la majorité (60, 80 et 75 % respectivement) des vaches présente une concentration inférieure à la valeur optimale, ce qui indique que le défaut de progestérone est plus fréquent qu'un excès. Il sera intéressant de connaître les facteurs responsables de cette insuffisance. McNeil *et al.* (2006) ont mis en

évidence une relation linéaire quadratique entre le taux de progestérone dans le lait aux jours 4, 5 et 6 et la probabilité de survie de l'embryon mais pas lors des 7^{ème} et 8^{ème} jours post-IA. Ces auteurs rapportent que la mesure du niveau de progestérone dans le lait à J4 pourrait permettre de déceler les vaches à risque pour la perte embryonnaire.

Ces mêmes auteurs rapportent que la variation du niveau de progestérone dans le lait entre le 4^{ème} et 7^{ème} jour a une influence sur le taux de survie. Le taux de survie de l'embryon est maximal lorsque l'augmentation de la concentration de progestérone dans le lait est de 4,7 ng/mL/jour.

Santos *et al.* (2004), cités par Thatcher *et al.* (2006), ont observé une amélioration des taux de conception aux jours 28 et 42 suite à un traitement à l'hCG (3300 UI) au 5^{ème} jour⁸, mais la MET n'a pas été réduite. L'effet positif d'une injection d'hCG, et par suite d'une augmentation du niveau de progestérone, touche l'embryon au début de son développement en diminuant la MEP. L'effet est d'autant plus important que la perte d'état corporel depuis le vêlage a été forte.

Kerbler *et al.* (1997) ont montré que les embryons issus de génisses ayant reçu une injection d'hCG 5 jours après insémination ont tendance à produire davantage d'IFN- τ que ceux issus des vaches ayant reçu un placebo ($p < 0,059$, (cf. fig.13A). Si les quantités d'IFN- τ sont étudiées indépendamment du traitement reçu par les animaux, il existe une corrélation positive entre le taux de progestérone et la synthèse du signal anti-lutéolytique ($r^2 = 0,59$, $p < 0,006$, figure 10B). Mann *et al.* (2002), cités par Wathes *et al.* (2003), ont montré une corrélation identique : les niveaux d'IFN- τ dans la lumière utérine à J16 sont reliés aux concentrations en progestérone à J4 et J5. Augmenter le niveau de progestérone chez les animaux inséminés permettrait d'améliorer le développement de l'embryon.

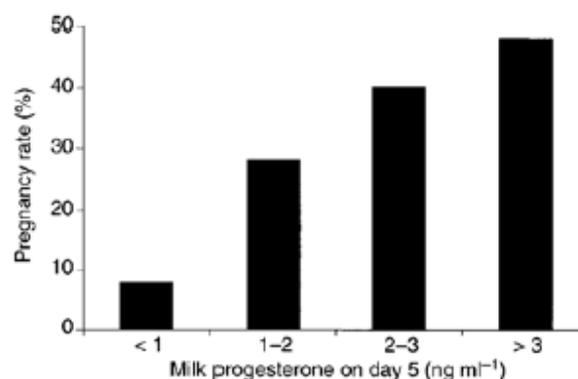


Figure 12 : Relation entre le niveau de progestérone dans le lait au jour 5 après insémination et le taux de gestation ($n=1228$ vaches laitières Holstein). (Starbuck *et al.* 2001).

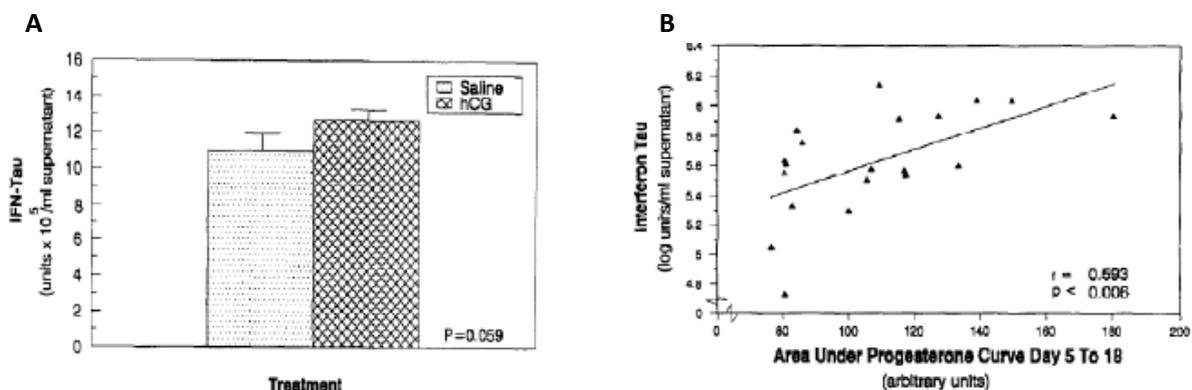


Figure 13 :A - Quantité d'IFN- τ synthétisée après 24h de culture des embryons (J18) recueillis sur des génisses ayant reçu une injection d'hCG (1500 IU, n=9) ou un placebo (n=11) 5 jours après insémination. Source : Kerbler et al. (1997).B - Corrélation entre la concentration maternelle en progestérone et la synthèse d'IFN- τ par des embryons (J18, n=20) après 24h de culture in vitro. (Kerbler et al. 1997).

Mann *et al.* (2006) ont étudié le bénéfice d'une supplémentation en progestérone à des vaches qui ne sont pas en lactation sur le développement des embryons. Cet apport exogène est réalisé à 2 périodes de la phase lutéale : soit entre le 5^{ème} et le 9^{ème} jour post-IA, soit entre le 12 et le 16^{ème} jour post-IA. La supplémentation, lorsqu'elle est pratiquée précocement, améliore significativement le développement embryonnaire ainsi que la sécrétion d'IFN- τ . En effet, la longueur des embryons recueillis chez les vaches ayant reçu l'apport de progestérone de J5 à J9 est plus important, comparée aux embryons issus des animaux ayant reçu la supplémentation plus tardivement (*cf.* fig.14). Cette étude montre que ce n'est pas la valeur finale de la progestéronémie, mais bien le moment où la progestéronémie augmente et sa variation qui influencent le développement de l'embryon. Cette étude met en évidence une relation entre la longueur du trophoblaste et sa capacité à sécréter de l'IFN- τ : favoriser le développement embryonnaire, donc augmenter la taille de l'embryon, permet d'accroître la sécrétion d'IFN- τ . Un retard dans l'augmentation post-ovulatoire de la progestéronémie compromet le développement embryonnaire et ainsi sa capacité à sécréter l'IFN- τ .

Des concentrations optimales en progestérone assurent un bon développement embryonnaire. Un trophoblaste suffisamment développé produirait des quantités suffisantes d'IFN- τ , permettant de bloquer la sécrétion de PGF_{2 α} .

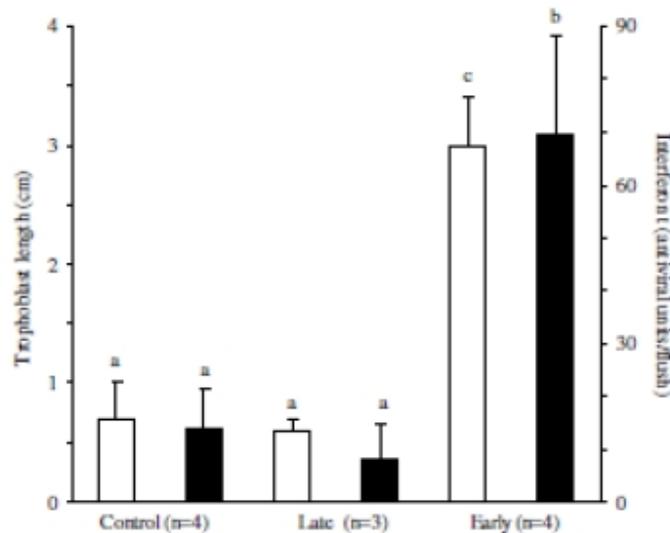


Figure 14 : Longueur moyenne du trophoblaste (barre vide) des embryons recueillis à J16 et concentration moyenne en interféron tau (20 mL fluide utérin, barre pleine) de vaches non traitées (control, n=4), de vaches supplémentées en progestérone de J5 à J9 (early, n=4) ou de J12 à J16 (late, n=3). Ab, $p < 0,05$; ac, $p < 0,01$. (Mann *et al.* 2006).

3. Entre J14 et J17 post-IA

Kastelic *et al.* (1991) rapportent quelques situations où la régression du CJ est intervenue avant la ME (25 jours de gestation). De courtes périodes de carence en progestérone peuvent diminuer la survie de l'embryon durant la reconnaissance de la gestation. Lulai *et al.* (1994), cités par Inskeep (2004), ont étudié les effets de la régression du CJ au 15^{ème} jour, 24 ou 36 heures avant de commencer le traitement progestatif. Le taux de survie des embryons est de 84 % chez les génisses/vaches témoins, mais ce taux atteint 45 ou 13 % respectivement, quand le traitement est appliqué 24 ou 36 heures après la régression.

Mann *et al.* (2006) n'ont pas montré d'effet positif sur le développement embryonnaire d'un niveau élevé de progestérone entre le 12^{ème} et le 16^{ème} jour post-IA.

4. Entre J28 et J42 post-IA

Puisque de plus faibles CPROG et de plus fortes concentrations d'oestradiol tendent à limiter le maintien de la gestation lors du remplacement du CJ, l'étude de Starbuck *et al.* (2004) s'attache à déterminer si la rétention des embryons entre 5 et 9 semaines de gestation est associée à ces concentrations (*cf.* tableau VII).

Tableau VII: Association entre le maintien de la gestation et les concentrations en progestérone à deux périodes de gestation. (Starbuck et al. 2004).

Week of gestation ^a	Variable	Classification of concentration of progesterone [P ₄]		
		Low	Medium	High
Week 5	<i>n</i>	49	98	49
	Range [P ₄] (ng/ml)	0.4–3.76	3.78–5.98	5.99–16.99
	Retention to week 7 (%)	80 b	96 c	96 c
	Retention to week 9 (%)	77 b	91 c	92 c
Week 7	<i>n</i>	44	86	44
	Range [P ₄] (ng/ml)	1.6–3.99	4.00–6.16	6.22–12.6
	Retention to week 9 (%)	98	94	96

Values in the same row with different letters differ ($P < 0.05$).

^a Animals were classified at week 5 and reclassified at week 7 based on concentrations of progesterone at each time separately.

Les pertes de gestation avant J45 sont les plus importantes pour les vaches appartenant au quartile le plus bas pour la CPROG mesurée entre J28 et J37, comparé aux vaches appartenant aux quartiles suivants. Le maintien de la gestation en semaine 7 ou 9 semble donc associé au niveau de progestérone en semaine 5. Les pertes de gestation après J45 ne sont pas liées à ces CPROG.

C. Vagues folliculaires et sécrétion de la progestérone

La croissance folliculaire se fait par vague. La croissance d'une cohorte de follicules aboutit à l'émergence d'un follicule dominant à chacune des vagues, alors que les autres follicules subissent l'atréxie. Chaque cycle oestral est constitué de 2, 3 voire 4 vagues folliculaires, mais la majorité des vaches présente de 2 à 3 vagues folliculaires durant un cycle (Binelli *et al.*, 2001).

Lorsque les concentrations en progestérone sont faibles, une fréquence élevée de pulse de LH stimule la croissance du follicule dominant, alors qu'une forte concentration l'inhibe. Le niveau de progestérone pendant la phase lutéale peut influencer la persistance d'un follicule et le nombre de vagues pendant le cycle (Inskeep et Dailey, 2005).

Les ovocytes provenant de follicules persistants sont vraisemblablement à un stade de maturation plus avancé que ceux issus de follicules plus jeunes (Inskeep, 2004). Alors que les ovocytes issus de follicules persistants ont subi les changements caractéristiques des premiers stades de l'atréisie, ils sont néanmoins fécondables. Le développement du zygote formé s'en trouve retardé, la mort embryonnaire survient le plus souvent avant le stade 16 cellules (Ahmad *et al.*, 1995). Cela pourrait expliquer l'influence d'un faible niveau de progestérone du cycle précédant l'IA sur la fertilité, qui se trouve alors réduite.

Le follicule ovulatoire des vaches présentant 2 vagues est plus âgé et de plus grande taille que celui retrouvé chez les vaches à 3 vagues. Cela pourrait expliquer la diminution du taux de conception observée chez les vaches laitières à 2 vagues, par rapport aux vaches qui en présentent 3 (Ahmad *et al.*, 1995). Cependant, de faible diamètre folliculaire influence également négativement le taux de conception dans de nombreuses études. Les concentrations de progestérone augmentent plus lentement chez les vaches à petits follicules par rapport aux vaches à plus gros follicules. Ainsi, la fertilité peut être altérée aussi bien par des follicules immatures que par des follicules dont la maturation a été plus longue (Inskeep et Dailey, 2005) (*cf.* fig.15).

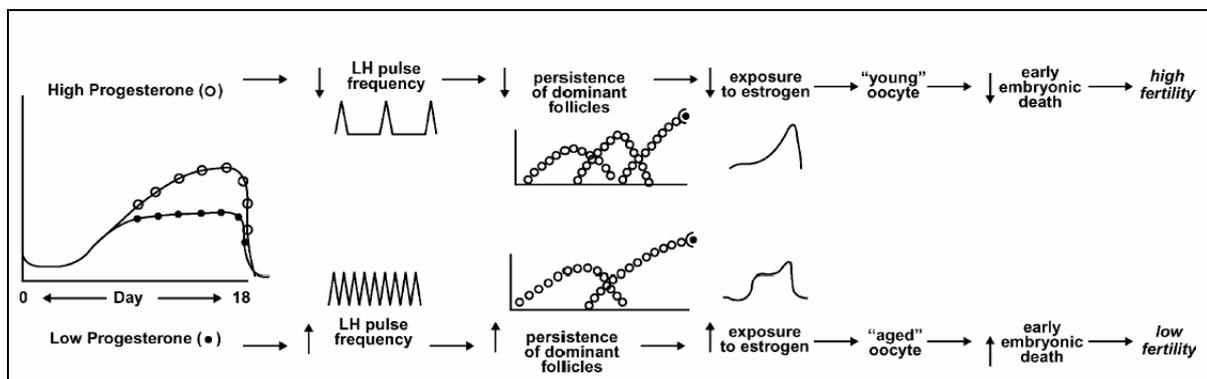


Figure 15 : effet du développement folliculaire sur la fertilité chez la vache (Inskeep, 2004).

V. Utilisation de l'hCG et la GnRH pour augmenter la progestéronémie et prévenir la mortalité embryonnaire.

A. Rôle de la progestérone dans le maintien de gestation.

Au cours du développement initial dans l'utérus, le conceptus bovin n'a pas accès au sang maternel parce qu'il se trouve dans la cavité utérine. Par conséquent, la croissance du conceptus dépend de la composition du milieu utérin (Binelli et al 2009). La composition de l'environnement utérin dépend des sécrétions des glandes utérines (Geisert et al., 1988, Mann et al., 1999). La progestérone module la fonction des glandes utérines et par conséquent, la croissance du conceptus (Spencer et al., 2004). En effet, une relation positive entre les concentrations plasmatiques en progestérone au cours des trois premières semaines de gestation et les taux des animaux gestants (Binelli et al 2009).

Mann et al. (1996, 1998). Ont récolté des embryons de 16 jours et ces embryons étaient classés en deux catégories, peu développés ou bien développés, de faibles concentrations plasmatiques de progestérone en début de gestation ont été associées à des embryons peu développés. Ces données fournissent la motivation pour travailler sur les systèmes d'augmenter les concentrations de progestérone pendant le début de la gestation.

La relation entre l'insuffisance progestéronique et la mortalité embryonnaire est encore incomplètement élucidée (Hanzen et al, 1999). Il a été démontré que la concentration systématique en progestérone agit sur le volume des sécrétions utérines, le taux du développement du conceptus, la capacité pour l'embryon à produire le signal anti-lutéolytique (INFr), et le développement du signal lutéolytique PGF2 α (McNeill et al, 2006).

1. Relation progestérone/ œstradiol/ocytocine.

La progestérone inhibe la lutéolyse en diminuant la sensibilité de l'endomètre à l'ocytocine par la liaison aux récepteurs endométriaux de l'ocytocine. En effet, cette hormone a, entre autres effets, celui de réduire le nombre de récepteurs à l'ocytocine (Hanzen et al, 1999). Ainsi, une diminution de la concentration en progestérone favorise l'apparition plus précoce de récepteurs à l'ocytocine et par conséquent la mise en place du processus de lutéolyse (Hanzen et al, 1999). De faibles concentrations en progestérone induisent une production de PGF2 α plus élevée en réponse à l'ocytocine et le signal lutéolytique est donc plus important (Picard-Hagen et

al, 2003). De plus, une exposition prolongée à la progestérone entraîne une sous-régulation de ces récepteurs permettant alors une sur-régulation des récepteurs endométriaux à l'oestradiol. L'oestradiol induit à son tour l'apparition des récepteurs à l'ocytocine (Robinson et al, 2001).

Ayalon et al (1978) n'observe aucune différence dans le taux d'excrétion d'œstrogènes mais le niveau plasmatique d'œstrogènes est plus élevé chez les vaches fertiles que chez les infertiles, en particulier 12 h avant l'œstrus et pendant les 8 jours suivants. Une insuffisance lutéale peut également s'accompagner d'une libération plus importante d'hormone LH, responsable d'une synthèse plus importante d'oestradiol (Hanzen et al, 1999). Celui-ci va alors favoriser le développement utérin de récepteurs à l'ocytocine et la synthèse de prostaglandine.

2. Progestérone et interféron γ

La sécrétion de progestérone par le corps jaune est essentielle dans l'établissement de l'environnement histologique permettant la nutrition de conceptus.

Un retard dans l'augmentation post-ovulatoire de la concentration en progestérone compromet le développement du conceptus et par la même sa capacité à sécréter l'INFr. Darwash et al, (1998) constatent dans ces conditions une diminution des taux de conception. De plus, au moment où le signal anti-lutéolytique est sécrété (J17) si l'embryon est peu développé (longueur <15mm) l'augmentation de progestérone est tardive et la production des INFr n'est pas détectée dans les liquides utérins. Ce retard dans le développement embryonnaire est souvent observé dans les situations de stress consécutif à la chaleur. Les concentrations en progestérone à J4 et J5 sont liées à celles de l'interféron γ dans la lumière utérine à J16 (Wathes et al, 2003).

3. Concentration en progestérone et fertilité

Niemann et al. (1985) ont effectué le transfert d'embryons âgés de 7 jours et mesuré la concentration sanguine en progestérone avant le transfert. Ils ont constaté que le meilleur taux de gestation est obtenu pour des concentrations en progestérone entre 2 et 3 ng/mL. Ce taux de gestation diminue lorsque la concentration en progestérone est inférieure à 2 ng/mL ou supérieur à 5 ng/mL. Aucune gestation n'a lieu lorsque cette valeur est inférieure à 1 ng/mL.

McNeill et al, (2006) ont cherché à préciser la relation possible entre la concentration en progestérone dans le lait et la survie embryonnaire entre J0 et J8 d'une part, et entre les concentrations en progestérone dans le lait chaque jour entre J0 et J8 d'autre part, dans leur étude,

37 des 77 inséminations (soit 48%) donnent lieu à des embryons viables entre J30 et J40. Ils constatent tout d'abord qu'il y a une relation linéaire significative ($P < 0.05$) entre la concentration en progestérone dans le lait à J4, J5, J6 et le taux de survie embryonnaire. Cette relation n'est pas significative pour J0, J1, J2, J3, J7, et J8. En ce qui concerne une possible relation entre les concentrations en progestérone aux différents jours, ils rapportent que les concentrations en progestérone dans le lait des jours 4 à 7 ne sont pas associées à celles de J0 à J2. Cependant, les concentrations des jours 6 et 7 sont très fortement associées à celles des jours précédents. En effet, les concentrations des jours 4 et 5 précèdent très fortement celles des jours 7 et 6, respectivement. Cette étude démontre une relation réelle entre les concentrations en progestérone dans le lait et la probabilité de la survie embryonnaire chez les vaches laitières pour chacun des jours de J4 à J6 après ovulation. Cela va dans le même sens que Diskin et al (2002) qui rapportent une relation entre la concentration plasmatique en progestérone et le taux de survie embryonnaire à J7 après insémination. De la même façon, Darwash et al. (1985) montrent qu'un retard de 1 à 1,7 jours dans l'augmentation de la concentration en progestérone à J5 après insémination est associé à une diminution du taux de survie embryonnaire. De plus, McNeill et al, (2006) ont révélé une association entre les concentrations en progestérone dans le lait pendant les différents jours de la période embryonnaire précoce. L'existence de ces associations laisse entrevoir une possibilité de détecter, à partir de J4 après insémination, les vaches risquant une perte embryonnaire à cause de concentrations suboptimales en progestérone.

Chagas e Silva et al (2002) étudient la relation entre la concentration plasmatique en progestérone et la survie embryonnaire après transfert embryonnaire. Ils ne mettent en évidence aucune différence de concentration en progestérone à J0, J4, J7, entre les vaches présumées gestantes à J21 (concentration en progestérone $< 1\text{ng/mL}$ à J0, $> 1\text{ng/mL}$ à J7 et $> 2\text{ng/mL}$ à J21) et les vaches non gestantes. Cependant, les receveuses ayant de faibles concentrations en progestérone au moment du transfert ($< 1\text{ng/mL}$) semblent avoir un taux de gestation à J45 moindre et le rejet peut être important surtout s'il s'agit d'embryons de haute valeur. De plus, les vaches confirmées gestantes à J45 ont des concentrations en progestérone significativement plus hautes à J21 que celles présumées gestantes mais par la suite déclarées non gestantes. L'auteur suggère alors deux possibilités : soit la mort de l'embryon survient après J21 mais il avait déjà diminué sa section d'INFr avant J21, soit la mort survient avant J21 et la concentration en progestérone diminue déjà à ce moment. Il ajoute que la concentration plasmatique en progestérone à J6 et J7 renseigne sur les chances de poursuite de la gestation chez les vaches mais pas chez les génisses. Il note également une association entre de faible concentration en progestérone à J7 et un plus haut taux de mortalité embryonnaire chez les vaches par rapport aux génisses. Cependant, les causes de cette différence de concentration à J7 entre les vaches et les génisses n'ont pas pu être identifiées dans cette étude. Une hypothèse serait que la baisse du taux de gestation après transfert d'embryon congelés chez les vaches et non chez les génisses serait due à

un plus faible stimulus lutéotrophique de l'embryon congelé/décongelé sur le corps jaune par rapport à un embryon frais. Cette différence n'est toutefois pas significative dans l'étude.

La concentration en progestérone joue également un rôle important lors de stades un peu plus avancés. Starbuck et al, (2004) ont essayé de quantifier la mortalité embryonnaire tardive mais également de mettre en évidence une éventuelle relation entre le maintien de la gestation entre les semaines 5 à 9 et la concentration en stéroïdes dans la circulation périphérique (Starbuck et al, 2004). Il en résulte que le maintien de la gestation aux semaines 7 ou 9 est associé à la concentration en progestérone à la semaine 5 mais pas celle de la semaine 7. Les femelles présentant de faibles concentrations en progestérone à la semaine 5 sont plus susceptibles de subir de la mortalité embryonnaire. Cela est d'autant plus vrai lorsque cette mortalité se produit avant la semaine 7. Seules 50% des gestations sont maintenues si la concentration en progestérone à la semaine 5 est inférieure ou égale à 2,8 ng/mL Starbuck et al, (2004). 96% des gestations sont maintenues à la semaine 9 lorsque la concentration en progestérone à la semaine 5 est supérieure ou égale à 6 ng/mL. Starbuck et al, (2004) Montrent que le corps jaune n'affecterait pas les concentrations en progestérone. Ils constatent même que paradoxalement dans leur étude, la probabilité de maintien de la gestation est plus faible (72,2%) chez les animaux avec corps jaunes que chez ceux possédant un unique corps jaune (90,5%) (Starbuck et al, 2004).

B. Mise en place d'un corps jaune accessoire (ou secondaire).

1. Utilisation de la GnRH (GONADOTROPIN-RELEASING HORMONE)

a. Mécanisme d'action

Gonadotrophine-releasing hormone est une décapeptide produite par l'hypothalamus. La première action de la GnRH est la stimulation de l'hypophyse qui à son tour libère la LH chez les petits mammifères (McCann et al., 1965; Schally et al., 1967). Des études ultérieures (Amoss et Guillemin, 1969; Niswender, 1969; Reeves et al., 1971) ont révélé la même action chez les ovins. Reeves et al. (1971) montrent la nécessité de comprendre le mécanisme par lequel la GnRH provoque le déclenchement du pic préovulatoire de la LH pour voir les utilisations possibles et pratiques de la GnRH chez les animaux domestiques. Par la suite, plusieurs

chercheurs (Kittok et al., 1973;Thompson et al., 1980; Milvae et al., 1984) ont observé que le traitement des vaches par la GnRH ou par un analogue à la GnRH (Milvae et al., 1984) pendant la phase lutéale du cycle œstral augmente le taux de la LH et de la progestérone au niveau sanguin.

b. Incidence sur l'ovulation

Les chercheurs ont également signalé que l'ovulation induite des follicules dominants par la GnRH est avec divers des degrés de succès. Macmillan et al. (1985) ont rapporté qu'aucun cas de CJ accessoire chez des vaches laitières traitées à j12 jusqu'au j 16 du cycle avec 5 µg de Buserelin, un agoniste à la GnRH. Martin et al. (1990) ont également signalé qu'aucune ovulation n'était observée chez les vaches traitées avec 100 µg de GnRH à j2 et j8 post-œstrus. Néanmoins d'autres chercheurs (Thatcher et al., 1989), ont montré que 67% des vaches laitières traitées de j 18 à j 48 avec 8 à 10 µg de Buserelin chaque 3 jours ont eu un CJ accessoire. Schmitt et al (1996) ont traité un groupe de génisse (n = 8) avec 8 µg de Buserelin et ils ont eu 8 corps jaune accessoire (100%), en plus il n'y avait aucune différence entre le corps jaune induit et le corps jaune original par une échographie réalisée à j15. le taux de gestation n'était pas affecté par le traitement mais par contre la progestéronémie était significativement ($P < .005$) élevée entre le 11eme et le 16eme jour post insémination (*cf.* fig.16). Plus récemment Bello et al. (2006) ont rapporté que le traitement par la GnRH 2 jours après une injection de la PGFB2 α a induit l'ovulation chez 80% des vaches laitières. Une seule injection de GnRH entre j 4 et j 9 du cycle induit l'ovulation chez 60% des vaches laitières pour former au moins un CJ accessoire (Stevenson et al., 2007). De toute évidence, la formation du CJ accessoire après l'injection de la GnRH dépend de plusieurs facteurs physiologiques.

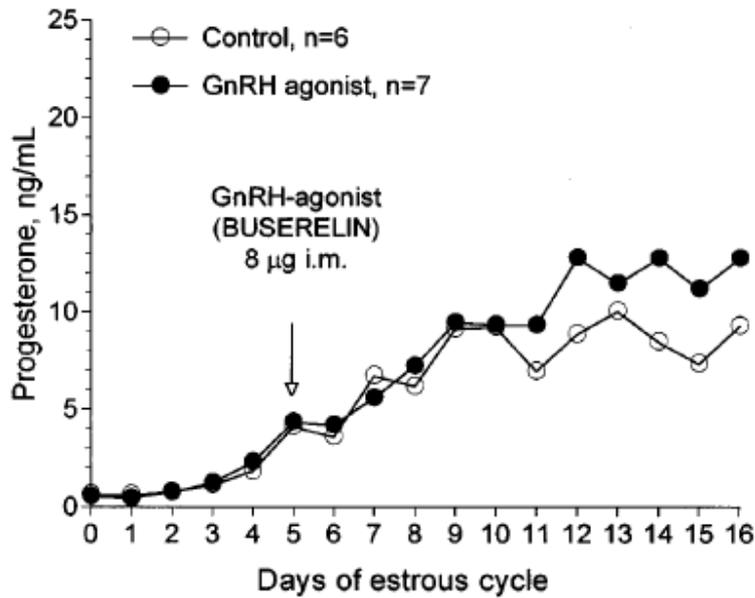


Figure 16 : Concentrations moyennes ($\pm 0.85\text{ng/mL}$) plasmatiques en progestérone chez les génisses Holstein traitées par un agoniste à la GnRH (Buserelin $8\mu\text{g i.m.}$) ou par une solution saline le 5eme jour post-oestrus (Schmitt et al 1996).

c. Fonction du corps jaune

Plusieurs études indiquent que « le pic de LH induit par une injection de GnRH n'est pas suffisant pour augmenter la concentration plasmatique en progestérone en quelques heures » (Rettmer, 1991). Ceci est en accord avec une étude ultérieure réalisée par Stevenson et al. (2007) dans laquelle les vaches laitières traitées une fois avec la GnRH de j 4 à j 9 post-insémination n'ont montré aucune augmentation du taux de progestéronémie entre le jour du traitement et 7 jours plus tard. Étonnamment, d'autres auteurs (Ford et Stormshak, 1978; Rodger et Stormshak, 1986; Lokhande et al. 1981) ont montré que le traitement avec la GnRH réduit la concentration en progestérone à long terme. Une étude récente de Yildiz et al (2009) qui a montré que la LH augmente significativement dans les 2 à 3 h qui suit le traitement des vaches avec la Busereline à J12 du cycle par apport au groupe témoin (*cf.* tableau IIX). Par contre la progestéronémie dosée chaque deux jours n'était pas vraiment différente entre J12 et J14 chez les vaches gestantes. Par

contre elle était significativement faible ($P < 0.01$) à J16 chez les vache non gestantes traitées par apport au groupe témoin (cf. tableau IX).

Tableau VIII : Concentrations moyennes (\pm écart type) plasmatiques en progestérone et LH (ng/mL) après traitement par la GnRH ou une solution saline à J 12 post insémination (Yildiz et al 2009)

Parameters	Time after treatment					
	-1 h	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h
LH (GnRH)	0.70 \pm 0.01 ^a	2.52 \pm 0.34 ^{ab}	9.05 \pm 1.53 ^d	9.51 \pm 1.50 ^d	6.74 \pm 1.13 ^{cd}	3.90 \pm 0.72 ^{cd}
LH (saline)	0.70 \pm 0.01 ^a	0.70 \pm 0.01 ^a	0.70 \pm 0.01 ^a	0.70 \pm 0.01 ^a	0.70 \pm 0.01 ^a	0.70 \pm 0.01 ^a
P4 (GnRH)	1.56 \pm 0.32 ^a	1.51 \pm 0.14 ^a	1.60 \pm 0.35 ^a	2.70 \pm 0.73 ^a	2.06 \pm 0.47 ^a	2.51 \pm 0.43 ^a
P4 (saline)	1.93 \pm 0.12 ^a	1.62 \pm 0.24 ^a	1.67 \pm 0.18 ^a	2.03 \pm 0.21 ^a	1.82 \pm 0.37 ^a	1.76 \pm 0.28 ^a

Tableau IIX : Concentrations moyennes (\pm écart type) plasmatiques en progestérone (ng/mL) chez les vaches gestantes et non gestantes après traitement à la GnRH ou à solution saline (Yildiz et al 2009).

Days of estrous cycle	Pregnant		Non-pregnant	
	GnRH (n=7)	Saline (n=4)	GnRH (n=2)	Saline (n=4)
0	0.61 \pm 0.03	0.50 \pm 0.02	0.35 \pm 0.06	0.42 \pm 0.01
2	0.71 \pm 0.08	0.62 \pm 0.07	0.61 \pm 0.02	0.54 \pm 0.04
4	1.04 \pm 0.12	1.04 \pm 0.33	0.93 \pm 0.08	1.05 \pm 0.06
6	1.44 \pm 0.22	1.81 \pm 0.09	1.63 \pm 0.17	1.18 \pm 0.16
8	1.72 \pm 0.34	2.02 \pm 0.16	2.18 \pm 0.51	1.63 \pm 0.22
10	1.78 \pm 0.11	2.32 \pm 0.17	2.41 \pm 0.35	2.13 \pm 0.48
12	2.24 \pm 0.09	3.07 \pm 0.77	2.34 \pm 0.28	1.76 \pm 0.18
14	2.77 \pm 0.32	2.87 \pm 0.62	1.77 \pm 0.14	2.18 \pm 0.21
16	2.14 \pm 0.45	2.92 \pm 0.18	1.84 \pm 0.29 ^a	2.77 \pm 0.61 ^b
18	2.33 \pm 0.14	2.57 \pm 0.21	2.53 \pm 0.24	2.09 \pm 0.15
20	2.94 \pm 0.43	2.67 \pm 0.46	1.51 \pm 0.12	1.44 \pm 0.33
22	2.48 \pm 0.32	1.93 \pm 0.25	0.85 \pm 0.17	0.65 \pm 0.06
24	2.82 \pm 0.15	2.63 \pm 0.19		

2. Utilisation de le l'hCG (HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN)

a. Mécanisme d'action

C'est une hormone glycoprotéique produite par le trophoblaste de blastocyste, cette hormone peut être détectée chez la femme enceinte dès le 8ème voire 10ème jour de grossesse. Elle maintient le corps jaune gestatif et elle est aussi utilisée comme un moyen pour le diagnostic de la grossesse chez la femme (Jameson et Hollenberg, 1993). Une fois l'hCG se lie au récepteur de la LH et elle dirige le CL à produire des hormones différentes, y compris la progestérone. Au fil du temps, le CL devient moins sensible à l'hCG mais des concentrations croissantes de l'hCG maintiennent la capacité fonctionnelle du CJ jusqu'à environ 7 semaines de grossesse (Jameson et Hollenberg, 1993).

Cette glycoprotéine est composée de 2 chaînes polypeptidiques avec des glucides attachés à chaque chaîne. Ces chaînes ont été désignées comme sous unités alpha et bêta. La sous unité alpha partage la fonction entre les hormones glycoprotéiques LH, FSH, TSH, et CG mais par contre sous unités bêta est différente. Cette distinction de la sous unité bêta est responsable de la spécificité biologique des hormones. Par exemple, hCG se lie au récepteur LH dans les cellules lutéales agis 50 fois plus lentement que la LH (Niswender et al., 1985).

La demi-vie de l'hCG comparée à celle de la LH résultats à partir de 4 sites de liaisons de glycosylation qui explique en grande partie le fait que hCG est plus lentement glycosylée que la LH. L'extension glycosylée a probablement un rôle important, soit pour la biosynthèse des hormones ou la fonction hormonale (Jameson et Hollenberg, 1993).

b. Incidence sur l'ovulation

Tout comme la GnRH, les chercheurs ont signalé beaucoup de variation dans la capacité d'hCG pour induire l'ovulation. Wiltbank et al. (1961) ont signalé que 18 des 27 (67%) des génisses ont formé CL accessoires lorsqu'ils ont été traités avec 1.000 UI d' hCG quotidienne de 15 à 35 jour après les chaleurs. Une étude ultérieure (de los Santos-Valadez et al., 1982) a signalé que 29 des 114 (25%) génisses ont ovulé en réponse à 5.000 UI d' hCG à j15 post-œstrus. presque les mêmes résultats (26%) ont été observées lorsque les vaches laitières ont été traitées avec 3,300 UI le 15ème jour du cycle (McDermott et al., 1986). Price et Webb (1989) ont observé une grande variation du nombre de génisses avec CJ accessoire traitées avec 1550 UI d'hCG à partir J 0 à J 16 après les chaleurs. Une dose de 5000 UI d'hCG a donné un pourcentage de 80% d'ovulation (Howard et Britt, 1990), alors que 10 000

UI a donné 100% d'ovulation (Howard et al., 1990) lorsque les génisse étaient traitées à j 10 du cycle. Schmitt et al (1996) ont traité un groupe de génisse (n = 4) avec 3000 UI d'hCG (1000UI i.v et 2000UI i.m) et ils ont eu 4 corps jaune accessoire (100%), en plus il n'y avait aucune différence entre le corps jaune induit et le corps jaune original par une échographie réalisée à j15. le taux de gestation n'était pas affecté par le traitement mais par contre la progestéronémie était très significativement élevée ($P < .001$) entre le 8eme et le 16eme jour post insémination(cf. fig.17).

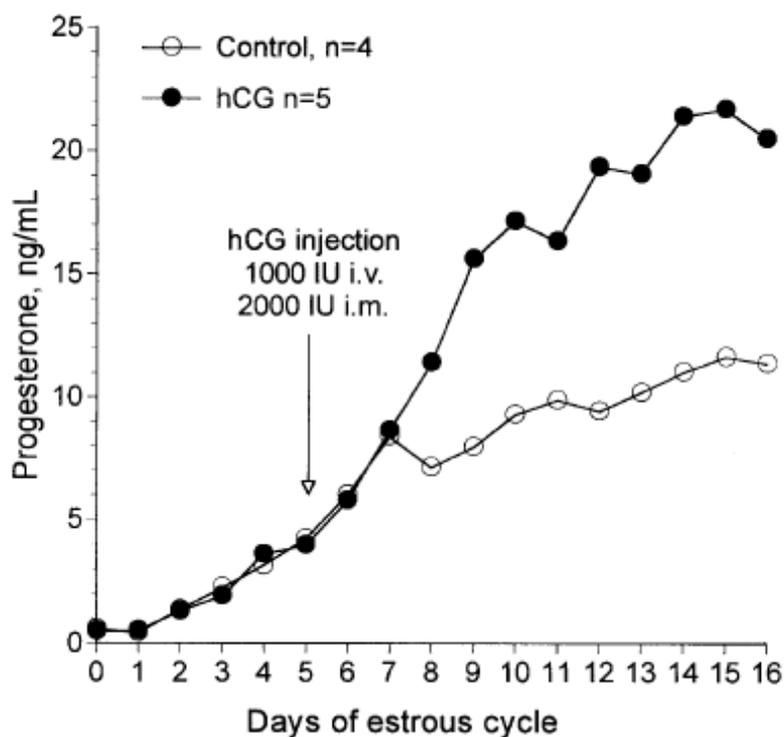


Figure 17 : Concentrations moyennes ($\pm 1.25\text{ng/mL}$) plasmatiques en progestérone chez les génisses Holstein traitées par l'hCG (1000UI i.v et 2000UI i.m) ou par une solution saline le 5eme jour post-œstrus Schmitt et al (1996).

Stevenson et al, (2007) ont comparé l'hCG à la GnRH sur leur capacité d'induire l'ovulation et de former un corps jaune accessoire ils ont eu 77.5% pour les vaches traitées à l'hCG et 60.0% à celles traitées à la GnRH entre j 4 et j 9 du cycle. Le meilleur taux de progestéronémie était obtenu par le traitement à l'hCG (Beltran et Vasconcelos ; 2008 ; Binelli et al ; 2009) (cf. fig.18).

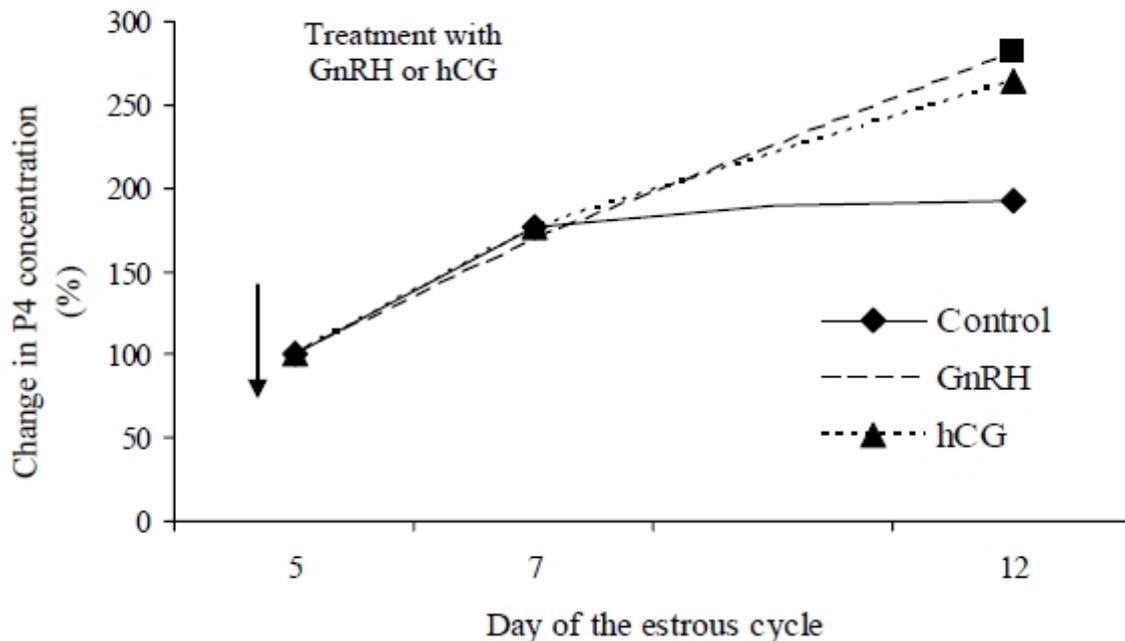


Figure 18 : Pourcentage d'augmentation des concentrations sériques en progestérone (P4) entre le 5eme, 7eme et 12eme jour après IA dans le groupe témoin, le groupe hCG, et le groupe GnRH (Beltran et Vasconcelos ; .2008).

La plupart des follicules bovins se développent ce forme de vague deux à trois vagues par cycle (Pierson et Ginther, 1984). Dans les conditions normales le follicule dominant de la dernière vague ovule en repense à la décharge ovulatoire de la LH. Par contre le follicule dominant des vagues folliculaires précédentes ne peut pas ovuler quand la concentration plasmatique en progestérone est élevée (diœstrus) alors sa destiné est l'atrésie. Des sources exogènes en LH ou d'autre agoniste à la LH peuvent induire l'ovulation de ces follicules lorsqu'ils sont administrés à certains stades du développement folliculaire. C'est ce qui explique la grande variation observée dans l'incidence ovulation à des jours différents du cycle œstral.

Les doses de l'hCG utilisées dans des expériences chez l'espèce bovine sont très variables.

c. Fonction de corps jaune

De nombreux chercheurs (Donaldson et Hansel, 1965; Hansel et Seifart, 1967; Moody et Hansel, 1971. Diaz et al 1998) ont rapporté que l'administration de hCG au cours de la phase lutéale du cycle a augmenté la taille du CL déjà existant (*cf.* fig.19) ainsi que les concentrations sériques en progestérone.

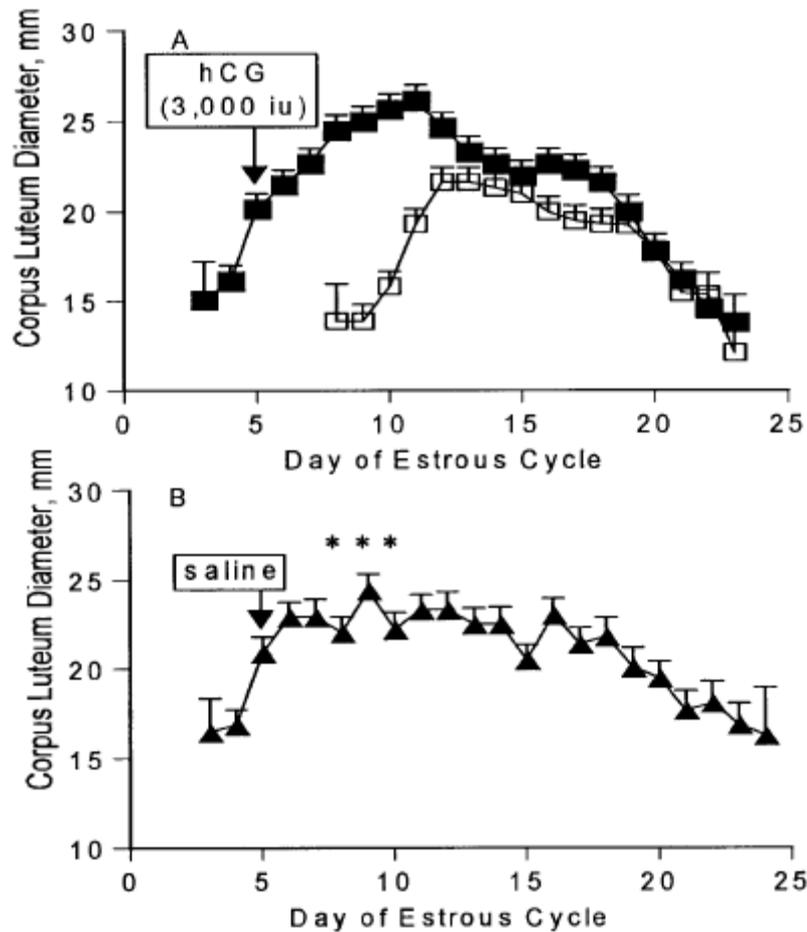


Figure 19 : la croissance du corps jaune original (■) et induit (□) chez les génisses traitées à l'hCG (A) et le corps jaune original dans le groupe témoin (▲) (B) (Diaz et al 1998).

Plusieurs études ont révélé que la concentration en progestérone augmente 24 h après le traitement par hCG et reste élevée au-dessus des témoins jusqu' au début de la lutéolyse (Rettmer, 1991).

Cela est confirmé par des études ultérieures (Rajamahendran et Sianangama, 1992.) qui ont également signalé une augmentation du diamètre total des CJ de 7^{ème} jour jusqu' au 42^{ème} jour post-insémination chez les vaches traitées à l'hCG. Les concentrations en progestérones aussi étaient significativement plus élevées chez les vaches traitées avec hCG à

j7 ou j14 post-AI que dans ceux traités à j 0 ou celles non traitées. Une autre étude (Stevenson et al., 2007), plus de CJ accessoires ont été observées et plus de CJ total ont été détectés chez les vaches traitées avec GnRH ou hCG après l'insémination. Augmentation des concentrations en progestérone, toutefois, ont été observées uniquement chez les vaches traitées à hCG. Cela est peut être du à la réaction lutéotrophe de l'hCG sur le corps jaune existant.

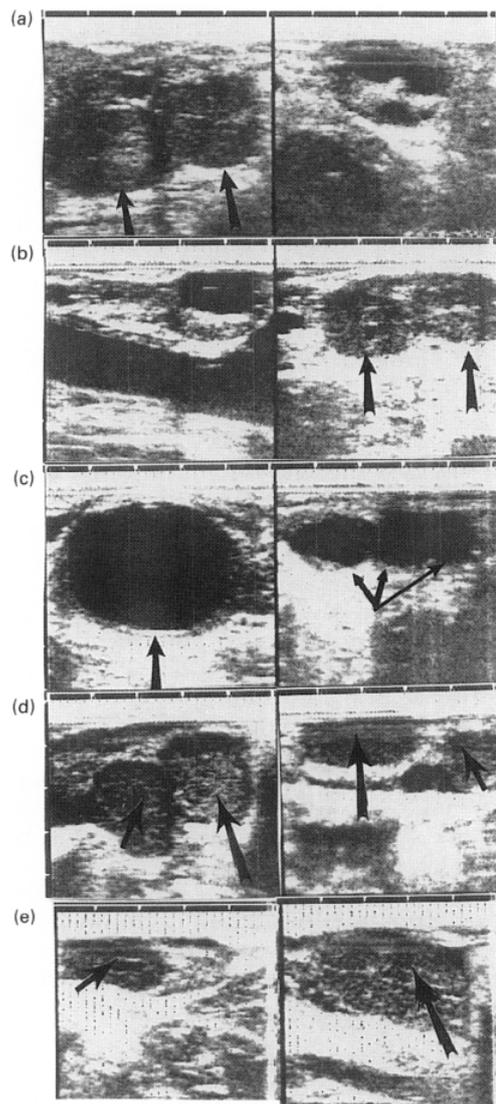


Figure 20 : images échographiques d'ovaires gauche et à droite montrant les corps jaunes en double (a) vache témoin et (b) vache traitée avec l'hCG à j0, et (c) follicule kystique (ovaire gauche) chez une vache traitée à j 0 : les corps jaunes induits ont été observés après traitement à l' hCG donnée soit au jour 7 (d, flèche courte) ou 14 jours (e, flèche courte) après l'insémination (Rajamahendran et Sianangama 1992).

Les chercheurs ont rapporté des réactions différentes du CL à la PGF2 α . chez les bovins traités à hCG. Plusieurs auteurs [Bolt (1979), McDermott et al. (1986), Shipley et al. (1988)] ont signalé une lutéolyse retardée et moins d'animaux manifestent leurs chaleurs lorsqu'ils ont reçu une injection PGF2 α après un traitement par hCG. Shipley et al. (1988) ont également signalé une réduction de la fertilité chez les bovins après le traitement de 2.500 UI de hCG. Bolt (1979) et McDermott et al.(1986) ont montré que les vaches traitées à l'hCG réponds à PGFB2 α avec une baisse rapide des les concentrations sanguines en progestérone dans les 24 h, mais la progestérone restait encore > 1 ng/ml durant plusieurs jours. Cependant, Howard et Britt (1990)

Ont rapporté une diminution du taux de concentration en progestérone chez les génisses qui ont reçu la PGF2 α 2 à 5 jours après 5.000 UI de hCG données le 10eme jour du cycle. En plus de la lyse du CL existant, la PGF2 α a aussi provoqué la lyse du corps jaune accessoire induit par l'hCG.

C. Autres stratégies pour augmenter la progestéronémie.

1. Apport de la progestérone exogène

Plusieurs chercheurs ont constaté l'effet bénéfique de la progestérone injectée quotidiennement sur les taux de gestations (Wiltbank et al., 1956). Récemment la concentration plasmatique de la progestérone était augmentée par l'utilisation des dispositifs intravaginaux imprégnés de progestérone (Van Cleeff et al., 1991; Marques, 2002; Stevenson et al. 2007).

Mann et Laming (1999) ont démontré qu'une supplémentation en progestérone permet d'augmenter le taux de conception lorsqu'elle est effectuée avant le 6eme jour après insémination chez la vache laitière. Cela est d'autant plus évident lorsque l'on réalise cette supplémentation sur des vaches à faibles taux de fertilité c'est-à-dire dans le taux de conception est inférieur à 50%.Garret et al (1998) ont montré qu'une supplémentation en progestérone pendant les 4 jours suivant l'IA augmente le développement et morphologique et l'activité de synthèse des conceptus âgés de 14 jours. Ils concluent que la supplémentation doit être effectuée à une date précise probablement parce qu'elle altère l'activité sécrétoire de l'endomètre et par la même la croissance de l'embryon. Une supplémentation en progestérone est efficace uniquement sur des vaches dont les concentrations en progestérone se situent entre 1 et 2 ng/mL à J 5 après insémination (McNeill., et al 2006).

Cependant, Lynch et al (1999) ont mis en évidence qu'une administration systématique de progestérone par voie vaginal chez les génisses à partir de J2-J3 et ce pendant 10 jours entraîne une diminution de l'intervalle interœstral (17 jours vs 20 jours, $P < 0,001$).

Hanzen et al (1999) mettent en garde contre le fait qu'un apport trop important en progestérone est de nature à réduire la libération en hormone LH et par conséquent le support lutéotrophique indispensable au maintien du corps jaune. Une fois l'administration de progestérone stoppée, le corps jaune peut être incapable de sécréter suffisamment de progestérone pour maintenir la gestation. Ainsi cette supplémentation devrait être stratégiquement ciblées envers les animaux pour qui elle sera bénéfique (McNeill., et al 2006).

2. Stratégies visant à augmenter la progestéronémie par des manipulations réalisées avant l'insémination.

Mantovani et al. (2005) ont utilisé des dispositifs intravaginaux imprégnés de progestérone avant une ovulation induite afin d'avoir un follicule plus large avant l'ovulation chez des génisses receveuses d'embryons. Les follicules plus larges ont donné des corps jaunes plus gros et qui sécrètent plus de progestérone qui assure un bon développement de l'embryon. Le jour du transfert embryonnaire (J7) la taille du corps jaune (1.9 ± 0.1 vs. 2.3 ± 0.1 cm²) et la concentration plasmatique de progestérone (2.3 ± 0.2 vs. 3.8 ± 0.2 ng/ml) étaient plus élevées dans le groupe des génisses traitées que dans le groupe témoin. Par contre le taux de gestation n'était pas affecté par le traitement (30% vs 29,6% pour les animaux témoins et traités, respectivement). Il est possible que les effets néfastes d'une exposition prolongée à une concentration élevée de progestérone (dispositif intravaginal) et d'œstradiol (produite par le follicule dominant) lors du cycle précédent au transfert des embryons ont contrebalancé les effets bénéfiques d'une progestéronémie élevée après traitement (Wehrman et al., 1997; Shahan-Albalancy et al., 2001).

Une autre approche pour stimuler la croissance du follicule préovulatoire visant à obtenir un corps jaune plus gros, cette approche consiste à augmenter le temps de croissance du follicule dans un milieu à concentration faible en progestérone (Vasconcelos et al., 2000). Cela peut être réalisé par l'augmentation de l'intervalle entre la suppression de la progestérone endogène (injection de la PGF2 α) et l'induction de l'ovulation dans les protocoles de l'insémination.

Récemment, Peres et al. (2008) ont utilisé des dispositifs imprégnés de progestérone pendant 9 jours pour synchroniser des vaches Nelliennes. Après, les vaches ont reçu une injection de PGF2 α le jour de retrait des dispositifs ou 2 jours avant le retrait des dispositifs,

l'ovulation était induite chez toutes les vaches par une injection de cypionate d'œstradiol le jour de retrait des dispositifs. Le diamètre du folliculaire préovulatoire (11.5 ± 0.2 vs. 10.8 ± 0.2 mm) et la concentration en progestérone (3.05 ± 0.2 vs. 4.58 ± 0.2 ng/ml) étaient pris le jour de retrait étaient significativement supérieurs ($P < 0.05$) chez le groupe des vache qui ont reçu l'injection de la PGF 2α 2 jour avant le retrait des dispositifs que chez les vaches de groupe témoin. Ainsi que tau de gestation était significativement supérieur chez le premier groupe que chez le groupe témoin (52.0 vs. 36.4%, respectivement).

Ainsi que la croissance et la différenciation de follicule préovulatoire peuvent être stimulé par l'utilisation de eCG, Baruselli et al. (2003) et Cutaia et al. (2003) ont montré que l'injection de 400 UI d'eCG le jour de retrait des dispositifs imprégnés de progestérone a augmenté le tau de gestation chez les vaches de race Bradford (26.7 vs. 34.6%), Nellore (38.9 vs. 45.7%) et Nellore croisées (46.8 vs.59.1%). Leur hypothèse était que le follicule stimulé par l'injection de l'eCG donne un bon corps jaune qui secrète suffisamment de progestérone pour le développement embryonnaire. Mais il faut noter que l'efficacité de l'eCG est variable sellent plusieurs facteurs telle que, l'état corporel, le jour du post-partum et l'allaitement (Bó et al. 2007).

D. Quel est l'intérêt d'augmenter progestéronémie

Quel est l'intérêt de la supplémentation progestéronique si elle n'améliore pas la fertilité d'après certains chercheurs, mais d'autres chercheurs disent le contraire, les effets bénéfiques du corps jaunes accessoire et de la supplémentation progestéronique ont été signalés par plusieurs chercheurs (Santos et al, 2001; Marques, 2002; Stevenson et al, 2007 ; Binelli et al ;2009).

Par exemple dans l'expérience de Schmitt *et al.*, (1996) les taux de gestation des génisses traitées à l'hCG et non traitées étaient similaires 65% contre 63% respectivement. En outre Machado *et al.* (2006b) ont utilisé l'hCG et la GnRH pour induire un corps jaune accessoire chez des receveuses d'embryons au Brésil. Durant la saison chaude le taux de gestation chez les receveuses traitées était supérieur de 10 % par rapport au lot des receveuses non traitées (50 vs. 40.5%, respectivement). Cependant les taux de gestation étaient similaires durant la saison froide (59.6 vs. 60.4% pour le groupe témoin contre le groupe traité).

Résumant une série de données ($n = 1984$), BO et al. (2007) ont indiqué que dans les protocoles de synchronisation utilisant l'eCG améliore le tau de gestation chez les vaches qui ont un état corporel compris entre 2 et 3, mais l'eCG n'a pas d'effet sur le taux de gestation chez les vaches d'un état corporel de 3,5. On peut dire que la supplémentation progestéronique a beaucoup d'avantages sur la fertilité lorsque la progestéronémie est limitée mais le diagnostic précis de cette dernière demeure imprécis (Binelli et al.2009).

Un autre aspect important à considérer lors de la planification d'une stratégie de supplémentation progestéronique est le moment idéal de la supplémentation. Dans un bon travail réalisé par Demetrio et al. (2007), les taux de gestation étaient analysés en fonction des concentrations de progestérone mesurée à j7 pour les animaux recevant une insémination artificielle ou un transfert d'embryons. Les taux de conception ont été positivement associés à la concentration de progestérone pour les vaches inséminées. Étonnamment il n'y avait aucune corrélation chez les vaches receveuses d'embryons. En outre, il avait pas de corrélation entre les taux de gestation et les concentrations de progestérone mesurée à j 14 pour les vaches inséminées comme pour les vaches receveuses d'embryons. Ceci est en accord avec les données de Mann et al. (2006). Ces auteurs ont observé que la supplémentation progestéronique par les dispositifs intravaginaux stimule la croissance de l'embryon lorsque leur mis en place et entre j 5 et j 9 mais pas entre j 12 et j 16 .

Il est suggéré que la supplémentation progestéronique est mise en place avant l'allongement de l'embryon (Marques 2002). Cet auteur a traité des génisses le jour du transfert embryonnaire (j 7) par l'induction d'un corps jaune accessoire avec la GnRH, l'hCG et la LH ou par la supplémentation progestéronique sous forme de dispositifs intravaginaux. En raison du temps nécessaire pour l'ovulation et la lutéinisation en réponse à des injections, l'augmentation de la concentration en progestérone devrait prendre au moins 48 h pour être détectée (Diaz *et al.*, 1998). Malgré tout, la supplémentation progestéronique augmente les taux de gestation par rapport aux témoins (28.6%, 53.5%, 57.0%, 45.4% pour GnRH-, hCG-, LH ou dispositifs intravaginaux, respectivement contre 41.1% pour les témoins). En général, les effets de la supplémentation progestéronique varient selon le stade du développement embryonnaire ainsi que d'autres facteurs qui restent à préciser tels que : la nutrition, la gestion de l'élevage, la race, la parité...etc. (Binelli et al. 2009).

Finalement, il est très important de prendre en considération les différentes manipulations qui augmentent le taux de la progestéronémie. Par exemple, l'utilisation de la LH à j6 pour induire l'ovulation du follicule dominant de la première vague folliculaire accélère l'émergence de la seconde vague et toutes les vaches présentent 3 vagues folliculaires par cycle (Goisis *et al.*, 2004). Cela a également été signalé chez des génisses recevant l'hCG à j5 (Diaz *et al.*, 1998). Ahmad *et al.* (1997) ont signalé que les vaches avec 3 vagues folliculaires ont un taux de gestation élevé à ce des vaches qui ont 2 vagues.

En outre, Santos *et al.* (2008b) ont signalé que l'effet de la progestérone sur le mécanisme de la libération des PGF durant la gestation n'a pas été étudié chez les bovins.

VI. Autres stratégies pour prévenir les mortalités embryonnaires.

A. Diminution de l'œstrogénémie après l'insémination

1. Effet des œstrogènes sur la survie de l'embryon.

Inskeep (2004) a indiqué que les œstrogènes secrétés par un grand follicule entre le 14^{ème} et le 17^{ème} jour de gestation peuvent avoir un effet néfaste sur la survie de l'embryon.

Binelli et al. (2001) ont suggéré des stratégies antilutéolique pour diminuer le taux des mortalités embryonnaires. Par exemple, il est connu qu'un follicule secrète une quantité croissante d'œstrogène durant sa croissance jusqu'au stade de follicule dominant (Komar et al., 2001). En plus les œstrogène ont un rôle central dans la production des PGF et la lutéolyse (Villa-Godoy *et al.*, 1985; Thatcher *et al.*, 1986; Salfen *et al.*, 1999), par des mécanismes mal connus chez la vache. Ainsi que la suppression du follicule dominant diminue sa capacité stéroïdienne et aussi les réactions de l'endomètre à l'œstradiol durant la période de reconnaissance maternelle de l'embryon cette suppression devrait augmenter la probabilité de la survie embryonnaire. Des techniques pharmacologiques et mécaniques étaient étudiées pour réduire le tau d'œstradiol.

2. Manipulations qui permettent la diminution de l'œstrogénémie

a. Manipulations mécaniques

Un moyen simple de réduire la concentration plasmatique d'œstradiol et la ponction écho-guidée du follicule dominant.

Bisinotto *et al.* (2006) ont ponctionné les follicules supérieurs à 6mm et ont fait des prélèvements sanguins chaque jour dès le 13^{ème} jour jusqu'au 25^{ème} jour du cycle œstral chez des vaches *Bos taurus indicus* croisées. Leur hypothèse été que la diminution de la progestéronémie après lutéolyse est retardée chez le groupe des vaches dont les follicules étaient ponctionnés par rapport au groupe témoin (pas de ponction). La ponction a diminué la taille moyenne de plus gros follicule avant que la lutéolyse aura lieu (j 15 à j 19 du cycle ; 8.5 ± 0.2 vs. 6.4 ± 0.2 mm pour le groupe témoin et le groupe des vaches ponctionnées, respectivement ; $P < 0.01$). La ponction a aussi diminué la concentration plasmatique d'œstradiol entre le 18^{ème} et le 20^{ème} jour du cycle (4.3 ± 0.72 vs 2.95 ± 0.72 . pg/ml mm pour le groupe témoin et le groupe des vaches ponctionnées, respectivement ; $P < 0.01$). Mais le jour de la lutéolyse reste similaire pour les 2 groupes (19.6 ± 0.4 jour du cycle). Une autre étude était réalisée sur des génisses de race Holstein

Araujo *et al.* (2008) ont ponctionné les follicules supérieurs à 4mm le 9eme jour du cycle (groupe témoin) ou chaque jour dès le 9eme jour jusqu'au 21eme jour du cycle (groupe traité). La concentration plasmatique d'œstradiol a augmenté à partir du 16eme jour du cycle chez le groupe témoin et à partir de 22eme jour chez le groupe traité. La lutéolyse a commencé le 16eme jour du cycle chez le groupe témoin mais elle a été retardée jusqu'au 19eme jour chez le groupe traité. Une possible explication de l'écart de ces résultats est qu'une grande réduction de diamètre moyen des follicules entraîne une diminution de la concentration plasmatique d'œstradiol est nécessaire pour inhiber ou retarder la lutéolyse chez les bovins *Bos taurus indicus* et de leurs hybrides. Tous les résultats montrent que la lutéolyse peut être déclenchée par une faible quantité d'œstradiol sécrétée par un petit follicule. Dans ce contexte, nos données publiées indiquent que la libération des PGF après des injections d'œstradiol augmente progressivement le 13 eme, 15 eme, 17 eme et 19 eme jour du cycle chez les vaches de race Holstein (Binelli et al.2009).

Une autre approche expérimentale qui vise à diminuer la sensibilité de l'endomètre à l'œstradiol Afin de retarder le lutéolyse. Santos et al. (2008b) ont montré que la ponction du follicule dominant de la première vague le 6eme jour du cycle œstral a retardé la libération PGF en réponse à une injection d'œstradiol le 17eme jour du cycle par rapport au témoin. Ces données sont intrigants qui nécessite une étude plus poussée élucider les mécanismes potentiels impliqués.

b. Manipulations pharmacologiques

Les follicules et les vagues folliculaires peuvent être manipulés par des approches pharmacologiques (*cf.* fig 21). Ainsi, on peut profiter d'une telle approche visant à réduire le temps qu'il faut pour la reconnaissance maternelle de conceptus en présence d'un follicule qui sécrète des œstrogènes (Binelli et al.2009). Machado *et al.* (2008) ont injecté 3000UI d'hCG le 5eme jour du cycle et 5 mg estradiol-17 β le 12eme jour a des vaches Nellorienne (*Bos taurus indicus*). Diaz et al (1998) en remarqué une baisse de la concentration plasmatique en œstradiol-17 β (figure) entre le groupe traité à l'hCG et le groupe témoin mais cette différence n'était pas significatif ($P > 0.10$).

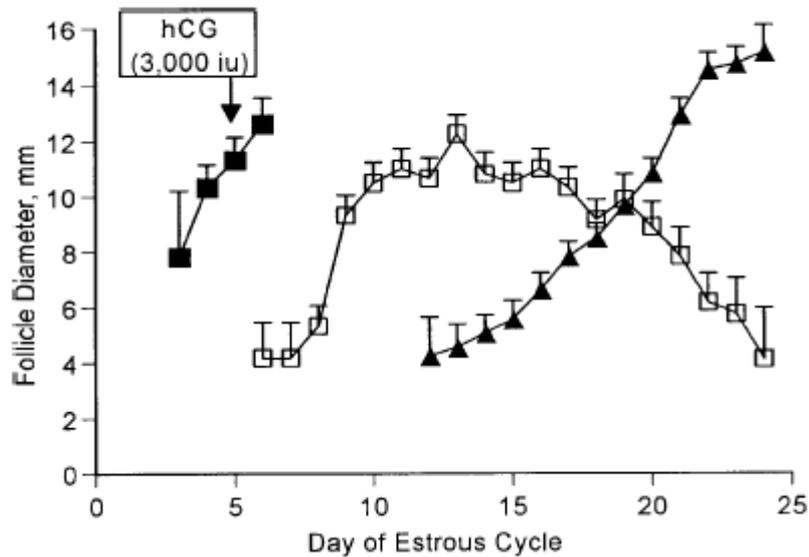


Figure 21 : croissance du follicule dominant de la première (■), la deuxième (□) et la troisième (▲) vague folliculaire chez les génisses traitées par l'hCG à J 5 post-oestrus (Diaz et al 1998).

En accord avec Bó *et al.* (1995), le traitement par l'œstradiol a stimulé l'émergence d'une nouvelle vague de croissance folliculaire environ 4 jours plus tard. En conséquence, les follicules dominants n'ont pas été observés dans les ovaires jusqu'au jour de 19,4 pour les animaux recevant l'hCG et l'œstradiol vs 16,6 jours pour les animaux de groupe témoin. En dépit de ce fait, le traitement par l'œstradiol a anticipé la lutéolyse en moyenne d'un jour et demi par rapport au groupe témoin. Il est prévu que la lutéolyse est retardée à cause de l'absence de follicule dominant durant la période péri-lutéolyse (j 15 à j 19 du cycle). Il est possible que l'injection d'œstradiol le 12ème jour du cycle conduit à la lutéolyse prématurée. Après ; Bergamaschi *et al.* (2006) ont injecté la GnRH à j5 et l'hCG à j13 du cycle oestral après synchronisation des vaches, l'objectif de l'injection de la GnRH était de déclencher l'ovulation du follicule dominant de la première vague et la formation d'un corps jaune accessoire. En outre l'émergence d'une seconde vague folliculaire par conséquent le follicule dominant de la deuxième vague folliculaire atteint une taille suffisante le 13ème jour du cycle pour répondre à l'injection d'hCG. L'injection d'hCG provoque l'ovulation du follicule dominant de la deuxième vague et induit un second corps jaune accessoire ainsi que l'émergence de la troisième vague de développement folliculaire (*cf.* fig 22) (Diaz et al 1998). Le but était de lutter contre la lutéolyse en présence d'un follicule dominant qui sécrète une quantité importante d'œstrogène. Dans un milieu à concentration faible en œstrogène les stimuli de la lutéolyse devraient être faibles. En effet ; les animaux recevant le traitement combiné GnRH-hCG ont une phase prolongation de 6 jours de la phase lutéale par rapport au groupe d'animaux témoin (19 vs. 25 jours). Indiquant que la lutéolyse a été retardée chez ces animaux, en plus les pertes embryonnaires entre le 30ème et le 60ème jour de gestation étaient réduites chez les animaux traités par rapport aux animaux non traités ; respectivement 6.2 vs. 17.6% (Machado *et al.*, 2006).

Enfin ; le traitement combiné GnRH-hCG induit une augmentation de la concentration plasmatique en progestérone qui a des effets bénéfiques sur le développement et la survie de l'embryon, comme mentionné ci-dessus. Par conséquent, cette approche GnRH-hCG à la fois augmente la concentration plasmatique en progestérone et diminue celle d'œstradiol et modifie aussi la fonction de l'utérus et a le potentiel d'influer positivement sur les taux de gestation chez les bovins (Binelli et al.2009).

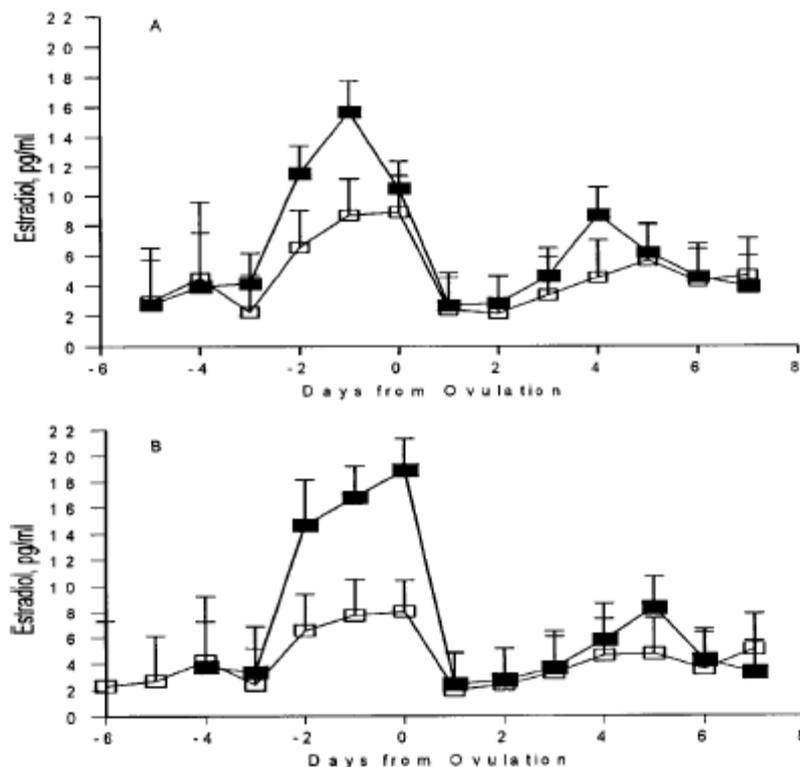


Figure 22 : concentrations plasmatiques d'œstradiol-17β chez le groupe hCG (■) et le groupe témoin des génisses (▲) (Diaz et al 1998).

(A) génisse avec deux vagues folliculaires

(B) génisse avec trois vagues folliculaires

Quel est l'intérêt de diminuer l'œstrogénémie

La synthèse des PGF peut être achevée par la maîtrise de la synthèse et la réactivité de l'œstradiol. Les connaissances actuelles de la dynamique, la régulation endocrine et les manipulations du développement folliculaire restent les principales conditions pour gérer le temps et l'ampleur de la production de l'œstradiol par le follicule dominant. Comme

mentionné ci-dessus, ces principes peuvent être appliqués comme un moyen de contrôler la production de PGF et par conséquent, le contrôle de la lutéolyse (Binelli et al.2009).

Cependant, le succès de ces approches reste partiel. Si on peut contrôler la réaction de l'utérus aux œstrogènes, il est possible que la production des PGF au cours la période péri-lutéolyse pourrait être manipulées avec plus de précision pour la réduire encore. Cependant, l'acquisition de la sensibilité utérine à l'estradiol est un processus mal compris. Il est connu que sensibilité utérine à l'estradiol augmente considérablement vers la fin de la phase lutéale (Bisinotto et al., 2006; Araujo et al., 2008). Dans chaque étude, les follicules ont été maintenus à des dimensions semblables à travers les ponctions fréquentes et ainsi à leur capacité à produire l'oestradiol. Au cour du cycle, la concentration plasmatique d'oestradiol acquis la capacité d'induire la sécrétion des PGF et la lutéolyse, probablement due à une sensibilité accrue des l'utérus au œstrogènes. Dans l'endomètre de la brebis, la diminution des récepteurs de la progestérone au milieu du cycle permet l'expression des récepteurs de l'œstrogène, à son tour active les récepteurs ocytociques qui sont la clé de régulation de la libération pulsatile des PGF et la lutéolyse (McCraken *et al.*, 1984). Une meilleure compréhension des mécanismes endocriniens, cellulaires et moléculaires de la régulation de la dynamique de l'expression des récepteurs d'œstrogène dans l'utérus des vaches mérites des recherches plus approfondies (Binelli et al.2009).

B. Renforcement du signal embryonnaire

Des espoirs thérapeutiques sont fondés sur l'utilisation de l'INFr pour diminuer la mortalité embryonnaire lors de retard dans le développement du conceptus. L'administration de l'INFr recombinant par voie intra utérine permet de maintenir la sécrétion lutéale de progestérone pendant 8 à 10 jours supplémentaires chez des caches cyclées (Gabilovac 45 cité par Picard-Hagen et al., 2003). Des expériences conduites sur des souris mais pas reproduites sur des vaches ont montré que l'administration de l'INFr au moment de l'implantation diminue la mortalité embryonnaire.

Barros et al.1992 ont administré de l'INF α chez des vaches après insémination dans le but de mimer l'effet de l'INFr mais au lieu d'améliorer la fertilité cela a entraîné une légère réduction du taux de gestation. En plus les vaches ayant reçu cet INF α ont présenté une hyperthermie aigue, des perturbations de leur sécrétion de LH et une diminution à court terme des concentrations en progestérone circulante.

C. Utilisation de la flunexine meglumine

La synthèse des PGF résulte d'une coordination de d'une cascade d'événements intracellulaires Une étape intéressante dans cette cascade est la conversion de l'acide arachidonique en prostaglandine-H2 (PGH) par l'enzyme enzyme prostaglandine endopéroxydase synthase 2 (PTGS2 ou COX-2) Le PGH est ensuite converti en PGF. Stratégies ciblant l'inhibition de l'activation des PTGS2 et par conséquent la synthèse des PGF lors de la reconnaissance maternelle devrait augmenter les chances de la survie de l'embryon.

Guzeloglu *et al.* (2007) ont traité des génisses de race Holstein avec la flunixin meglumine, un anti-inflammatoire non stéroïdien qui inhibe l'activation des PTGS2, le 15eme et le 16eme jour du cycle. Ils ont constaté un tau élevé de gestation chez les vaches traitées le 29eme jour de gestation (76.9 vs. 50%; $P < 0.04$) et (69.2 vs. 46.2%; $P < 0.09$) le 65eme jour de gestation. Ces résultats ressemblent aux résultats rapportés par Merryl *et al.* (2007) et Pfeifer *et al.* (2007). Il est possible que ce traitement inhibe temporairement la synthèse des PGF permettant la synthèse des antilutéolytique embryonnaire (IFN) et qui entraîne une mortalité embryonnaire faible. Il est intéressant de mentionner que l'inhibition de la synthèse des PTGS2 doit avoir lieu au bon moment avec la reconnaissance maternelle de l'embryon. Edmond *et al.* (2004) ont observé l'expression des protéines PTGS2 dans les tissus embryonnaires à partir du 18 e jour de gestation. Par conséquent, l'inhibition d'activation des PTGS2 à partir de ce moment peut en fait être nuisible au développement de l'embryon.

D. Utilisation de l'alimentation grasse.

L'alimentation grasse influence sur plusieurs aspects de la reproduction bovine (Santos *et al.*, 2008a). Plus précisément, l'alimentation riche en acide gras à longues chaînes peut moduler la production des PGF dans l'endomètre. Les acides gras n-3 diminuent la production des PGF (Mattos *et al.*, 2003, 2004), alors que des effets inverses étaient observés lorsque le bétail était nourri avec une alimentation riche en les acides gras n-6 (Pettit et Twagiramungu, 2004). Les résultats des Bilby *et al.* (2006a, b) indiquent que les effets bénéfiques d'une alimentation riches en d'acides gras n-3 donnée a des vaches en lactation peut être la cause de la diminution de la proportion d'acide arachidonique dans les lipides de l'endomètre. Ces résultats corroborent les résultats de Burns *et al.* (2003).

La diminution des substrats pour la synthèse de PGF devrait se traduire par un environnement utérin contribuant moins à la lutéolyse, qui devrait aboutir à des taux plus élevés de la survie embryonnaires. Un résumé des effets des acides gras alimentaires sur la fertilité des bovins déclarés par Santos et al. (2008a) ont indiqué que les taux de gestation et

les pertes embryonnaires varient dans les différentes études en fonction des conditions expérimentales et le type de la matière grasse incluse dans l'alimentation. Par exemple ; le rapport avec des groupes de vaches nourries avec des acides gras saturés, les pertes embryonnaires ont diminué entre 53 et 100% dans 3 études et il n'est pas affecté dans 2 autres études chez les vaches qui ont reçu des régimes enrichi en acides gras n-3 (Binelli et al.2009).

E. Utilisation de la bST

Les stratégies visant à stimuler la croissance de concepts devraient se traduire par des taux de survie embryonnaire plus élevée. La sécrétion de l'IFN est positivement associée à la taille de conceptus (Mann et al., 1999), par conséquent, l'embryon ira mieux si la synthèse des PGF et la lutéolyse sont inhibées. Une façon possible de stimuler la croissance de conceptus se fait par l'administration de la bST. Par exemple ; in vitro l'administration de bST recombinante augmente le tau de fertilisation, accélère le développement embryonnaire et améliore la qualité des embryons (Moreira et al., 2002b). Dans une subséquente étude, le placebo et la bST ont été injectés à des vaches superovulées et à des vaches receveuses d'embryons (Moreira et al., 2002a). Le traitement à la bST a augmenté la proportion d'embryons transférables, le nombre de blastocystes présents par rinçage et les taux de gestation chez les receveuses traités à la bST. En conclusion ; l'effet bénéfique de la bST était sur l'embryon et la mère en même temps. Dans une subséquente étude ; des vaches laitières recevant des injections de la bST ou ont servi comme des témoins, ces vaches étaient abattues le 17eme jour post-insémination (Bilby et al. 2006b,c). Le traitement à la bST a augmenté la longueur de conceptus (45 vs. 34 cm) et la concentration utérine en IFN (9.4 vs. 5.3µg) par rapport au groupe témoin. Des résultats cohérents ont été signalés par Santos et al. (2004a), qui ont montré une diminution des pertes embryonnaires chez les vaches traitées à la bST.

F. Les futures recherches

Il est prévu que de nouvelles stratégies antilutéolytiques apparaîtront quand les enquêteurs comprennent mieux la biologie de la reconnaissance de la gestation. Plus précisément, les nouvelles compréhensions doivent être recueillies dans les rubriques en mesure de la mortalité embryonnaire, la biologie de l'utérus et de la gestation.

La quantification des pertes embryonnaires et les échecs de la reconnaissance maternelle ne sont pas une chose aisée. Parce qu'il n'y a pas des marqueurs nette de la gestation qui peut être mesurés de façon non invasive dans cette période il n'existe actuellement aucune variable qui peut être mesurés dans des échantillons de sang prélevé sur la mère qui est un indicateur adéquat de l'état de conceptus (Binelli et al.2009).

Cependant, de nouveaux outils de diagnostic sont en développement, tels que les découvertes passionnantes de Gifford et al. (2007). Dans cette étude, l'expression des gènes interférons stimulés ont été détecté seulement dans les leucocytes des vaches gestantes. L'association des l'expression des gènes stimulés-conceptus dans l'expression des leucocytes et le statut de l'embryon pousse de plus en plus l'étude qui peut fournir un outil unique pour quantifier la mortalité embryonnaire précoce. Le diagnostique échographique de la gestation est utilisé est devenu un diagnostique de routine. Cependant, cette technique n'a atteint que 100% de sensibilité que le 26eme jour de gestation pour les génisses et le 29eme jour pour les vaches (Romano et al., 2006) et ces jours dépassent la date de la période de la reconnaissance maternelle de la gestation. Alors cette méthode n'est pas fiable pour de le diagnostique des mortalités embryonnaires précoces. En conclusion, les études qui montrent les pertes embryonnaires précoces sont rares (durant les 3 premières semaines de gestation) (Diskin et Morris, 2008), dans les différentes études la gestation était interrompue pour l'inspection visuelle de conceptus. La détermination précise des facteurs de responsable de la fréquence des pertes d'embryons est essentielle pour la découverte et l'élaboration de stratégies plus précises pour une meilleure survie de conceptus.

La croissance initiale de conceptus dépend fortement du microenvironnement de la lumière utérine où il doit y avoir la composition optimale des facteurs nécessaires pour le développement de l'embryon. De même, il doit y avoir des facteurs dont la présence est nuisible à la croissance embryonnaire. La nature de ces facteurs, demeure largement inconnue. La caractérisation des facteurs dans le milieu intra-utérin qui stimulent / limitent la croissance de conceptus est urgent nécessaires, car ils peuvent :

- fournir des explications biologiques des mécanismes d'action des stratégies de la supplémentation progestéronique.
- Donner des marqueurs de la fertilité ou l'infertilité associée à des animaux individuels ou au troupeau.
- fournir de nouvelles méthodes pour la stimulation / inhibition des facteurs spécifiques liés a la gestation.

Par exemple, il est concéderai que la supplémentation progestérone est bénéfique pour la survie de l'embryon par ce qu'elle augmente le synthèse des facteurs qui stimule la croissance de conceptus. L'identification des ces facteurs explique plus l'intérêt de la supplémentation progestéronique pour améliorer la survie de conceptus avant le 7eme jour de la gestation (Mann *et al.*, 2006; Demetrio *et al.*, 2007) contrairement, après le 7eme jour (Marques, 2002). Des travaux récents ont identifié l'expression des gènes endométriaux en réponse à l'augmentation de la concentration plasmatique en progestérone (Forde *et al.*, 2008), mais les changements dans la composition des fluides utérins restent peu étudiés (Binelli et al.2009).

Enfin, une meilleure compréhension de la biologie de conceptus par rapport à sa capacité à bloquer la lutéolyse est nécessaire. Par exemple, à l'exception de l'INF, peu d'informations existent sur les facteurs liés à la survie de conceptus (Binelli et al. 2009). La caractérisation de ces facteurs et la compréhension de leurs effets dans les mécanismes de la synthèse des PGF sont critiques. En outre, l'identification de ces facteurs pourrait fournir les outils pour évaluer la chance de la survie de l'embryon avant son transfert à titre d'exemple. De nouvelles données indiquent que les facteurs sécrétés peuvent non seulement agir de façon paracrine mais aussi de façon endocrine. Le sang veineux utérin possède une bioactivité des INF 500 à 1000 fois plus que le sang artériel utérin chez les brebis gestantes (Oliveira et al., 2008), alors qu'aucune différence n'était détectée chez les brebis cyclées. En plus des changements dans la bioactivité des INF, il a été également rapporté une plus grande expression des gènes stimulés par l'INF, tels que ISG15, dans les tissus extra-utérins, comme le CL, qui est responsable des actions extra-utérines et endocrines des facteurs de la reconnaissance de la gestation. Le changement dans l'expression des gènes, la fonction des tissus induits par conceptus et finalement la production des facteurs sécrétés par l'embryon sont nécessaires pour le maintien de la gestation et restent à établir, et fournissent un sujet de recherche prometteur.

VII. Etude expérimentale

A. Objectif

Suite à l'insémination artificielle, la mortalité embryonnaire est l'une des causes majeures d'échecs de reproduction. Elle est responsable de pertes financières non négligeables pour l'éleveur surtout dans les cas de transfert embryonnaires. Bien qu'elle semble survenir le plus souvent entre 8 et 16 jours après l'insémination et donc on n'arrive pas à la différencier à une non fécondation, elle peut aussi avoir lieu plus tard, ce qui peut entraîner un rallongement du cycle et de l'intervalle vêlage-vêlage.

Divers traitements hormonaux ont été tentés pour réduire les pertes embryonnaires et améliorer les taux de gestation chez les bovins. L'intérêt récent a été axé sur la gonadotrophine releasing hormone (GnRH) et la gonadotrophine chorionique humaine (hCG) utilisées à induire un CJ accessoire afin d'augmenter la concentration plasmatique en progestérone.

Dans notre étude les deux hormones étaient utilisées à J 5 post-insémination afin d'évaluer leur effet sur la formation d'un CJ accessoire et l'augmentation de la concentration plasmatique en progestérone afin de :

- Optimiser la sécrétion de progestérone.
- Assurer la survie de l'embryon, favoriser son développement et son élongation.
- Prévenir une insuffisance lutéale.

Ainsi cette technique permet de diminuer le taux de l'œstrogénémie sécrétée par le follicule dominant afin de :

- Inhiber la sécrétion endométriale de prostaglandines PGF2 α pendant la période critique
- Lutter contre la lutéolyse précoce du CJ.
- Ne pas altérer l'environnement utérin.

Notre étude vise aussi à comparer les deux hormones (GnRH et hCG) sur leur capacité de :

- Induire l'ovulation et la formation d'un corps jaune accessoire.
- Augmenter le taux de la progestérone plasmatique.
- Augmenter la taille des structures lutéales.

- Améliorer l'efficacité du protocole de synchronisation GPG qui implique une meilleure compréhension des facteurs à l'origine de l'augmentation de la mortalité embryonnaire dont ce protocole s'accompagne.

À la fin de ce travail nous essayerons de trouver une corrélation mathématique si possible entre la superficie des structures lutéales et la concentration plasmatique en progestérone.

B. Matériel et méthode

1. Période et lieu de l'étude

La présente étude a été menée au cours de la saison printanière et estivale entre le mois d'avril et le mois de septembre, dans des différentes fermes situées dans la région de Mitidja (Chiffra, Boufarik et Ouled Chbel).

2. Sélection des vaches incluse dans l'étude

a. Sélection des élevages

Les élevages présentant des problèmes sanitaires importants, une mauvaise gestion et les élevages dont l'accès était difficile n'étaient pas sélectionnés.

Seuls les élevages permettant d'inclure un minimum de 6 animaux à la fois ont été sélectionnés. Ces vaches appartiennent à deux races : Montbéliarde et Prim'Holstein hautes productrices.

i. Hébergement et condition d'élevage

Tous les animaux participant dans cette étude étaient hébergés dans des conditions d'élevage similaires dans toutes les fermes (logement, gestion, alimentation, détection des chaleurs, suivi sanitaire et de reproduction). La stabulation était semi entravée, les animaux étaient attachés seulement la nuit et au moment de la traite.

Aucune modification dans les conditions d'élevage de l'animal (modification de l'alimentation, transport, traitements antiparasitaires ou vaccination) n'a été autorisée au cours de cette étude. Plus particulièrement dans les 10 jours de synchronisation des chaleurs et pendant les 23 jours suivants l'IA.

ii. Alimentation

Dans tous les élevages, le régime alimentaire a été similaire pour tous les animaux. Aucune condition particulière n'a été requise, l'éleveur a suivi ses pratiques habituelles. L'alimentation était à base de concentré, foin et fourrage verts.

b. Notation de l'état corporel

Une note d'état corporel était attribuée le jour de l'inclusion à chaque animal, selon la grille de notation spécifiques pour chaque races (*cf* Annexe 1,2 et 3)1) allant de 0 à 5. La note minimale correspondant à un animal très maigre, la note maximale correspondant à une vache très grasse. Les vaches sélectionnées dans notre étude avaient un état corporel compris entre 2.5 et 3.5, les vaches trop maigres ($EC < 2.5$) ou les vaches trop grasses ($EC > 3.5$) étaient exclues de l'étude.

c. Examen de l'appareil génital

i. Examen par voie rectale

Une fois la main emmanchée dans un gant de fouiller rectal à usage unique, lubrifier avec de la vaseline, après que le rectum était bien vidé l'exploration de l'appareil génital de la vache a été réalisé.

➤ Examen de l'utérus

Afin écarter la présence d'une pathologie anatomique du tractus génital, l'examen de l'utérus consiste à déterminer la taille des cornes, leur position par rapport au pubis, leur consistance, leur symétrie et éventuellement la présence d'éléments figurés dans l'utérus. Le plus important dans cette examen était le control de l'involution utérine. Lors de l'examen transrectal, 3 critères permettaient de définir une corne utérine complètement involuée :

- Un diamètre de la corne au niveau de la bifurcation utérine inférieur à 4 cm.
- Une symétrie des deux cornes utérines.
- Une consistance non pâteuse.
- Une absence de caroncule palpable.

➤ Examen des ovaires

Le manipulateur examine les ovaires afin de rechercher par palpation leur taille, leur mobilité, leur position et les structures présentes (corps jaune, follicules, kystes ou tumeur). Si les ovaires étaient petits, avec aucune preuve d'ovulation ou de formation de corps jaune fonctionnel (2 cm de diamètre minimum) : la vache était considérée comme non cyclée, si l'un des ovaires, ou les deux, sont gros et s'ils sont de type tuberculeux (contours irréguliers), on considérera alors qu'il y a un corps jaune fonctionnel, preuve d'une ovulation après vêlage et que donc la vache est cyclée. Si par contre, ils ont les contours réguliers, on conclura à la présence d'un organite lisse tel qu'un follicule ou un kyste (*cf.fig 23*).

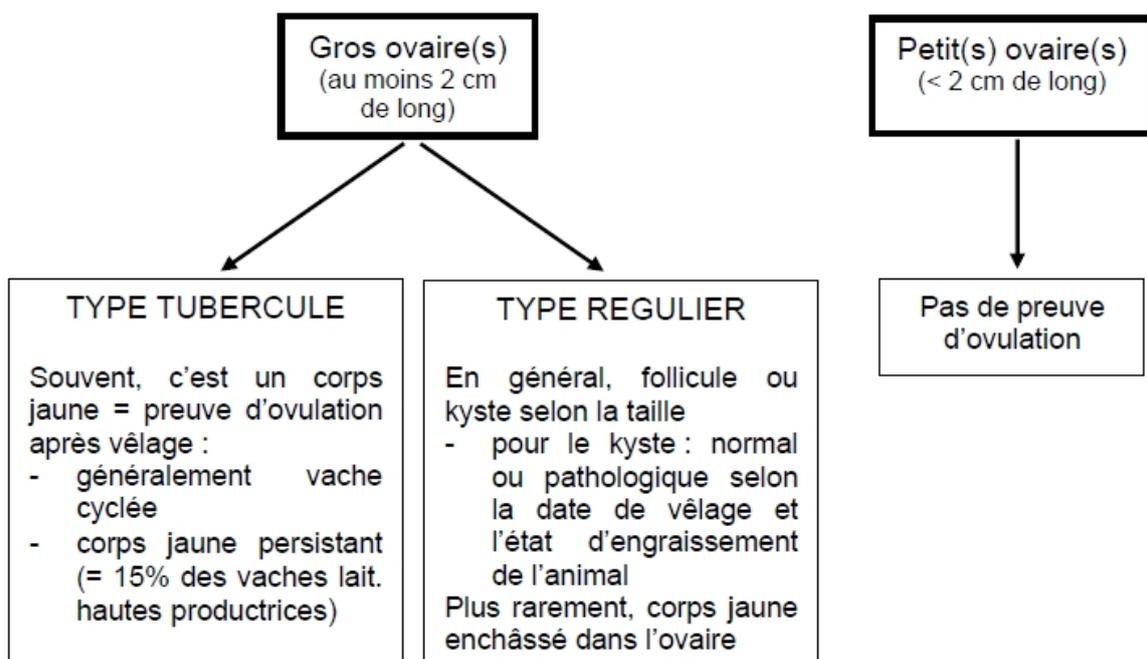


Figure 23 : démarche de diagnostic lors de la palpation des ovaires (Jean-Paul Mialoot, communication personnelle citée par Calais et Dreno (2004)).

Cet examen préliminaire nous a permis d'estimer les différents rapports existants entre ces organes, de repérer leur position dans la filière pelvienne (*cf.fig 24*) et de noter d'éventuelles modifications anatomiques liées à un processus physiologique ou pathologique. L'examen échographique peut ensuite débiter.

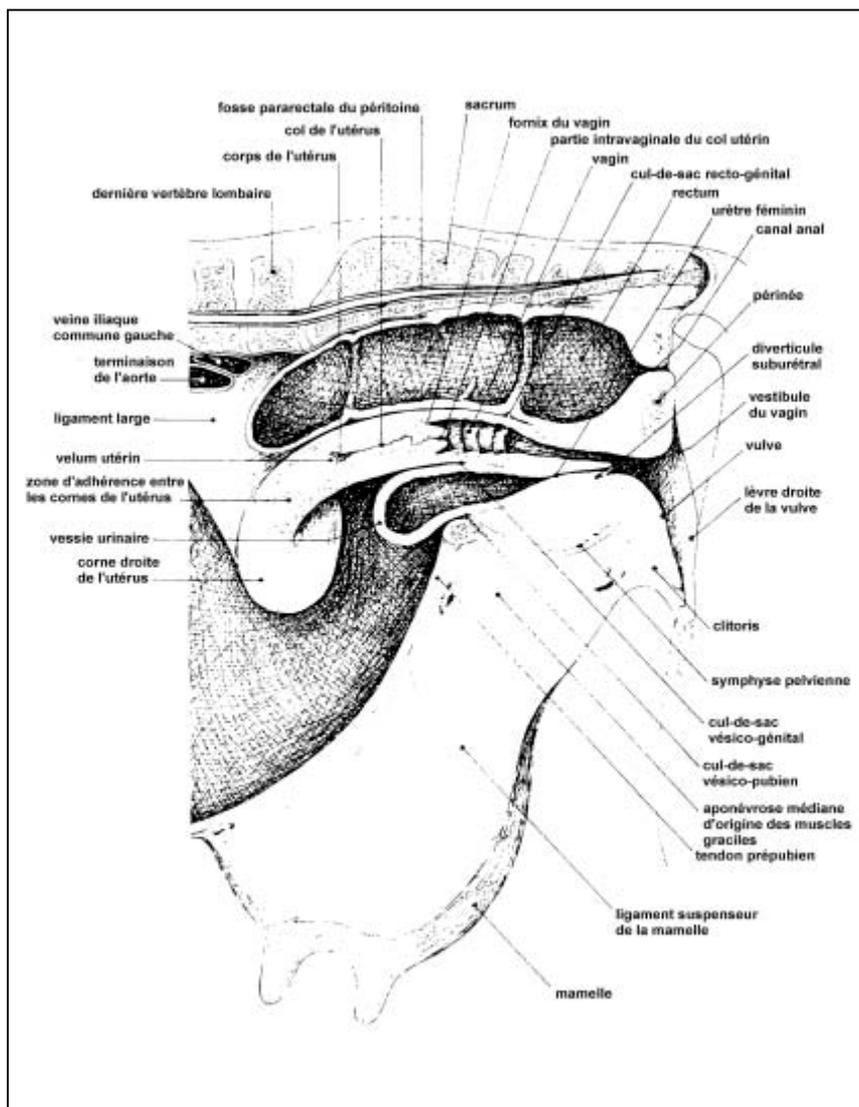


Figure 24 : Coupe médiane du bassin de vache (Barone, 1990).

ii. Examen échographique

L'examen échographique était réalisé par voie transrectale à l'aide d'un échographe portable CHISON 600 VET (cf.fig 25) équipé d'une sonde linéaire de 5MHZ. La main gantée et bien lubrifiée, la sonde était placée dans le creux de la main, les échos dirigés vers le bas, les doigts gardés en cône, afin d'éviter les traumatismes au moment de l'introduction de la main ou lors des contractions des muscles rectaux. La sonde était introduite tout doucement dans le rectum, la vessie était le premier organe à repérer qui apparaît anéchogène délimité par une paroi mince. En avançant, le corps utérin apparaît en coupe longitudinale, En continuant la progression dans le rectum l'image de l'utérus disparaît à la bifurcation des cornes. À ce niveau, la sonde était inclinée sur un coté afin de voir la corne utérine en coupe

transversale. Par la suite la sonde était glissée sur la corne utérine tout en gardant cette image transversale jusqu'à parvenir à l'ovaire. Une fois l'ovaire était repéré, l'opérateur avait effectué un balayage est réalisé sur toute sa surface afin de voir ces différentes composants (follicules, corps jaune, stroma ovarien). Le deuxième ovaire était examiné avec la même procédure. En cas de difficulté ; l'ovaire était pris entre le majeur et l'annulaire et la sonde était plaquée contre lui. Les différentes structures présentes ont été identifiées selon les critères décrits par Kähn (1994). Les structures rondes a paroi fine et qui apparaissent anéchogène avec un diamètre inférieur à 25mm était considérées comme des follicules. Les structures liquidiennes dont le diamètre était supérieur à 25 mm étaient identifiées comme kystes ovariens. Le kyste folliculaire avait une fine paroi inférieur à 3mm, par contre si la paroi était supérieure à 3mm la structure était considérée comme kyste lutéinisé. Les structures bien distinctes identifiées sous la forme d'une zone renfermant quelques points échogènes et bien démarqués du stroma ovarien étaient identifiées comme des corps jaunes. Par fois l'échographie montre une cavité anéchogène inférieur à 20mm au sein de ces structures avec une paroi de plus de 3mm. Cette structure a été identifiée comme un corps jaune cavitare.



Figure 25 : réalisation des examens échographiques.

a. Critères d'inclusion

- ✓ Vaches de race Prim'Holstein ou montbéliarde.
- ✓ Note d'état d'engraissement supérieure ou égale à 2,5 et inférieure ou égale à 3,5.
- ✓ Intervalle entre le vêlage et le traitement d'induction de l'œstrus supérieur à 45 jours.
- ✓ Rang de vêlage compris entre 1 et 6.
- ✓ Vaches non gestantes.
- ✓ vaches présentant un follicule de plus de 10mm de diamètre et/ou un corps jaune de diamètre supérieur à 20 mm (Legebvre 2009).

b. Critères d'exclusion

- ✓ Vaches d'autre race que Prim'Holstein ou montbéliarde.
- ✓ Vaches ayant une note d'engraissement inférieure à 2,5 ou supérieure à 3,5.
- ✓ Les vaches ayant mis bas depuis moins de 45 jours.
- ✓ Vaches âgées (plus de 6 vêlages).
- ✓ Les animaux présentant ou ayant présenté depuis le dernier vêlage une pathologie de l'appareil reproducteur (métrite, rétention placentaire).
- ✓ Génisses.
- ✓ Vaches gravides.
- ✓ Les vaches pour lesquelles l'involution utérine n'est pas complète.
- ✓ Les vaches qui ont avorté.
- ✓ Les animaux non cyclés ou qui ont présenté des kystes à l'examen échographique.

5. Protocole expérimental

a. Synchronisation des chaleurs et IA des vaches sélectionnées.

Les 33 vaches incluses dans l'étude étaient synchronisées par le protocole atlantique, ou *OvSynch* (GPG), selon la méthode décrite par Peters et al., (1999) qui met en jeu une injection de GnRH (**100µg de la Cystoréline® ,CEVA**), suivie sept jours plus tard, d'une injection de 25mg de PGF2α (**ENZAPROST®, CEVA**) , une seconde injection de GnRH (**100µg de la Cystoréline®**) était réalisée 56 à-60 heures après l'injection de la PGF2α. Un examen échographique était réalisé au moment de la deuxième injection de la GnRH afin de confirmer la présence d'un follicule préovulatoire. La taille de ce dernier a été mesurée.

b. Détection des chaleurs et insémination artificielle

Les ouvriers qualifiés de chaque ferme étaient avertis 48 heures après l'injection de la PGF2 α pour détecter les chaleurs. Au moment de l'insémination un examen échographique pertinent et approfondit était réalisé afin de confirmer la présence ou non d'un seul follicule préovulatoire, l'aspect le l'appareil génital et surtout la confirmation de l'absence d'un corps jaune.

L'insémination artificielle était effectuée systématiquement seize heures après la dernière injection de la GnRH.

c. Confirmation de l'ovulation

L'ovulation était confirmée 24 h après IA (deux jours après la deuxième injection de la GnRH), les vaches synchronisées étaient échographiées afin de contrôler la disparition du follicule préovulatoire. Les vaches qui non pas ovulées étaient éliminées de l'étude.

d. Induction du corps jaune accessoire le 5eme jour post-insémination

Après la synchronisation des chaleurs, l'insémination artificielle et la confirmation des ovulations, les vaches incluses étaient réparties en 3 groupes selon le type de traitement réalisé le 5eme jour post insémination artificielle.

i. Groupe 1 (hCG à J 5)

Ce groupe comportait 11 vache, 6 de race montbéliarde et les 5 vaches restantes de race Holstein. Ces vaches avaient un âge compris entre 3 et 7ans. Après la synchronisation des chaleurs avec le protocole GPG, une injection de 1500UI d'hCG (*Chorulon® Intevet*) le 5eme jour post insémination a eu lieu afin de provoquer l'ovulation du follicule dominant de la première vague folliculaire visualisé et mesuré par échographie. Cette injection d'hCG provoque la formation d'un corps jaune accessoire (secondaire) par conséquent l'augmentation du taux de la progestéronémie. Une prise de sang était effectuée chaque 3 jour dès le 5 eme jour (le jour de l'injection de l'hCG) jusqu'au 23eme jour post insémination

artificielle pour le dosage de la progestérone. Des examens échographiques étaient réalisés à J5, J8, J11, J14. Le diagnostic de gestation était réalisé à J 45 (cf.fig 26).

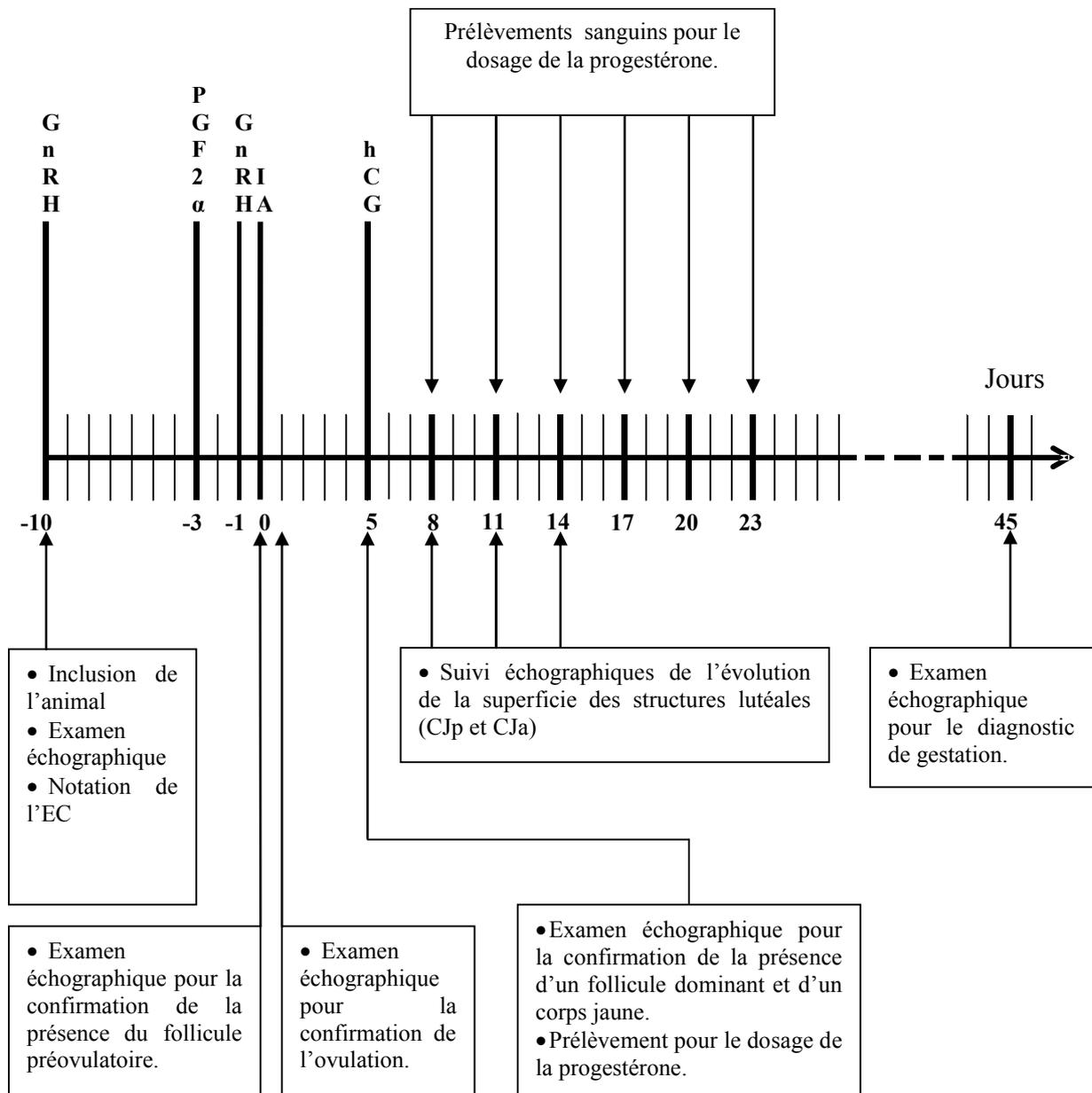


Figure 26 : protocole de l'étude dans le groupe 1 (hCG).

ii. Groupe 2 (GnRH à J 5)

Ce groupe comportait 11 vaches, 6 de race Montbéliarde et 5 autres vaches de race Holstein . Ces vaches avaient un âge compris entre 3 et 7 ans. Après la synchronisation des chaleurs avec le protocole GPG on a ajouté le 5eme jour post insémination artificielle une injection de GnRH qui provoque l'ovulation ou la lutéinisation du follicule dominant de la première vague folliculaire. Cette injection de la GnRH provoque la formation d'un corps

jaune accessoire (secondaire) par conséquent l'augmentation du taux de la progestéronémie. Pour cela des prélèvements sanguins pour le dosage de la progestérone étaient effectués sur ces vaches. Des examens échographiques étaient réalisés afin de suivre l'évolution des corps jaunes. La fréquence de l'échographie et des prélèvements sanguins était similaire avec le premier groupe (cf.fig 27).

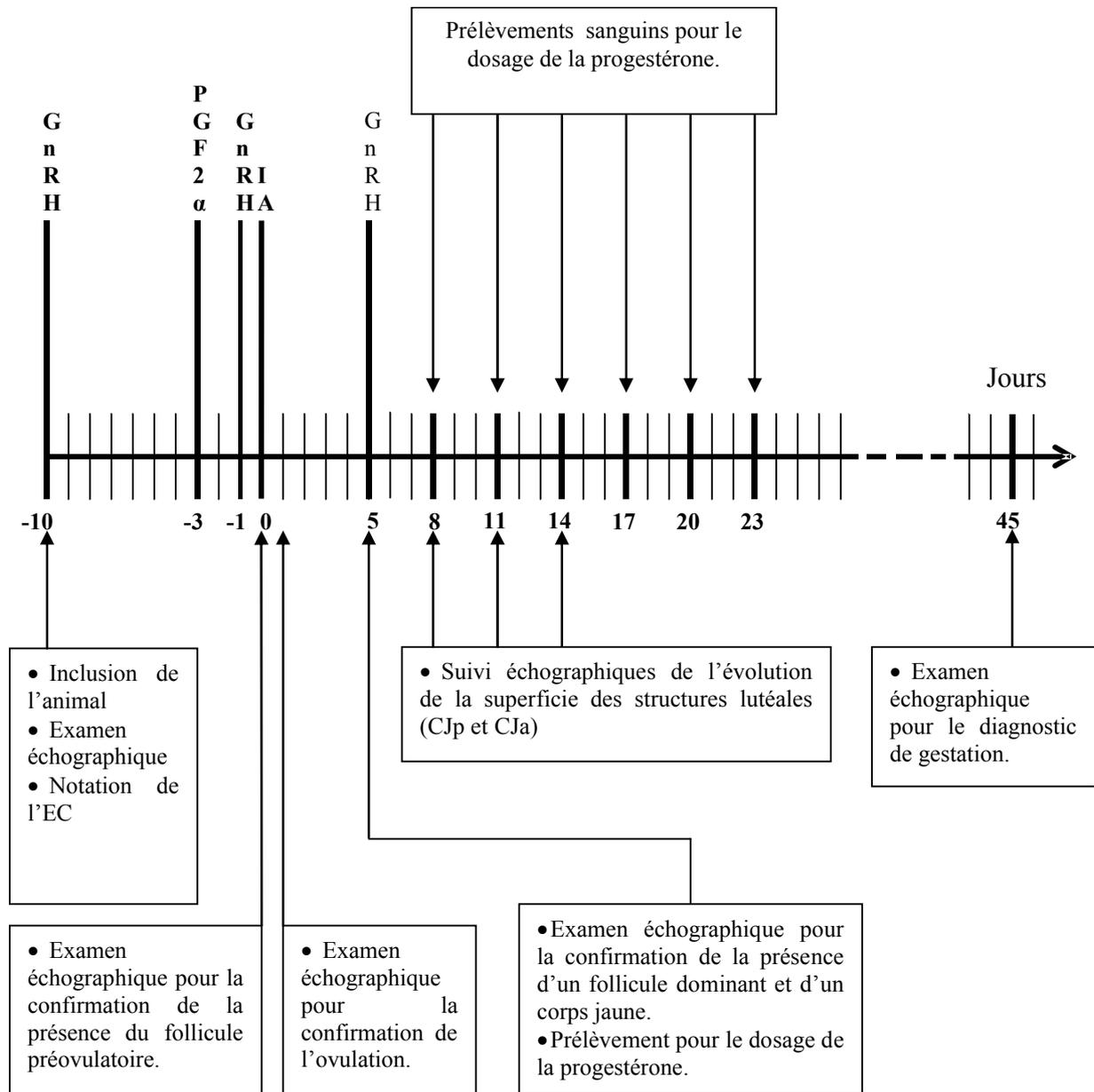


Figure 27 : protocole de l'étude dans le groupe 2 (GnRH).

iii. Groupe 3 (groupe témoin)

Ce groupe comportait à son tour 11 vache, 6 de race Montbéliarde et 5 autres de race Holstein. Ces vaches avaient un âge compris entre 3 et 7ans. Les vaches de ce groupe ont

subit des traitements de synchronisation des chaleurs pareil au autre deux groupes, mais le 5eme jour, aucun traitement n'était effectué sur ces vaches (cf.fig 28).

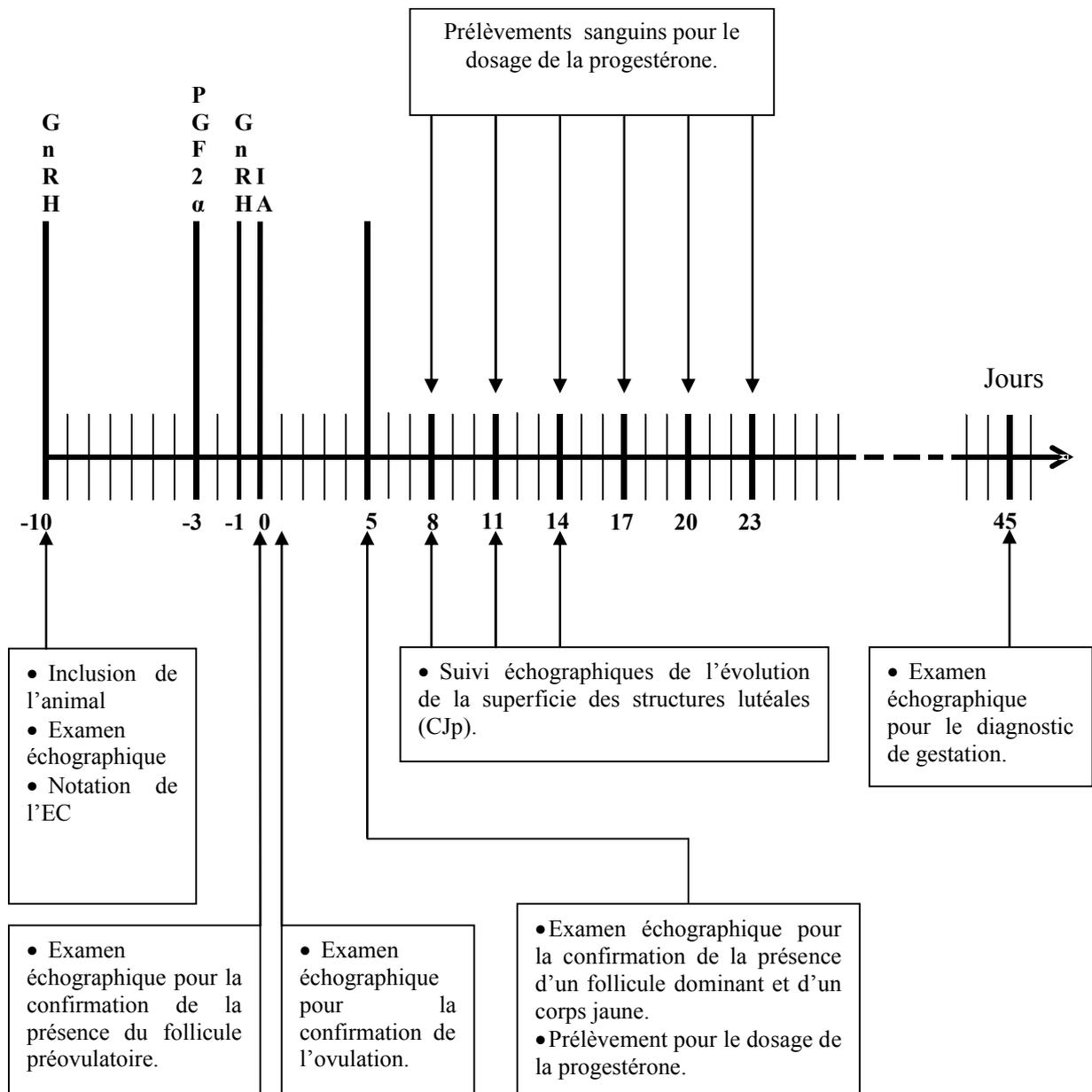


Figure 28 : protocole de l'étude dans le groupe 3 (témoin).

e. Prélèvement sanguin pour le dosage de la progestérone

Les prélèvements sanguins ont été réalisés à la veine coccygienne sur tube hépariné. Les tubes ont été centrifugés sur place immédiatement après la réalisation des prélèvements à 3000 tours pendant 20 minutes. Le plasma a ensuite été prélevé au moyen d'une pipette Pasteur et rempli dans des tubes Epindorf qui ont ensuite été congelés dans un congélateur.

Les prélèvements ont été réalisés chaque 3 jours dès le 5^{ème} jour jusqu'au 23^{ème} jour post insémination (*cf.* fig 26,27 et 28).

Les dosages de la progestérone étaient réalisés au **CRND** (centre de recherche nucléaire de Draria) avec des Kits de dosage RIA (*IMMUNOTECH Franche*) (*cf* Annexe 6).

Les prélèvements de sérum étaient décongelés à température ambiante puis homogénéisés avec un agitateur. Avec une micropipette nous avons mis 50 μ L d'étalon qui contient de la progestérone à dose connue allant de 0ng/mL à 49ng/mL dans 6 tubes en double qui contiennent des AC anti progestérone et 2 tubes control afin de tracer la courbe standard (*cf* Annexe 5). Par la suite, pour chaque 50 μ L (prélevement) de sérum dans les autres tubes, après nous avons ajouté 500 μ L de traceur qui contient de la progestérone marquée avec l'iode 125. Tous les tubes étaient mis dans un incubateur pendant 1h afin de permettre la réaction de compétition AC-AG. Après l'incubation le contenu des tubes étaient aspiré avec un aspirateur puis les tubes étaient mis dans le lecteur RIA pour doser la progestérone.

f. Examen échographique et réalisation des mesures

Un examen échographique était effectué le jour de l'injection de la GnRH ou l'hCG (J5) pour mesurer la taille du follicule dominant de la première vague folliculaire ainsi la superficie du corps jaune préexistant. Ces examens étaient poursuivis à J8, J11, J14 afin de mesurer la superficie des structures lutéales présentes.

g. Diagnostic de gestation

Le diagnostic de gestation était réalisé par échographie le 45^{eme} jour après l'insémination artificielle ; la mise en évidence de la vésicule embryonnaire était le signe de gestation.

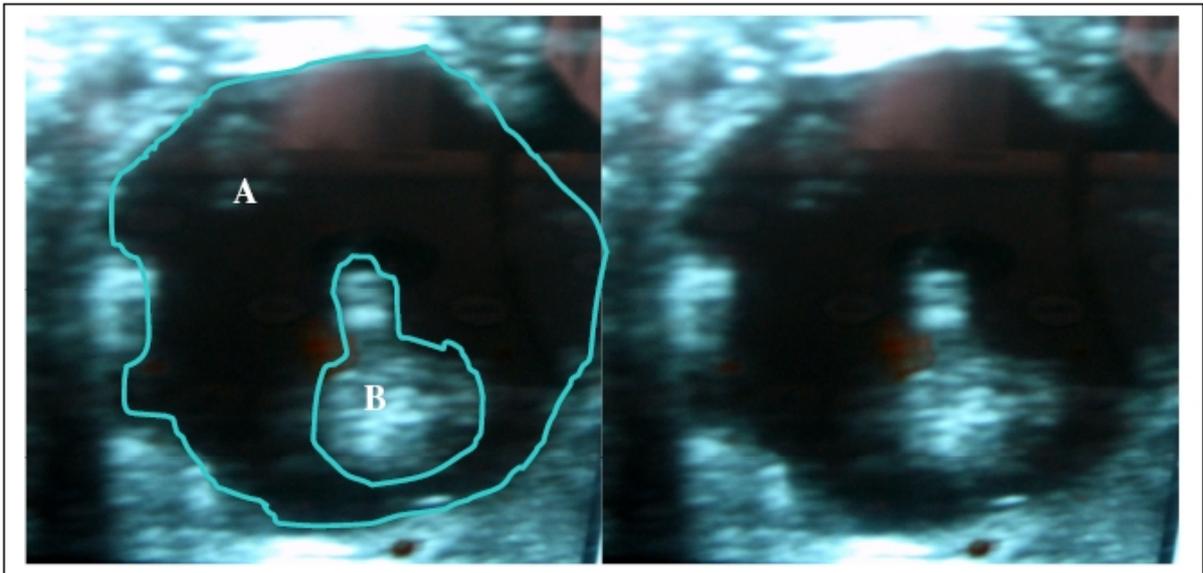


Figure 29 : image échographique d'une vésicule embryonnaire de 45J :(A) liquide amniotique, (B) embryon.

C. Analyse statistique

Nous avons utilisé le test statistique *ANOVA* à un seul facteur dans l'utilitaire d'analyse de *Microsoft Excel 2007* pour la comparaison des superficies lutéales et aussi pour comparer la progestéronémie entre les différents groupes de vaches.

Pour les taux des corps jaunes accessoires induits et les taux de gestation nous avons utilisé le test *Khi2*.

Les résultats ont été considérés comme significatifs lorsque $p < 0,05$ et très significative lorsque $p < 0,01$.

D. Résultats

1. Synchronisation des chaleurs et des ovulations

a. Manifestation des chaleurs et confirmation des ovulations

Parmi les 36 vaches incluses dans le protocole de synchronisation seulement 33 (91.66%) vaches ont manifesté des signes de chaleurs (*cf.fig 29*). L'examen échographique des autres 3 vaches a révélé la présence d'un follicule préovulatoire de diamètre supérieur à 10mm ainsi que la présence d'un corps jaune. Ces vaches n'ayant pas répondu au protocole de synchronisation GPG ont été exclues, ces 3 vaches étaient de race Holstein(*cf.fig 30*).

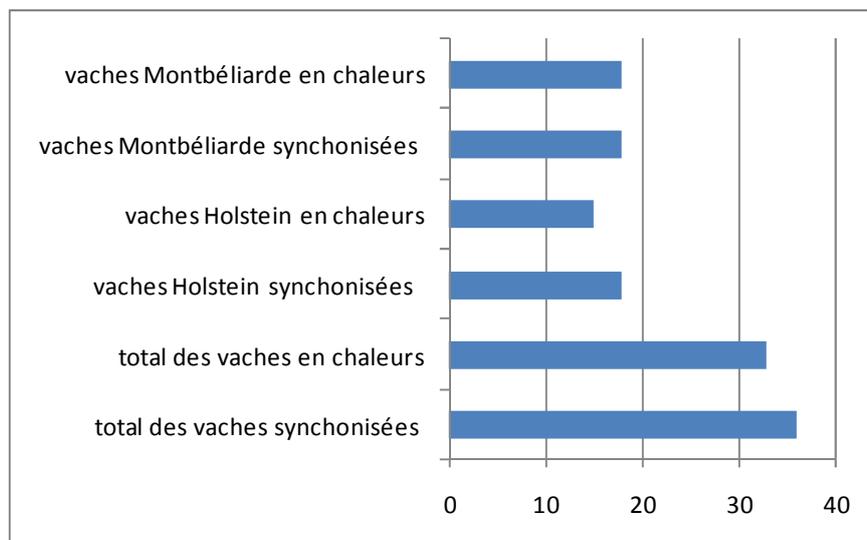


Figure 30 : nombre de vaches synchronisées par le protocole GPG et nombre de vache qui ont répondu à ce protocole.

b. Taille du follicule préovulatoire

Au moment de la deuxième injection de GnRH qui correspond à J-1 (la veille de l'insémination artificielle) un examen échographique de l'utérus et des ovaires était effectué afin de confirmer la présence du liquide intra utérin (*cf.fig 31*) et la présence aussi d'un follicule préovulatoire (*cf.fig 32*). La taille de ce dernier a été mesurée et le diamètre moyen du follicule préovulatoire était de $18,63 \pm 1,72$ mm (min : 16,3mm / max : 23mm)

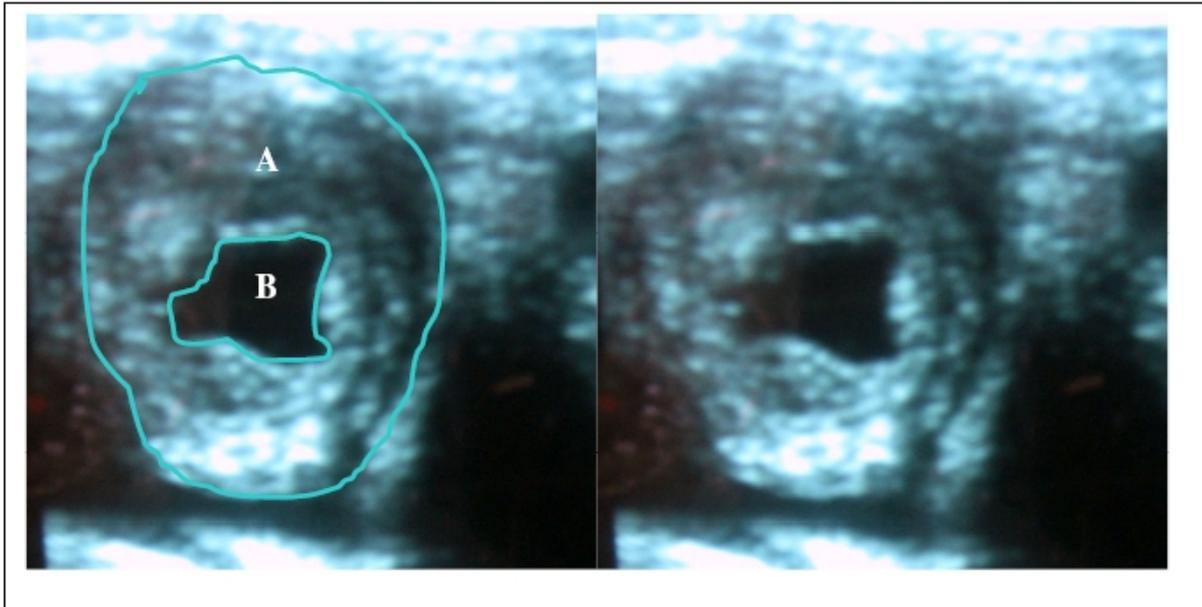


Figure 31 : image échographique d'une corne utérine d'une vache en chaleur : (A) tissu de la corne utérine, (B) accumulation du liquide intra-utérin.

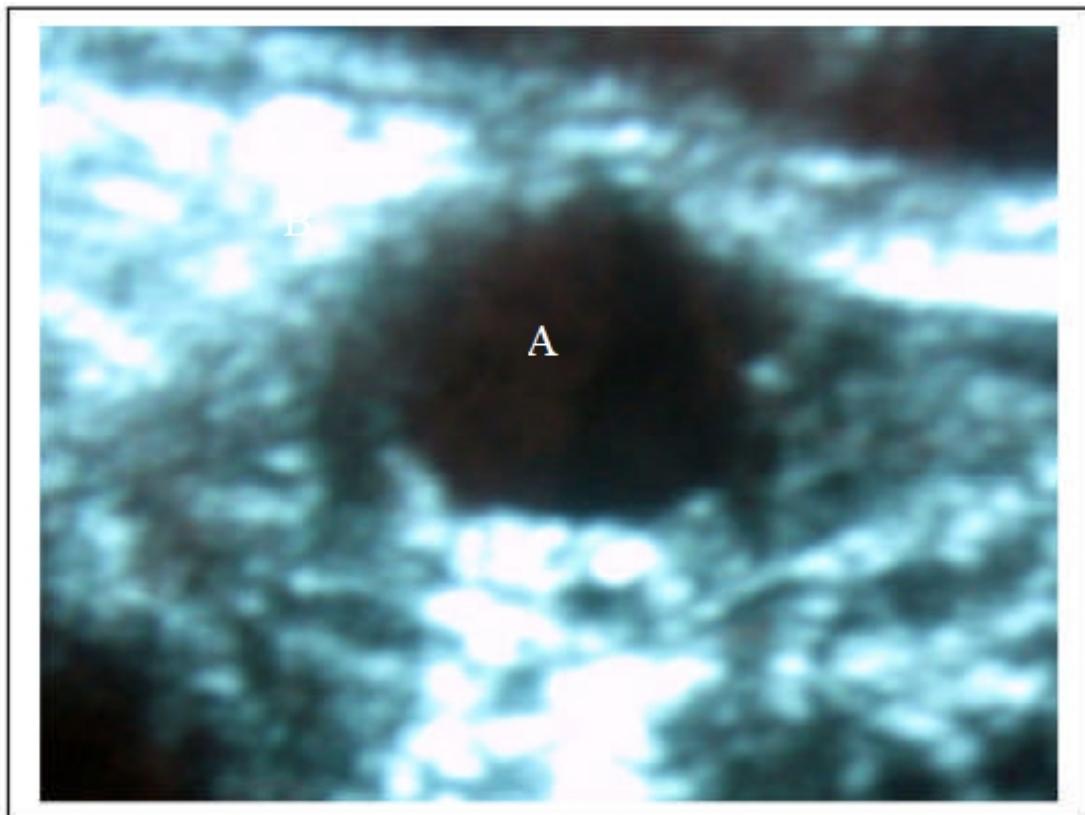


Figure 32 : image échographique d'un ovaire portant un follicule préovulatoire. : (A) follicule préovulatoire, (B) stroma ovarien.

2. Statut ovarien des vaches à J5

Au 5eme jour post insémination artificielle, qui correspond au jour de l'injection de la GnRH ou de l'hCG afin d'induire l'ovulation du follicule dominant de la première vague folliculaire, l'examen échographique a révélé la présence d'un corps jaune et d'un follicule dominant. Ce dernier était associé à ce corps jaune ou bien il était localisé dans l'ovaire opposé.

La superficie du corps jaune et le diamètre du follicule dominant étaient mesurés par échographie, ces mesures sont présentées dans le tableau suivant (*cf.* tableau X).

Tableau X : moyennes du diamètre du FD et de superficie du CJP à J5 post IA.

GROUPE	hCG	GnRH	TEMOIN	toutes les vaches
Diamètre moyen du FD à J5 (mm)	12,84(±1,34)	11,91(±1,9)	12,54(±2,11)	12,43(±1,8)
Superficie moyenne du CJP à J5 (cm²)	2,43 (±0,78)	2,45±(0,96)	2,33 (±0,88)	2,4 (±0,85)

3. Induction du corps jaune accessoire

Le 8eme jour post insémination artificielle, l'examen échographique a révélé la présence ou l'absence du 2eme corps jaune ainsi que la disparition du follicule dominant qui était présent 3 jours avant. Le suivi échographique était poursuivi chaque 3 jours jusqu' au 14eme jour post insémination. La superficie de chaque corps jaune était prise à chaque examen échographique.

Le nombre et les pourcentages des corps jaunes accessoires induits sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau XI : nombre et les pourcentages des corps jaunes accessoires induits

GROUPE	hCG	GnRH	TEMOIN
Nombre de Vaches	11	11	11
Nombre de CJ induits	11	10	0
Pourcentage De CJ induit	100%	90.9%	0%

Les vaches traitées par la GnRH ont formé un corps jaune accessoire suite à l'ovulation du follicule dominant, par contre une seule vache parmi les 11 vaches traitée par l'hCG n'a pas formé de corps jaune accessoire. Cette vache avait un follicule de 8,5 mm le jour de l'injection de l'hCG. Par contre aucun corps jaune accessoire n'était formé chez les vaches témoins (*cf.* tableau XI).

L'étude statistique des taux de réponse à l'hCG et à la GnRH en fonction du groupe dans lequel se trouvaient les vaches le jour de l'injection d'hCG ou de GnRH n'a révélé aucune différence statistiquement significative.

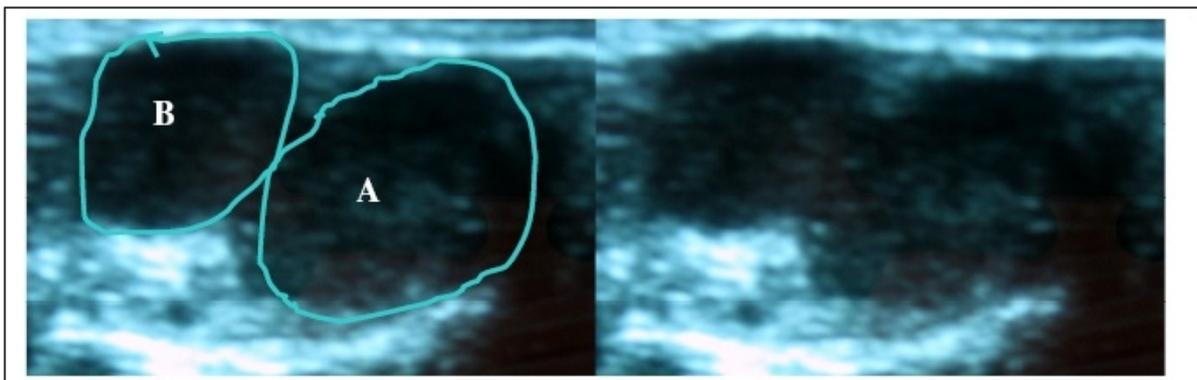


Figure 33 : image échographique d'un ovaire à J14 post IA montrant deux corps jaunes après traitement par la GnRH : (A) corps jaune préexistant, (B) corps jaunes accessoires induit par la GnRH.

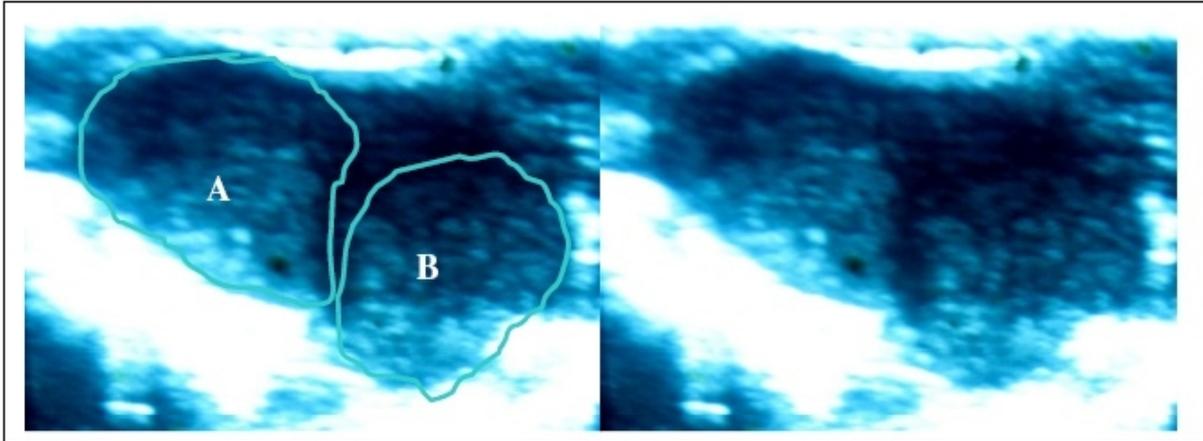


Figure 34 : image échographique d'un ovaire à J14 post IA montrant deux corps jaune après traitement par la hCG. (A) corps jaune préexistant, (B) corps jaunes accessoire induit par l'hCG.

4. Suivi échographique de l'évolution des corps jaune accessoires

Les suivis échographiques de l'évolution de la superficie des corps jaunes accessoires n'a présenté aucune différence statistiquement significative ($p > 0,05$) (cf. tableau XII) entre les corps jaunes accessoires induits par la GnRH et l'hCG.

Tableau XII : Evolution de la superficie (cm²) des corps jaunes accessoires.

GROUPE	hCG		GnRH		p
	Superficie du CJa (moyenne) (cm ²)	Superficie du CJa (min-max) (cm ²)	Superficie du CJa (moyenne) (cm ²)	Superficie lutéale (CJp+CJa) (min-max) (cm ²)	
J8	3,24±1,01	0,7-3,2	1,55±0,53	0,8-2,6	p>0.05
J11	2,6±0,89	1,3-3,9	2,17±0,78	1,3-3,6	
J14	3,24±0,85	2-4,2	3,07±0,89	2-4,6	

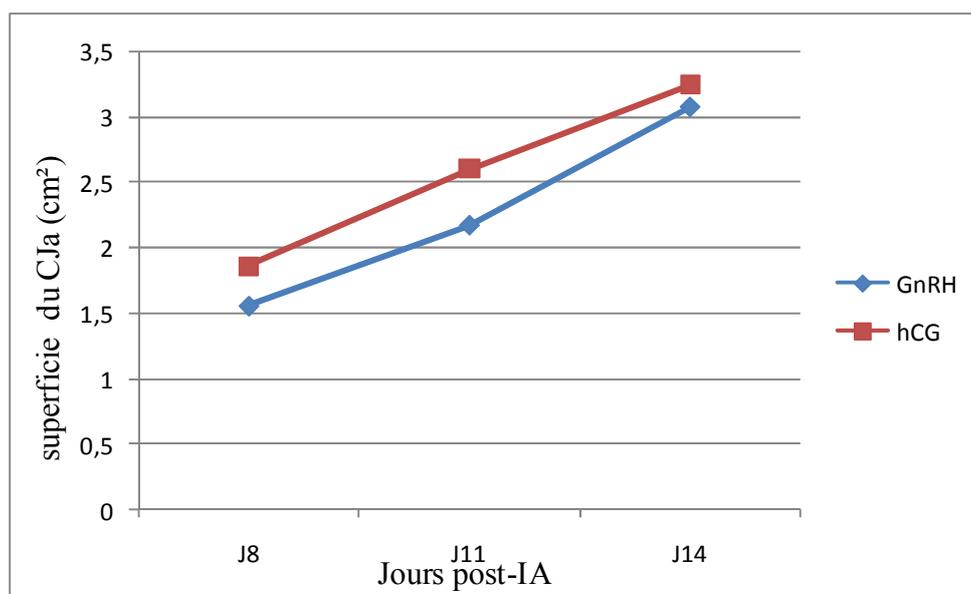


Figure 35 : évolution de la superficie (cm²) des corps jaunes accessoires.

Nous pouvons conclure de ce graphe que l'hCG et la GnRH ont le même effet sur la taille du corps jaune accessoire induit malgré que la superficie des corps jaunes induits par l'hCG fût légèrement supérieure à celle des corps jaune accessoires induits par la GnRH (cf. fig 35).

5. Suivi échographique de l'évolution des corps jaune préexistants

Les suivis échographiques de l'évolution de la superficie des corps jaunes préexistants n'a présenté aucune différence statistiquement significative entre le groupe traité par la GnRH et le groupe témoin; par contre la superficie des corps jaunes préexistants dans le groupe des vaches qui ont reçu l'hCG à J5 était significativement différente ($p < 0,05$) aux deux autres groupes à J8 et très significativement différente ($p < 0,01$) à J11 et J14 (cf. tableau XIII).

Tableau XIII : Evolution de la superficie (cm²) des corps jaunes préexistants.

GROUPE	hCG ^a		GnRH ^b		TEMOIN ^c		p
	Superficie du CJP moyenne (cm ²)	Superficie du CJP (min-max) (cm ²)	Superficie du CJP moyenne (cm ²)	Superficie du CJP (min-max) (cm ²)	Superficie du CJP moyenne (cm ²)	Superficie du CJP (min-max) (cm ²)	
J5	1,86±0,78	0,9-3,2	2,45±0,96	1,1-4,9	2,33±0,88	1,5-4,5	P ^{a,b,c} >0.05
J8	4±0,91	2,2-5,3	3,36±0,95	2,2-5,7	2,91±0,86	2-4,9	P ^{a,b,c} <0.05 P ^{b,c} >0.05
J11	4,9±0,81	3,1-5,8	3,67±0,61	2,6-4,8	3,6±0,9	2,2-4,9	P ^{a,b,c} <0.01
J14	6,58±2,07	3,1-8,6	4,19±0,31	3,8-4,8	4,06±0,73	2,8-5,4	P ^{b,c} >0.05

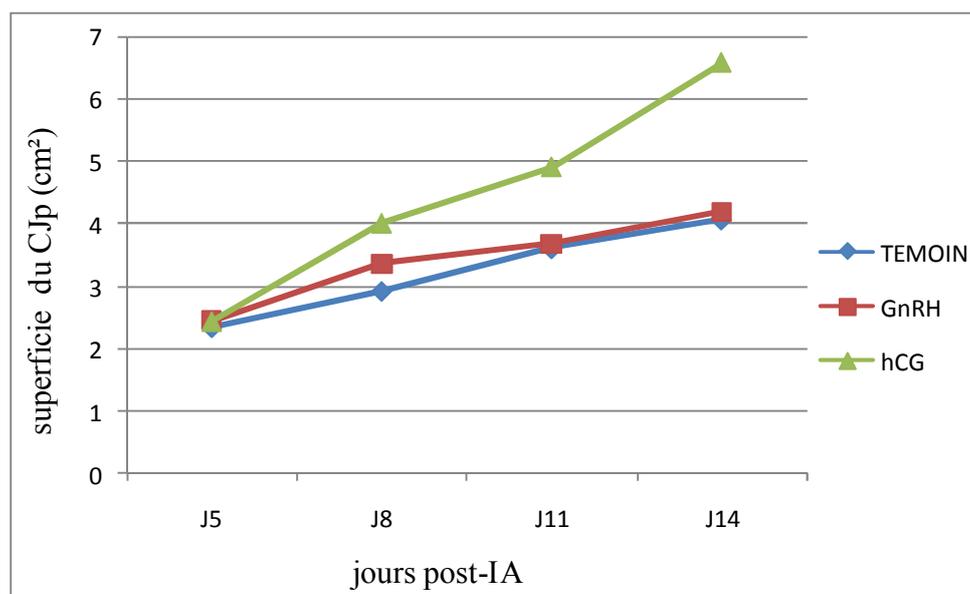


Figure 36 : évolution de la superficie (cm²) des corps jaunes préexistants.

D'après ce graphe qui présente l'évolution de la superficie des corps jaunes préexistants après les différents traitements, nous constatons que la GnRH n'avait aucun effet sur l'évolution de la taille du corps jaune préexistant contrairement à l'hCG qui a poussé le corps jaune présent à s'accroître en comparaison aux deux autres groupes (cf.fig 36).

NB : deux vaches parmi les 33 vaches avaient un corps jaune préexistant cavitaire (cf.fig 37), la superficie de cette cavité était prise en considération dans la réalisation des mesures (superficie du CJP – superficie de la cavité).

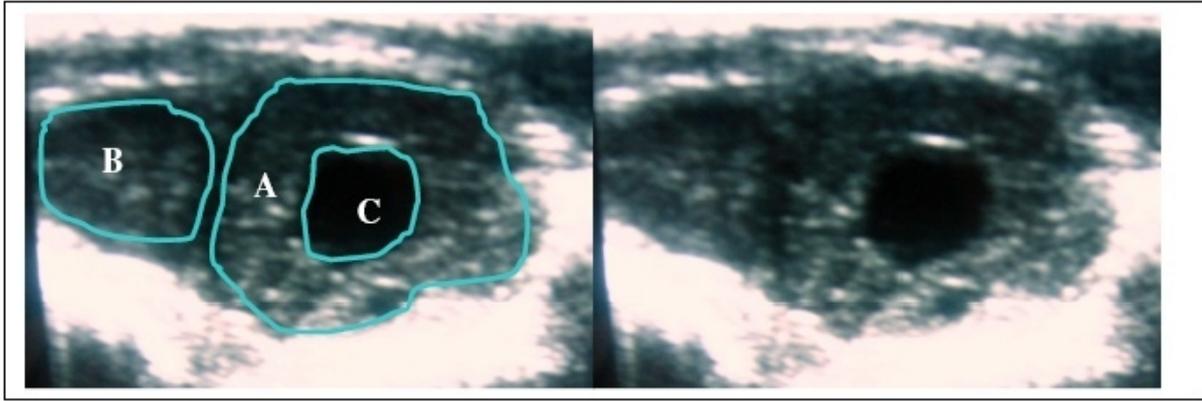


Figure 37 : image échographique d'un ovaire montrant deux corps jaunes :(A) corps jaune préexistant, (B) corps jaunes accessoire induit par l'hCG, (C) cavité du corps jaune.

6. Évolution de la superficie lutéale totale

L'évolutions de la superficie lutéale totale (la taille du corps jaune préexistant plus la taille du corps jaune accessoire) étaient très significativement différentes ($p < 0,01$) entre les trois groupes dès J8 (*cf.* Tableau XIV) , par contre à ce jour (J8) il n'y avait aucune différence statistiquement significative ($p > 0,05$) entre la superficie lutéale totales entre le groupe des vaches traitées à la GnRH et le groupe des vaches traitées à l'hCG mais la différence de taille entre ces deux groupes (hCG et GnRH) a commencé d'être significative a partir de J11($p < 0,05$) .

Tableau XIV : Evolution de la superficie (cm²) des structures lutéale totales (CJp+CJa).

GROUPE	hCG ^a		GnRH ^b		TEMOIN ^c		p
	Superficie lutéale (CJp+CJa) moyenne (cm ²)	Superficie lutéale (CJp+CJa) (min-max) (cm ²)	Superficie lutéale (CJp+CJa) moyenne (cm ²)	Superficie lutéale (CJp+CJa) (min-max) (cm ²)	Superficie lutéale (CJp+CJa) moyenne (cm ²)	Superficie lutéale (CJp+CJa) (min-max) (cm ²)	
J5	2,43 ±0,78	0,9-3,2	2,45±0,96	1,1-4,9	2,33±0,88	1,5-4,5	P ^{a,b,c} >0.05
J8	5,86±1,66	3-8	4,92±1,21	3,6-7,7	2,91±0,86	2-4,9	P ^{a,b,c} <0.01 P ^{a,b} >0.05
J11	7,27±1,72	4,2-9,5	7,26±1,13	4,5-8,4	3,6±0,9	2,2-4,9	P ^{a,b,c} <0.01
J14	9,52±3,08	3,4-12,3	7,26±0,77	6,4-8,5	4,06±0,73	2,8-5,4	P ^{a,b} <0.05

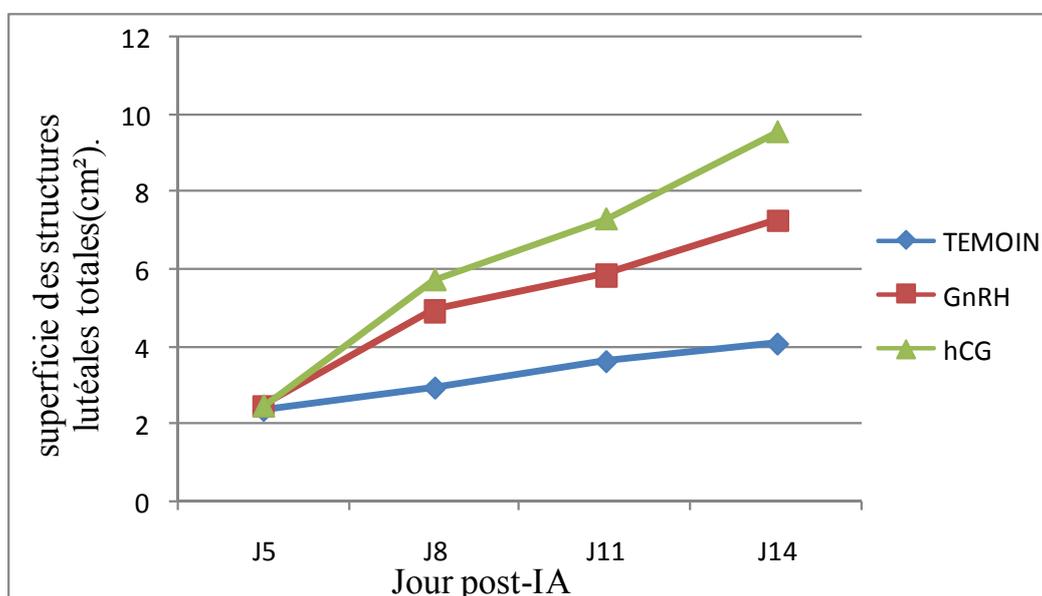


Figure 38 : évolution de la superficie (cm²) des structures lutéales totales.

Le graphe ci-dessus montre l'évolution de la superficie des structures lutéales totales qui a commencé d'augmenter pour les deux groupes des vaches traitées à partir de J8 (cf. fig 38) et cela suite à la formation des corps jaunes accessoires. Les vaches traitées à l'hCG

avaient des structures lutéales de taille supérieures à celles des vaches traitées à la GnRH, parce que les corps jaunes préexistants avaient une superficie plus supérieure chez les vaches traitées à l'hCG.

7. Progestéronémie

a. Progestéronémie de toutes les vaches

Pour ce qui est de la progestéronémie, il y avait une différence très significative entre les groupes de J8 à J17 ($p < 0,01$). A J20 la différence était très significative seulement entre le groupe des vaches témoins et le groupe des vaches traitées à l'hCG ($p < 0,01$). A J23 on a constaté aucune différence statistiquement significative ($p > 0,05$) (cf. tableau XV).

L'existence d'une différence très significative ($p < 0,01$) entre les progestéronémies des vaches qui ont reçu ou pas un traitement à J5 post IA, constitue une preuve du fonctionnement du corps jaune accessoire formé suite à l'injection d'hCG ou la GnRH.

Tableau XV : Evolution de la progestéronémie (ng /mL) chez toutes les vaches.

GROUPE	hCG ^a		GnRH ^b		TEMOIN ^c		p
	P4 moyenne (ng /mL)	P4 (min-max) (ng /mL)	P4 moyenne (ng /mL)	P4 (min-max) (ng /mL)	P4 moyenne (ng /mL)	P4 (min-max) (ng /mL)	
J5	2,97±2,06	0,37-6,79	2,68±1,63	1-6,26	2,17±1,04	0,89-4,18	$p^{a,b,c} > 0,05$
J8	10,95±3,46	6,12-16,56	6,58±3,08	2,14-12,22	3,06±1,07	1,58-5,15	$p^{a,b,c} < 0,01$
J11	16,64±6,27	7,07-24,95	10,91±3,77	4,72-16,92	4,93±1,84	3,14-8,73	
J14	20,32±5,19	10,34-27,33	14,18±3,59	9,82-19,65	4,96±2,49	0,28-9,98	
J17	18,14±6,56	10,12-28,74	9,07±4,73	0,31-15,67	4,45±2,91	0,2-10,34	
J20	13,12±10,17	0,17-29,82	6,74±6,42	0,15-16,11	2,82±3,75	0,06-11,76	$p^{a,b,c} < 0,01$ $p^{a,b} > 0,05$ $p^{b,c} > 0,05$
J23	11,85±12,17	0,22-32,26	5,51±7,19	0,06-16,97	3,19±4,26	0,06-11,98	$p^{a,b,c} > 0,05$

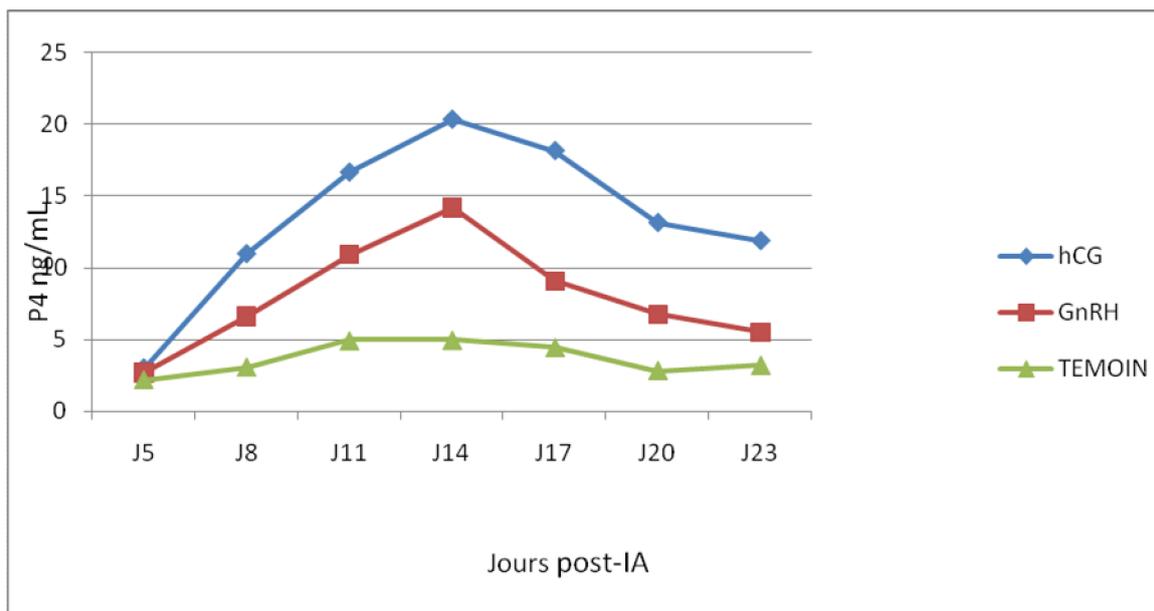


Figure 39 : évolution de la progestéronémie (ng /mL) de toutes les vaches.

La progestéronémie des vaches traitées à l'hCG était très significativement ($p < 0,01$) supérieure à la progestéronémie des vaches traitées à la GnRH, cette différence peut être expliquée par l'effet de l'hCG sur la taille du CJp (*cf.* fig 39).

b. Progestéronémie des vaches gestantes

Il y avait une différence significative entre les progestéronémies des vaches gestantes qui ayant reçu et celles qui n'ayant pas reçu un traitement à J5 post IA. Cette différence avait commencé d'être très significative ($p < 0,01$) dès le 11eme jour post IA entre ces groupes, par contre nous avons constaté aucune différence significative entre la progestéronémie des vaches traitées à la GnRH et celle des vaches traitées à l'hCG (*cf.* tableau XVI).

Tableau XVI : Evolution de la progestéronémie (ng /mL) chez vaches gestantes.

GROUPE	hCG ^a		GnRH ^b		TEMOIN ^c		p
	P4 moyenne (ng /mL)	P4 (min-max) (ng /mL)	P4 moyenne (ng /mL)	P4 (min-max) (ng /mL)	P4 moyenne (ng /mL)	P4 (min-max) (ng /mL)	
J5	2,21±1,53	0,37-3,66	2,67±0,99	1,46-3,86	2,09±1,01	0,89-2,98	P ^{a,b,c} >0.05
J8	10,47±1,96	8,31-12,74	6,94±2	4,16-8,79	2,78±0,72	1,88-3,5	
J11	15,18±5,76	9,31-22,75	9,93±2,29	7,59-13,06	4,56±1,25	3,38-6,34	P ^{a,b} >0.05
J14	18,27±6,33	10,34-25,84	12,48±2,55	9,82-15,55	5,81±2,84	3,61-9,98	
J17	19,6±7,24	10,12-27,16	12,88±2,13	10,56-15,67	6,33±2,8	3,78-10,34	
J20	20,53±8,27	10,23-29,82	13,83±2,06	11,13-16,11	6,98±3,2	4,87-11,76	P ^{a,b,c} <0.01
J23	22,5±9,87	10,22-32,26	14,42±2,39	11,34-16,97	8,19±2,84	5,89-11,98	

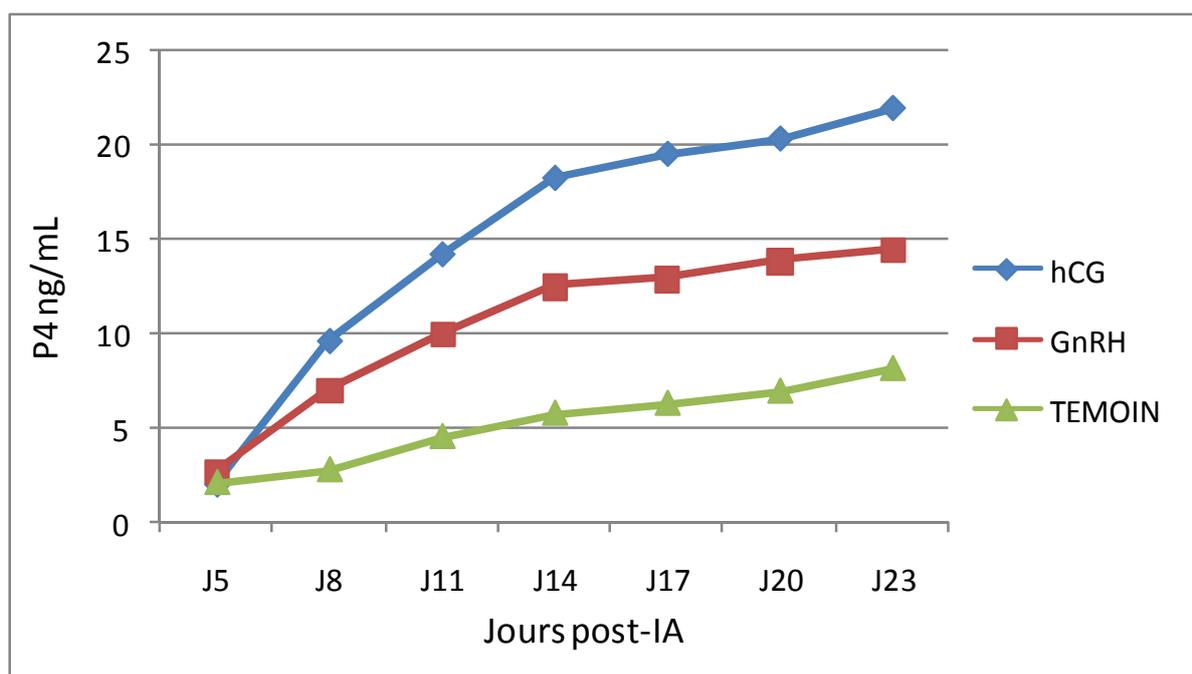


Figure 40 : évolution de la progestéronémie (ng /mL) des vaches gestante.

c. Progestéronémie des vaches non gestantes

Il y avait une différence significative entre les progestéronémies des vaches non gestantes qui ont reçu ou pas un traitement à J5 post IA. Cette différence avait commencé d'être très significative ($p < 0,01$) dès le 8ème jour post IA et elle est devenue non significative ($p > 0,05$) le 20ème et le 23ème jour post-IA (cf. tableau XVII). Cette baisse de la progestéronémie est due à la lutéolyse des deux corps jaunes à la fin de cycle chez la totalité des vaches (cf. fig 41).

Tableau XVII : Evolution de la progestéronémie (ng /mL) chez les vaches non gestantes.

GROUPE	hCG ^a		GnRH ^b		TEMOIN ^c		p
	P4 moyenne (ng /mL)	P4 (min-max) (ng /mL)	P4 moyenne (ng /mL)	P4 (min-max) (ng /mL)	P4 moyenne (ng /mL)	P4 (min-max) (ng /mL)	
J5	3,79±2,28	1,09-6,79	2,69±1,99	1-6,26	2,22±1,14	1,33-4,18	P ^{a,b,c} >0.05
J8	12,07	6,33-16,56	6,38±3,69	2,14-12,22	3,22±1,25	1,58-5,15	P ^{a,b,c} <0.01
J11	18,67±6,65	7,07-24,95	11,47±4,48	4,72-16,92	5,14±2,17	3,14-8,73	
J14	22,05±4,68	14,87-27,33	15,15±3,9	10,63-19,65	4,48±2,36	0,28-7,58	
J17	16,98±7,15	11,97-28,74	6,89±4,45	0,31-12,3	3,37±2,55	0,2-6,69	
J20	7,10±8,38	0,17-20,92	2,69±3,75	0,15-8,49	0,45±0,59	0,06-1,79	P ^{a,b,c} >0.05
J23	3,44±7,03	0,22-17,78	0,41±0,32	0,06-0,86	0,34±0,31	0,06-0,98	

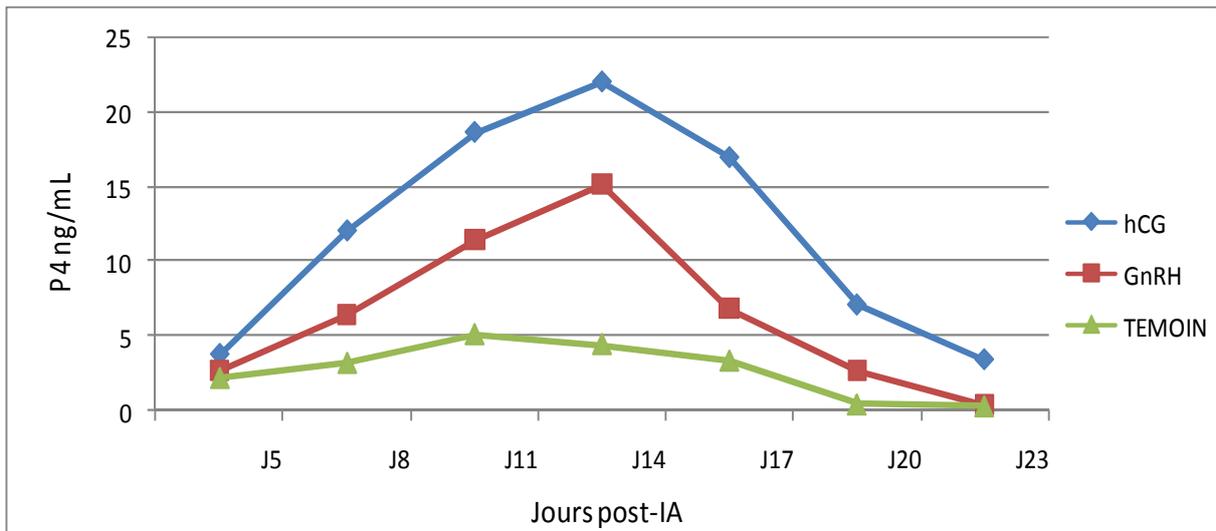


Figure 41 : évolution de la progestéronémie (ng /mL) des vaches non gestantes.

8. Corrélation entre superficie lutéale et progestéronémie

Lorsque nous évaluons pour chaque jour le rapport entre la progestéronémie et le diamètre du corps jaune accessoire nous obtenons une valeur significative du coefficient de corrélation ($r=0,75$) entre ces deux paramètres.

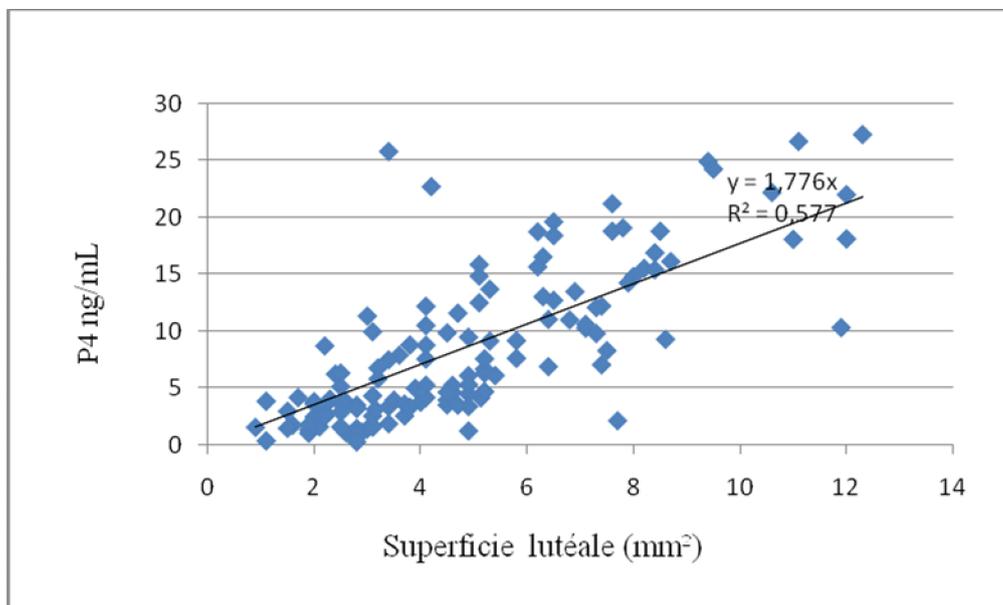


Figure 42 : corrélation entre la progestéronémie (ng /mL) et la superficie lutéale totale (cm²).

Cette corrélation linéaire (cf.fig 42) a été étudiée pour montrer la relation hautement significative ($p < 0,001$) existante entre la superficie lutéale et la concentration plasmatique en progestérone. Nous avons pu déterminer que la progestéronémie (ng/mL) = $1,776 \times$ la superficie lutéale (cm²).

9. Fertilité des vaches après traitement

Aucune différence statistiquement significative ($p > 0,05$) n'a été constatée sur la fertilité des vaches, les taux de gestations étaient presque similaires dans tous les groupes (cf. tableau XVIII).

Tableau XVIII : nombre et les pourcentages des vaches gestantes.

GROUPE	hCG ^a	GnRH ^b	TEMOIN ^c	toutes les vaches	p
Taux de gestation	5/11	4/11	4/11	13/33	
Pourcentages des vaches gestantes	36,36%	45,45%	36,36%	39,39%	($p^{a,b,c} > 0,05$)

Le taux de gestation le plus élevé était de 45% (5/11) chez le groupe des vaches traitées à l'hCG, les deux autres groupes avaient un taux de gestation similaire qui était de 36,36% (4/11).

Discussion

Cette étude a consisté à induire des corps jaunes accessoires par l'hCG et la GnRH afin d'augmenter la progestéronémie et prévenir les mortalités embryonnaires, chez des vaches laitières hautes productrices qui produisent entre 18 et 25 litres par jour. L'étude a porté sur 33 vaches de race Montbéliarde et Holstein issues de 3 élevages différents dans la région de Mitidja. Ces élevages étaient de taille moyenne et fonctionnent sur le même modèle, pâturage, stabulation semi-entravée, ration à base de maïs, traites 2 fois par jour. Vu que l'effectif dans chaque groupe n'était pas important, la comparaison entre les deux races de vaches n'était pas intéressante.

Le suivi échographique a été réalisé par l'auteur ainsi toutes les mesures ont été effectuées de la même façon. L'échographe utilisé n'était pas équipé d'un system d'enregistrement des images, un appareil photo a été utilisé pour prendre ces images échographiques.

Les principales conclusions de notre étude montrent que l'injection d'hCG ou de GnRH à J5 post-insémination artificielle, engendre la formation d'un corps jaune accessoire avec un pourcentage de 100%, chez les vaches dont l'ovaire comporte un follicule dominant ≥ 10 . Dans notre étude le diamètre moyen du follicule dominant était de 12,43mm ($\pm 1,8$) avec un diamètre maximal de 16mm et minimal de 9,2mm pour les vaches qui ont formé un deuxième corps jaune, nos résultats sont très proches des résultats trouvés par Diaz et al (1998) qui ont constaté que la moyenne du diamètre du follicule dominant à J5 post-insémination artificielle était de 12.8mm (± 0.8).

Le corps jaune ainsi formé est bien fonctionnel, car il augmente significativement la concentration plasmatique en progestérone.

Une vache parmi les 11 vaches traitées a l'hCG avait un follicule de 8,5mm le jour de l'injection d'hCG, cette vache n'a pas formé un corps jaune accessoire, alors dans notre étude la taille du follicule dominant qui a pu ovulé afin de former un corps jaune accessoire avait un diamètre minimale de 9,2mm, ce diamètre trouvé et très proche du diamètre minimale décrit dans l'expérience de Rajamahendran et Sianangama (1992) qui ont confirmé que le diamètre minimal du follicule dominant qui peut ovulé en dioestrus afin de former un corps jaune accessoire avait un diamètre de 9mm. Selon Ginther et al. ; (1996), un follicule de diamètre supérieur de 8 à 10 mm est nécessaire, pour que l'injection d'hCG engendre la lutéinisation de ce dernier. En effet, c'est à partir de cette taille que les follicules présentent des récepteurs à la LH (RcLH) sur leur granulosa, Récepteurs qui via lesquels agit l'hCG (Hafez et Hafez 2000). Les études récentes ont montré que le traitement à l'hCG n'est

efficace seulement qu'au début de la phase dioestral (J4 à J7) ou la fin de cette phase (J13 à J16) (Santos et al., 2001;Stevenson et al., 2007), période où le follicule dominant est présent.

Dans notre étude toutes les vaches traitées par la GnRH à J5 post-insémination artificielle avaient formé un corps jaune accessoire (100%), ces résultats correspondent exactement aux résultats trouvés par Schmitt et al (1996), contrairement à ceux de Stevenson et al (2007), qui ont constaté un taux de 60% de corps jaune accessoires formés après traitement des vaches par la GnRH entre J2 et J9 post-insémination. Nos résultats ne correspondent pas à ceux trouvés par Stevenson et al (2007) cela est peut être due à la période non précise de l'injection de la GnRH entre J2 et J9 (7 jours de différence). Les vaches traitées à J5 post-insémination artificielle par l'hCG avaient formé un corps jaune accessoire (Breuel et al., 1989; Price et Webb, 1989; Walton et al., 1990; Rajamahendran et Sianangama, 1992; Schmitt et al., 1996) avec un taux de 99,9% ; nos résultats étaient très proches au 100% trouvé par Schmitt et al (1996) et Diaz et al (1998) et supérieurs à 77.5% trouvé par Stevenson et al, (2007) qui ont injecté la GnRH et l'hCG entre J4 et J9 post IA. Cela et peut être due la période non précise de l'injection des hormones.

Nous avons utilisé dans notre étude une dose de GnRH de 100µg administrée par voie intra musculaire. La même dose de GnRH était utilisée dans les études réalisées pour induire un corps jaune accessoire après l'insémination artificielle dans les travaux de Martin et al. (1990).

Nous avons aussi utilisé une dose d'hCG de 1500 UI administrée par voie intraveineuse. Les études réalisées à J5 ont utilisé différentes doses d'hCG allant de 1000 UI jusqu'à 3000 UI (Thatcher et al., 2001) et 3300 UI (Thatcher et al., 2006), un corps jaune se forme consécutivement à l'injection quelle que soit la dose. Cependant, bien que la dose de 1000 UI d'hCG soit suffisante pour engendrer la formation d'un corps jaune accessoire fonctionnel (Stevenson et al., 2008), il apparaît que les corps jaunes formés suite à l'injection de 4000 UI d'hCG sécrètent, in vitro, plus de progestérone (Thatcher et al., 2006).

La superficie des corps jaunes accessoires induits par l'hCG fût légèrement supérieure à la superficie des corps jaunes accessoires induits par la GnRH. Mais aucune différence statistiquement significative n'était constatée. Nous pouvons conclure que le type d'hormone (hCG ou GnRH) n'influence pas vraiment sur la taille du corps jaune accessoire.

La superficie des corps jaune préexistants était significativement différente chez les vaches traitées par l'hCG comparée à celle des vaches traitées à la GnRH et les vaches non

traitées. Ainsi nous avons constaté qu'il n'existait aucune différence significative entre la superficie des corps jaune préexistants chez les vaches traitées par la GnRH et les vaches du groupe témoin. Nos résultats correspondent parfaitement à ceux trouvés par Rajamahendran and Sianangama, (1992), Diaz et al (1998); Nishigai et al., (2001); Santos et al., (2001) et Stevenson et al., (2007), contrairement à ce qui a été décrit par Legendre (2009); qui a constaté que l'hCG administré à J12 n'a aucun effet sur la taille du corps jaune préexistant. Cela peut être due à la période d'injection de l'hCG.

D'après Schmitt et al. (1996) l'hCG injectée à J5 post-insémination artificielle augmente significativement le poids du corps jaune accessoire récolté à J13 comparé au poids du corps jaune accessoire induits par la GnRH, mais aucun effet n'a été observé pour le poids des corps jaunes préexistants enlevés à J 17. Diaz et al. (1998) ont observé un schéma de développement similaire au début du cycle des corps jaune chez des génisses traitées par l'hCG à J5 et des génisses témoins.

Cette augmentation de taille provient de l'action LH like de l'hCG sur les cellules lutéales (Schmitt et al., 1996). Toutefois, l'hCG semble avoir une efficacité supérieure à la GnRH, avec une augmentation moindre de la progestéronémie dans le cas de l'utilisation de GnRH dont la demi-vie est plus courte que l'hCG, ce qui implique une stimulation de type LH moindre comparée à celle engendrée par l'injection d'hCG (Thatcher et al., 2006). Ceci a été confirmé *in vitro* : le corps jaune formé suite à l'injection de GnRH sécrète moins de progestérone après une stimulation à la LH *in vitro* que celui formé suite à l'injection d'hCG (Schmitt et al. 1996).

L'image échographique des corps jaunes accessoires formés suite à l'injection d'hCG était identique à celle des corps jaunes primaires. Leur distinction des corps jaunes préexistants a pu être réalisée grâce au suivi échographique régulier qui consiste à la réalisation des mesures et surtout à la localisation des différentes structures qui se trouve sur chaque ovaire. Les corps jaunes accessoires avaient une taille inférieure à celle des corps jaune préexistants (Schmitt et al. 1996), (Diaz et al 1998). Cela peut être expliqué par la différence d'âge entre ces corps jaune qui est d'environ une semaine. Le corps jaune était simplement détecté au moyen d'une sonde de 5 MHz. Il apparaît comme une zone grise, à l'inverse du follicule anéchogène ou du tissu ovarien plus échogène (Boyd et Omran, 1991). C'est seulement 3 à 4 jours environ après l'ovulation qu'une structure lutéale bien distincte est identifiée sous la forme d'une zone renfermant quelques points échogènes et bien démarqués du stroma ovarien (Pierson et Ginther 1988). L'échogénicité de la structure lutéale s'est intensifiée au cours du diœstrus et le corps jaune est ainsi discernable jusqu'en moyenne d'un à trois jours après l'ovulation suivante (Pierson et Ginther 1988). La détection des petits

corps jaunes (inférieur à 10 mm) n'était pas une chose aisée en raison de la faible différence d'échogénicité avec le stroma ovarien (Pieterse et al., 1990 ; Grygar et al., 1992).

Une cavité a été observée cinq jours après l'ovulation sur deux corps jaunes préexistants. Plusieurs publications montrent que la présence d'une cavité dans le corps jaune n'affecte ni la durée du cycle, ni la fertilité, ni le taux de progestérone de l'animal (Kito et al., 1986 ; Pierson et Ginther, 1988 ; Kastelic et al., 1990 ; Kamimuras et al., 1993). Dans notre étude la présence d'une telle cavité était prise en considération dans la mesure de la superficie du corps jaune préexistant. La formation d'une telle cavité constitue donc une évolution normale (non pathologique) du corps jaune. De ce fait, le terme de corps jaune cavitaire semble plus approprié que celui de corps jaune kystique (Hanzen et al., 1993).

Pour ce qui est taux de gestation, après un diagnostic échographique réalisé à J45 post-insémination artificielle, aucune différence significative n'a été constatée, les taux de gestation étaient similaires dans les trois groupes. Néanmoins nous avons eu un taux de gestation de 45,45% chez le groupe des vaches traitées à l'hCG et un taux de 36,36% chez les deux autres groupes. Ces taux que nous avons eu sont inférieurs à la norme internationale (60% à la première IA), ainsi que le taux de réussite à la première IA dans ces élevages n'était pas connu alors nous ne pouvons pas conclure si nous avons amélioré ou pas la fertilité dans ces élevages. Nous prenons aussi en considération les manipulations répétées sur l'animal telles que les examens échographiques (4 examens échographiques post-IA), les examens rectaux (4 examens après IA) et les prélèvements (7 prélèvements sanguins). Toutes ces manipulations peuvent contribuer et susciter des pertes embryonnaires. Nous pouvons conclure que le traitement hormonal réalisé à J5 n'avait aucun effet sur le taux de gestation; néanmoins on avait un taux de gestation légèrement supérieur chez le groupe des vaches traitées à l'hCG par rapport aux vaches des deux autres groupes. Dans notre étude un effectif de 11 vaches par groupes nous ne permet pas de réellement comparer les taux de gestation (entre les différents groupes), en plus il nous a été impossible de quantifier les mortalités embryonnaires. Néanmoins tous les résultats trouvés dans la bibliographie ne vont pas dans le même sens : Schmitt et al. (1996) n'ont pas montré d'augmentation des taux de gestation après l'injection de 3000 UI d'hCG à J5 du cycle, malgré une augmentation significative de la progestéronémie (18 vs $9,7 \pm 1.2$ ng/mL) suite à cette injection. La différence d'effet sur la mortalité embryonnaire pourrait s'expliquer par des types de vaches différents. Pour Thatcher et al. (2001), il s'agit de vaches laitières hautes productrices (qui subissent des taux de mortalité élevés) alors que pour Schmitt et al. (1996), la production était plus modérée. Le catabolisme plus importante de la progestérone chez les vaches laitières hautes productrices en ferait des vaches plus sensibles aux effets de l'injection d'hCG que les autres (Bech-Sabat et al., 2008). L'hCG interviendrait donc par l'induction d'un

corps jaune secondaire et par la stimulation de la synthèse lutéale de progestérone. L'hCG pourrait agir également via la disparition du follicule dominant (qui se transforme en corps jaune secondaire). Cette disparition provoque une diminution de la production d'œstrogènes. En effet des œstradiolémies élevées sont associées à la mortalité embryonnaire (Mann et al., 1995). Les mécanismes régissant l'effet de l'hCG sur la mortalité embryonnaire ne sont donc pas complètement connus. Cependant, cette augmentation de la progestéronémie n'est que transitoire. C'est cette augmentation précoce de la progestéronémie qui est recherchée dans les études pour lesquelles l'hCG est utilisé à J5. En effet la progestéronémie des mères après l'insémination affecte la survie de l'embryon. Des concentrations sanguines en progestérone trop basses au cours du développement pré-implantatoire diminuent fortement les taux de survie des embryons (Diskin et Morris, 2008). L'augmentation précoce de la progestéronémie obtenue suite à l'injection d'hCG augmente les taux de survie embryonnaire : dans l'étude de Thatcher et al. (2001) l'injection d'hCG à J5 augmente la progestéronémie de 3 à 6 ng/mL lorsque s'est formé un corps jaune accessoire et cette augmentation de progestéronémie a été associée à une augmentation des taux de gestation (+6.5% à 90 jours). Dans notre étude nous avons constaté une augmentation à J14 de 5 ng/mL à 15 ng/mL après traitement à la GnRH et de 5 ng/mL à 20 ng/mL après traitement à l'hCG néanmoins cette augmentation n'a été pas associée à une augmentation des taux de gestation.

La GnRH agit selon le même principe sur le follicule préovulatoire en engendrant l'ovulation de ce dernier et la formation d'un corps jaune accessoire. La méta-analyse réalisée par Peters et al. (2000) regroupant les résultats de 19 études, portant sur les effets de l'injection de GnRH entre J11 et J14 après l'insémination sur la progestéronémie des vaches ayant formé un corps jaune accessoire suite à cette injection ainsi que sur le taux de mortalité embryonnaire de ces vaches comparés à ceux de vaches témoins met en évidence des résultats extrêmement variables d'une étude à l'autre. En effet, bien qu'une augmentation de la progestéronémie soit observée après la formation d'un corps jaune accessoire, l'effet sur la mortalité embryonnaire varie (de +22.1% à -3.9%) selon les études.

L'augmentation de la progestéronémie que nous avons observé semble due d'une part à la formation du corps jaune accessoire et d'autre part à la stimulation directe de la sécrétion de progestérone par le corps jaune préexistant après traitement à l'hCG, ce qui est conforté par l'observation à J8 d'une augmentation de la progestéronémie chez les vaches ayant formé de corps jaune accessoire avec un taux de progestéronémie supérieure chez les vaches traitées à l'hCG. Cette stimulation provient de l'action LH like de l'hCG sur les cellules lutéales (Schmitt et al., 1996). Schmitt et ses collaborateurs ont montré

en 1996 qu'une telle augmentation était due en grande partie à la formation du corps jaune accessoire suite à l'injection d'hCG. En ce qui concerne les corps jaunes secondaires formés suite à l'injection d'hCG, une étude menée par Mann (2009) a montré que la progestéronémie est liée au diamètre du corps jaune la sécrétant jusqu'à ce que ce dernier ait atteint sa taille de corps jaune mature. Ce qui peut nous expliquer que l'augmentation de la progestéronémie chez les vaches traitées à l'hCG est fortement liée à l'augmentation du corps jaune préexistant.

Nous avons retrouvé une forte corrélation positive et hautement significative ($r = 0,75$; $p = 0,001$) entre la superficie lutéale totale et le taux de la progestéronémie. Ces résultats correspondent à ce qui a été décrits par Kastelic et al., (1990) ($r = 0,73$ à $0,85$; $p = 0,0001$) qui a trouvé une forte et étroite corrélation dans la première moitié du cycle . En revanche le lien significatif obtenu entre la somme des diamètres des structures lutéales présentes chez les vaches et la progestéronémie de ces dernières pour J5, J8, J11 et J14 correspond à la formation des corps jaunes préexistants et accessoires. Des études échographiques, associées à l'évaluation de la progestéronémie, ont confirmé le parallélisme du développement lutéal et de l'augmentation de la progestérone plasmatique entre les jours 2 et 8 du cycle de la vache (Kastelic et al., 1990 ; Kamimuras et al., 1993 ; Ribadu et al., 1994 ; Singh et al., 1997). Pendant la phase de régression lutéale, le volume du corps jaune diminue dans des proportions cependant inférieures à la réduction du niveau de progestérone sanguin (Kastelic et al., 1990 ; Kamimuras et al., 1993 ; Ribadu et al., 1994).

A l'issue de notre étude et pour une meilleure gestion de la reproduction dans nos élevages laitiers, il sera intéressant de suggérer la pratique de cette technique (injection de la GnRH ou l'hCG à J5 post IA) par les vétérinaires praticiens afin de prévenir les mortalités embryonnaires et traiter les vaches infertiles à chaleurs régulières lorsque n'on arrive pas à un diagnostic précis.

Conclusion

Les mortalités embryonnaires peuvent être le résultat d'une sécrétion insuffisante de progestérone. La diminution de cette sécrétion peut être le résultat d'une synthèse réduite ou d'une clairance augmentée. C'est pourquoi un fonctionnement optimal du corps jaune est une condition nécessaire pour assurer la survie de l'embryon, puisque c'est cette structure qui assure la sécrétion de progestérone, nécessaire au maintien de la gestation et au développement embryonnaire.

En conclusion, l'injection d'hCG à la dose de 1500 UI par voie intraveineuse ou de la GnRH à la dose de 100µg chez des vaches laitières hautes productrices de race Prim'Holstein et Montbéliarde à J5 post insémination artificielle engendre la formation d'un corps jaune accessoire chez les vaches présentant un follicule dominant de diamètre $\geq 9,2$ mm. Le corps jaune ainsi formé est fonctionnel car il augmente significativement la progestéronémie des vaches chez lesquelles il se forme. L'injection d'hCG a une action sur le corps jaune préexistant car ce dernier présente une superficie supérieure aux vaches traitées à la GnRH et aux vaches non traitées. Le rôle physiologique de la progestérone dans la gestation permet de poser l'hypothèse que cette augmentation de la progestéronémie induirait une diminution de la mortalité embryonnaire. Toutefois, l'augmentation obtenue dans notre étude est transitoire. Les résultats mitigés obtenus par l'injection de l'hCG à J5 prouvent la nécessité d'une étude à grande échelle avec l'injection de GnRH à J5 sur des vaches inséminées. Les tendances qui ressortent de cette étude, à savoir l'impact plus important de l'injection sur la mortalité embryonnaire chez les vaches laitières hautes productrices, associées aux différences de métabolisme des stéroïdes chez ces vaches indiquent également la nécessité d'une étude comparative de l'action de l'injection d'hCG et de GnRH à J5 chez des vaches laitières standards ou des génisses et des vaches laitières hautes productrices. Un point supplémentaire à prendre en considération avant d'envisager l'injection d'hCG à J5 comme un outil de lutte contre la mortalité embryonnaire à long terme est son pouvoir antigénique. En effet, l'hCG ainsi que l'eCG (equine Chorionic Gonadotropin) peuvent engendrer la formation d'anticorps (Binelli et al., 2001), l'efficacité maximale de l'hCG serait donc obtenue lors de son utilisation sur un animal jamais traité. Ainsi, une étude sur le long terme avec plusieurs injections consécutives pourrait présenter un intérêt non négligeable. Le second point de notre étude réside également dans le fait d'avoir au moment du premier diagnostic de gestation, soit à J45, des corps jaunes secondaires toujours présents et palpable qui peuvent beaucoup nous guider à poser un diagnostic de non gestation. Ainsi, en cas de diagnostic de gestation négatif à J45, une simple injection de prostaglandines, peut être mise en place afin de pouvoir remettre la vache plus rapidement à la reproduction, ce qui constitue un gain de temps et d'argent non négligeable pour l'éleveur, puisque le coût d'une IA ratée est estimée à 1800 DA en élevage laitier contre 800 à 1000 DA pour une injection de prostaglandines .

Références

- ADAMS, G.P., ET AL., 2008, Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology*, 69(1): 72-80.
- AHMAD N, TOWNSEND EC, DAILEY RA, INSKEEP EK.1997. Relationship of hormonal patterns and fertility to occurrence of two or three waves of ovarian follicles,before and after breeding, in beef cows and heifer. *Anim Reprod Sci*, 49:13-28.
- AHMAD N., SCHRICK F.N., BUTCHER R.L., INSKEEP E.K. 1995. Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. *Biology of Reproduction*. 52:1129-1135.
- AMIRIDIS GS, TSILIGIANNI TH, DOVOLOU E, REKKAS C, VOUZARAS D, MENEGATOS I. Combined administration of gonadotropin-releasing hormone, progesterone and meloxicam is an effective treatment for the repeat-breeder cow. *Theriogenology*, 2009, 72, 542-548.
- AMOSS, M. S., AND R. GUILLEMIN. 1969. Elevation of plasma LH concentrations induced by LHreleasing factor as measured by radioimmunoassay in the sheep. *Endocrinol*. 84:1517-1520.
- ARAUJO R, GINTHER O, FERREIRA J, BEG MOHD, WILTBANK M. 2008. Reduction in circulating estradiol by ablation of follicles delays luteolysis in heifers. *In: Proceeding of the 41st Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction*, 2008, Kailua-Kona, Hawaii, USA. Madison, WI: SSR. pp. 159. (abstract).
- AROSH J.A., BANU S.K., KIMMINS S., CHAPDELAIN P., MACLAREN L.A., FORTIER M.A. 2004. Effect of interferon- τ on prostaglandin synthesis, transport, and signaling at the time of maternal recognition of pregnancy in cattle: evidence of polycrine actions of prostaglandin E₂. *Endocrinology*. 145:5280-5293.
- ARTHUR A.O., NOAKES D.E., PEARSON H., PARKINSON T.J., *Veterinary reproduction and obstetrics.*, 7th ed., Philadelphia : SAUNDERS, 1996, 726p.
- AYALON N. 1978. A review of embryonic mortality in cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*.54:483-493.
- BALL P.J.H. 1978. The relationship of age and stage of gestation to the incidence of embryo death in dairy cattle. *Research in Veterinary Science*. 25:120-122.
- BARONE R. (1990)- Splanchnologie II. In : Anatomie comparée des mammifères domestiques. 2nd ed., éditions Vigot, Paris, tome 4, 1-951.
- BARRE L. 1992. La mortalité embryonnaire chez la vache. *Thèse de Doctorat Vétérinaire (Nantes)*. N-1992-007. 103 pages.

- BARROS C.M., NEZTON G.R., THATCHER W.W., DROST M., PLANTE C., AND HANSEN P.J. The effect of bovine interferon α on pregnancy rate in heifers. *J. Anim. Sci.*, 70:1471-1477,1992.
- BARUSELLI PS, MARQUES MO, NASSER LF, REIS EL, BO GA. 2003. Effect of eCG on pregnancy rates of lactating zebu beef cows treated with cidr-b devices for timed artificial insemination. *Theriogenology*, 59:214. (abstract).
- BAZIN S., Grille de notation de l'état d'engraissement des vaches montbéliardes. ITEBRNED.1989, Paris (France). 27 p.
- BEAM S.W., BUTLER W.R. 1998. Energy balance, metabolic hormones, and early PP follicular development in dairy cows fed prilled lipid. *Journal of Dairy Science*. 81:121-131.
- BEAM S.W., BUTLER W.R. 1999. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility. Suppl.* 54:411-424.
- BECH-SABAT G, et al. Factors affecting plasma progesterone in the early fetal period in high producing dairy cows. *Theriogenology*, 2008, 69, 426-432.
- BECH-SABAT G ET AL. Pregnancy patterns during the early fetal period in high producing dairy cows treated with GnRH or progesterone. *Theriogenology*, 2009, 71, 920-929. Synthèse de : Prof Ch. Hanzen, Université de Liège, Faculté de Médecine Vétérinaire, B42 Tilman, B-4000 Liège christian.hanzen@ulg.ac.be.
- BELLO, N. M., J. P. STEIBEL, AND J. R. PURSLEY. 2006. Optimizing ovulation to first GnRH improved outcomes to each hormonal injection of Ovsynch in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89:3413-3424.
- BELTRAN. M.P AND VASCONCELOS .J.L.M. Conception rate in Holstein cows treated with GnRH or hCG on the fifth day post artificial insemination during summer. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, n.3, p.580-586, 2008.
- BERGAMASCHI MACM, MACHADO R, FIGUEIREDO RA, BARBOSA RT, DE OLIVEIRA CA, GIASSETTI MI, BINELLI M. 2006. Otimização da função luteínica em vacas Nelore (*Bos taurus indicus*) suplementadas com GnRH e hCG. *Acta Sci Vet*, 34(supl. 1):343. (abstract).
- BILBY TR, BLOCK J, AMARAL BC, SA FILHO O, SILVESTRE FT, HANSEN PJ, STAPLES CR, THATCHER WW. 2006a. Effects of dietary unsaturated fatty acids on oocyte quality and follicular development in lactating dairy cows in summer. *J Dairy Sci*, 89:3891-3903.
- BILBY TR, GUZELOGLU A, MACLAREN LA, STAPLES CR, THATCHER WW. 2006b. Pregnancy, bST and omega-3 fatty acids in lactating dairy cows: II. Gene expression related to maintenance of pregnancy. *J Dairy Sci*, 89:3375-3385.

- BILBY TR, SOZZI A, LOPEZ MM, SILVESTRE FT, EALY AD, STAPLES CR, THATCHER WW. 2006c. Pregnancy, bST and omega-3 fatty acids in lactating dairy cows: ovarian, conceptus, and growth hormone-insulin-like growth factor system responses. *J Dairy Sci*, 89:3360- 3374.
- BINELLI M, THATCHER WW, MATTOS R, BARUSELLI PS. 2001. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. *Theriogenology*, 56:1451-1463.
- BINELLI ,M.MACHADO R. BERGAMASCHI ,M.A.C.M, BERTAN ,C.M. Manipulation of ovarian and uterine function to increase conception rates in cattle, *Anim. Reprod.*, v.6, n.1, p.125-134, Jan./Mar,2009.
- BISINOTTO RS, IBIAPINA BT, PONTES EO, FEDOZZI F, BERGAMASCHI MACM, BERTAN CM, BINELLI M. 2006. Aspição folicular no período peri-luteólise em bovinos: efeitos no crescimento folicular e duração do ciclo estral. *Acta Sci Vet*, 34(supl. 1):274. (abstract).
- BÓ GA, ADAMS GP, PIERSON RA, MAPLETOFT RJ. 1995. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology*, 43:31-40.
- BO G.A., RIVERA G.M., GONI C.G., CHAVES M.A., FERRERO S.B. Ovarian follicular wave synchronization and induction of ovulation in the post-partum beef cows. *Theriogenology*, 1998, 49, 7, 1365-1375.
- BÓ GA, CUTAIA L, PERES LC, PINCINATO D, MARAÑA D, BARUSELLI PS. 2007. Technologies for fixed-time artificial insemination and their influence on reproductive performance of *Bos indicus* cattle. *Soc Reprod Fertil Suppl*, 64:223-236.
- BOLT, D. J. 1979. Reduction by human chorionic gonadotropin of the luteolytic effect of prostaglandin F_{2α} in ewes. *Prostaglandins* 18:387-396.
- BOYD J.S. et OMRAN S.N. (1991)- Diagnostic ultrasonography of the bovine female reproductive tract. *In-Practice*, 13, (3), 109-118.
- BREUEL, K. F., J. C. SPITZER, AND D. M. HENRICKS. 1989. Systemic progesterone concentration following human chorionic gonadotropin administration at various times during the estrous cycle in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 67:1564–1572.
- BUFORD W.I. 1996. Embryotoxicity of a regressing corpus luteum in beef cows supplemented with progestogen. *Biology of Reproduction*. 54:531-537.
- BURNS PD, ENGLE TE, HARRIS MA, ENNS RM, WHITTIER JC. 2003. Effect of fish meal supplementation on plasma and endometrial fatty acid composition in nonactating beef cows. *J Anim Sci*, 81:2840-2846.
- BUTLER W.R., CALAMAN J.J., BEAM S.W. 1996. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *Journal of Animal Science*. 74:858-865.

CALAIS Emilie, Irène, Marie et DRENO Caroline, Marie. L'échographie en gynécologie bovine, ovine et caprine : réalisation d'un cd-rom didactique. École nationale vétérinaire d'Alfort.

CHAGAS E SILVA J., LOPES DA COSTA L., AND ROBALO SILVA J. Plasma progesterone profiles and factors affecting embryo-fœtal mortality following embryo transfert in dairy cattle. *Theriogenology*, 58 :51-59,2002.

CHENE N., MARTAL J. 1996. Contrôle du développement embryonnaire et reconnaissance maternelle de la gestation. *Le Point Vétérinaire. Numéro spécial « Reproduction des ruminants »*. 28:57-66.

CHENG Z., ELMES M., KIRKUP S.E., ABAYASEKARA D.R.E., WATHES D.C. 2004. Alteration of prostaglandin production and agonist responsiveness by n-6 polyunsaturated fatty acids in endometrial cells from late-gestation ewes. *Journal of Endocrinology*. 182:249-256.

CUTAIA L, TRIBULO R, MORENO D, BO GA. 2003. Pregnancy rate in lactating beef cows treated with progesterone-releasing devices, estradiol benzoate and equine chorionic gonadotropin (eCG). *Theriogenology*, 59:216. (abstract).

DARWASH A.O. AND LAMMING G.E. the importance of milk progesterone concentration during early pregnancy in the cow. *J. Anim. Breed*, 2 :41-43, 1998.

DE LOS SANTOS-VALADEZ, S., G. E. SEIDEL, JR., AND R. P. ELSDEN. 1982. Effect of hCG on pregnancy rates in bovine embryo transfer recipients. *Theriogenology* 17:85.

DEMETRIO DGB, SANTOS RM, DEMETRIO CGB, VASCONCELOS JLM. 2007. Factors affecting conception rates following artificial insemination or embryo transfer in lactating Holstein cows. *J Dairy Sci*, 90:5073-5082.

DIAZ T, SCHMITT EJ, DE LA SOTA L, THATCHER MJ, THATCHER WW. 1998. Human chorionic gonadotropin-induced alterations in ovarian follicular dynamics during the estrous cycle of heifers. *J Anim Sci*, 76:1929- 1936.

DISENHAUS C., GRIMARD B., TROU G. et DELABY L., 2005. De la vache au système : s'adapter aux différents objectifs de reproduction en élevage laitier? *Renc. Rech.Ruminants*, 12: 125-135.

DISKIN M.G., SREENAN J.M. 1980. Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. *Journal of Reproduction and Fertility*. 59:463-468.

DISKIN M.D, KENNY D.A., DUNNE L.D., SREENAN J.M. Systemic progesterone pre-and post AI and embryo survival in heifers. In Proc Agric Res Forum, 2002.

DISKIN M.G., MURPHY J.J., SREENAN J.M. 2006. Embryo survival in dairy cows managed under pastoral conditions. *Animal Reproduction Science*. 96:297-311.

DISKIN MG, MORRIS DG. 2008. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. *Reprod Domest Anim*, 43(suppl. 2):260-267.

- DONALDSON, L. E., AND W. HANSEL. 1965. Prolongation of the life-span of the bovine corpus luteum by single injections of bovine luteinizing hormone. *J. Dairy. Sci.* 48:903-904.
- DRIANCOURT, M.A., FRY R.C, CLARKE I.J. AND CAHILL L.P., 1987, Follicular growth and regression during the 8 days after hypophysectomy in sheep. *J Reprod Fertil*, 79: 635-641.
- DRIANCOURT M.A., GOUGEON A., ROYERE D., THIBAUT C. 1991. La fonction ovarienne. In : *La reproduction chez les mammifères et l'Homme*. INRA Ellipses, 273-298.
- DRIANCOURT M.A., GOUGEON A., ROYERE D., THIBAUT C. 1991. La fonction ovarienne. In : *La reproduction chez les mammifères et l'Homme*. INRA Ellipses, 273-298.
- DRION P.V., BECKERS J.F., ECTORS F.J., HANZEN C., HOUTAIN J.Y., LONERGAN P. 1996. Régulation de la croissance folliculaire et lutéale : 1. Folliculogénèse et atresie. *Le Point Vétérinaire*. 28:37-47.
- DUNNE L.D., DISKIN M.G., SREENAN J.M. 2000. Embryo and foetal loss in beef heifers between day 14 of gestation and full term. *Animal Reproduction Science*. 58:39-44.
- EMOND V, MACLAREN LA, KIMMINS S, AROSH JÁ, FORTIER MA, LAMBERT RD. 2004. Expression of cyclooxygenase-2 and granulocyte-macrophage colonystimulating factor in the endometrial epithelium of the cow is up-regulated during early pregnancy and in response to intrauterine infusions of interferon- τ . *Biol Reprod*, 70:54-64.
- ENJALBERT F. 2003. Les déséquilibres alimentaires à l'origine de mortalité embryonnaire chez la vache. *Bulletin Technique G.T.V.* 21:53-56.
- ENNUYER M. Les vagues folliculaires chez la vache. Applications pratiques à la maîtrise de la reproduction. *Le Point Vétérinaire*, 2000, 31, 377-383.
- FIENI F., TAINTURIER D., BRUYAS J.F., BATTU I. Physiologie de l'activité ovarienne cyclique chez la vache. *Bull. Group. Tech. Vét.*, 1995, 512, 35-49.
- FORD, S. P., AND F. STORMSHAK. 1978. Bovine ovarian and pituitary responses to PMS and GnRH administered during metestrus. *J. Anim. Sci.* 46:1701-1706.
- FORDE N, CARTER F, FAIR T, CROWE M, EVANS A, SPENCER T, BAZER F, O'GAORA P, MCBRIDE R, BOLAND M, LONERGAN P, ROCHE J. 2008. Effect of pregnancy and progesterone on gene expression in the uterine endometrium of cattle. In: *Proceedings of the 41st Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction*, 2008, Kailua-Kona, Hawaii, USA. Madison, WI: SSR. pp. 67. (abstract).
- FOURNIER J.L., HUMBLLOT P. 1989. Fréquence et facteurs de variation de la mortalité embryonnaire tardive chez la vache laitière. *Elevage et Insémination*. 229:3-10.

FRERET S., CHARBONNIER G., CONGNARD V., JEANGUYOT N., DUBOIS P., LEVERT J., HUMBLLOT P., PONSART C. 2005. Expression et détection des chaleurs, reprise de la cyclicité et perte d'état corporel après vêlage en élevage laitier. Proc. : Rencontres, Recherches, Ruminants. 12:149-152.

FRERET S., PONSART C., BAHADUR R.D., JEANGUYOT N., PACCARD P., HUMBLLOT P. 2006. Enquête FERTILIA : facteurs de variation de la fertilité en 1ère insémination et des taux de mortalité embryonnaire en élevages laitiers Prim'Holstein. Proc. : Rencontres, Recherches, Ruminants. 13:281-284.

FROMENT P. 2007. Note d'état corporel et reproduction chez la vache laitière. Thèse de Doctorat Vétérinaire (Alfort). A-2007-098. 112 p.

GARRET J.E., GEISERT R.D., ZAVY M.T., AND MORGAN G.L. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. J. Reprod. Fertil., 84 :437-446,1998.

GEARY TOM. Management Strategies to Reduce Embryonic Loss. Proceedings, The Range Beef Cow Symposium XIX December 6, 7 and 8, 2005, Rapid City, South Dakota.

GEISERT RD, ZAVY MT, BIGGERS BG, GARRET JE, WETTEMANN RP. 1988. Characterization of the uterine environment during early conceptus expansion in the bovine. *Anim Reprod Sci*, 16:11-25.

GIFFORD CA, RACICOT K, CLARK DS, AUSTIN KJ, HANSEN TR, LUCY MC, DAVIES CJ, OTT TL. 2007. Regulation of interferon-stimulated genes in peripheral blood leukocytes in pregnant and bred, nonpregnant dairy cows. *J Dairy Sci*, 90:274-280.

GINTHER O.J., KNOPF L., KASTELIC J.P. Temporal associations among ovarious events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. *J. Reprod. Fertil.*, 1989, 37, 1, 223-230.

GINTHER OJ, WILTBANK MC, FRICKE PM, GIBBONS JR, KOT K. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biology of Reproduction*, 1996, 55, 1187-1194.

GINTHER, O.J., *et al.*, 2001, *Follicle selection in monovular species*. *Biol Reprod*, 65(3): 638-47.

GOISSIS MD, BRESSAN FF, ALMEIDA AB, BERTAN CM, BINELLI M. 2004. Influence of an accessory corpus luteum (CL) on estradiol 17- β (E2)-induced prostaglandin F 2α (PGF 2α) release in cattle. *In*: Abstracts of the 15th International Congress on Animal Reproduction, 2004, Porto Seguro, BA, Brazil. Porto Seguro, BA: ICAR. pp. 125. (abstract).

GRIMARD B., FRERET S., CHEVALLIER A., PINTO A., POINSART C., HUMBLLOT P. 2006. Genetic and environment factors influencing first service conception rate and late embryonic/fœtal mortality in low fertility dairy herds. *Animal Reproduction Science*. 91:31-44.

- GROSS T.S., PLANTE C., THATCHER W.W., HANSEN P.J., PUTNEY D.J. 1988. Regulation of endometrial prostaglandin and protein synthesis by bovine conceptus secretory proteins. *Theriogenology*. 29:254.
- GRYGAR I., VANATKA F., VINKLER A. et KUDLAC E. (1992)- Comparison of the accuracy of the diagnostics of physiological and pathological conditions in bovine ovaries by means of rectal palpation and ultrasonography. *Acta Vet. Brno*, 61, (4), 219-230.
- GUSTAFSSON H., LARSSON K. 1985. Embryonic mortality in heifers after artificial insemination and embryo transfer: differences between virgin and repeat breeder heifers. *Research in Veterinary Science*. 39:271-274.
- GUZELOGLU A, ERDEM H, SARIBAY MK, THATCHER WW, TEKELI T. 2007. Effect of the administration of flunixin meglumine on pregnancy rates in Holstein heifers. *Vet Rec*, 160:404-406.
- HAFEZ B, HAFEZ E.S.E. Physiology of reproduction. In: Lippincott, Williams et Wilkins editors. *Reproduction in farm animals*, 2000, 31-33.
- HANSEL, W. AND K. H. SEIFART. 1967. Maintenance of luteal function in the cow. *J. Dairy Sci*. 50:1948-1958.
- HANZEN C., LAURENT Y. et JAKOVLJEVIC S. (1993)- Applications de l'échographie en reproduction bovine 1.Examen des ovaires. *Ann. Méd. Vét.*, 137, 13-18.
- HANZEN C.H., LOURTIE O., DRION P.V., DEPIERREUX C. et CHRISTIANS E., 1999. La mortalité embryonnaire: Aspects cliniques et facteurs étiologiques dans l'espèce bovine. *Ann. Méd. Vét.*, **143**: 91-118.
- HANZEN C. 2001. Facteurs de risque de la mortalité embryonnaire chez la vache. *Proc : AERA*.67-74.
- HOWARD, H. J., AND J. H. BRITT. 1990. Prostaglandin F₂ α causes regression of an hCG-induced corpus luteum before day 5 of its life-span in cattle. *J. Reprod. Fertil*. 90:245-253.
- HOWARD, H. J., R. G. SCOTT, AND J. H. BRITT. 1990. Associations among progesterone, estradiol-17 β , oxytocin, and prostaglandin in cattle treated with hCG during diestrus to extend corpus luteum function. *Prostaglandins* 40:51-70.
- HUMBLOT P. 1981. physiologie de la reconnaissance embryo-maternelle chez la vache. *Recueil de Medecine Vétérinaire*. 157:39-52.
- HUMBLOT P., DALLA PORTA M.A. 1984. Effect of conceptus removal and intrauterine administration of conceptus tissue on luteal function in the cow. *Reproduction Nutrition and Development*. 24:529-541.

- HUMBLOT P. 2001. Use of pregnancy specific proteins and progesterone assays to monitor pregnancy and determine the timing, frequencies and sources of embryonic mortality in ruminants. *Theriogenology*. 56:1417-1433.
- Huyart C. 2004. Relation entre la qualité des gamètes femelles et la fertilité chez la vache laitière. Thèse de Doctorat Vétérinaire (Nantes). N-2004-152. 150 pages.
- INSKEEP E.K. 2004. Preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effects of concentrations of progesterone on embryonic survival in the cow. *Journal of Animal Science*. 82(E.Suppl.):E24-E39.
- INSKEEP E.K., DAILEY R.A. 2005. Embryonic death in cattle. *Veterinary Clinics of Food Animal Practice*. 21:437-461.
- IRELAND, J. J., AND J. F. ROCHE, 1983b, Development of nonovulatory antral follicles in heifers: changes in steroids in follicular fluid and receptors for gonadotropins. *Endocrinology*, 112: 150–156.
- IRELAND, J. J., AND J. F. ROCHE, 1983a, Growth and differentiation of large antral follicles after spontaneous luteolysis in heifers: changes in concentration of hormones in follicular fluid and specific binding of gonadotropins to follicles. *J. Anim. Sci.*, 57: 157–167.
- IRELAND, J.J, ROCHE, J.F., Hypotheses regarding development of dominant follicles during a bovine estrous cycle. In: Roche,, J.R., O'Callaghan, D. (Ed). *Follicular growth and ovulation rate in farm animals*, Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1987, p.1-18.
- IRELAND, J.J., ET AL., 2000, Historical perspective of turnover of dominant follicles during the bovine estrous cycle: key concepts, studies, advancements, and terms. *J Dairy Sci*, 83(7): 1648-58.
- JAMESON, L. J., AND A. N. HOLLENBERG. 1993. Regulation of chorionic gonadotropin gene expression. *Endocrine Reviews*. 14:203-221.
- KAHN W. (1994) *Atlas de diagnostics échographiques*. Maloine, Paris, 255 p.
- KAMIMURA S., OHGI T., TAKAHASHI M. et TSUKAMOTO T. (1993)- Postpartum resumption of ovarian activity and uterine involution monitored by ultrasonography in Holstein cows. *J. Vet. Med. Sci.*, 55, (4), 643-647.
- KASTELIC J.P., BERGFELT D.R. et GINTHER O.J. (1990)- Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. *Theriogenology*, 33, 1269-1278.
- KASTELIC J.P., NORTHEY D.L., GINTHER O.J. 1991. Spontaneous embryonic death on days 20 to 40 in heifers. *Theriogenology*. 35:351-363.
- KERBLER T.L., BUHR M.M., JORDAN L.T., LESLIE K.E., WALTON J.S. 1997. Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by the conceptus in cattle. *Theriogenology*. 47:703-714.

- KICHGESSNER M., KREUSER M., ROTH-MAIER D.A. 1986. Milk urea and protein content to diagnose energy and protein malnutrition in dry cows. *Archives of Animal Nutrition*. 36:192-197.
- KITO S., OKUDA K., MIYAZAWA K. et SATO K. (1986)- Study on the appearance of the cavity in the corpus luteum of the cows by using ultrasonic scanning. *Theriogenology*, 25, 325-333.
- KITTOK, R. J., J. H. BRITT, AND E. M. CONVEY. 1973. Endocrine response after GnRH in luteal phase cows and cows with follicular cysts. *J. Anim. Sci.* 37:985-989.
- KOMAR CM, BERDNDTSON AK, EVANS ACO, FORTUNE J. 2001. Decline in circulating estradiol during the periovulatory period is correlated with decrease in estradiol and androgen, and in messenger RNA for p450 aromatase and p450 17 α -hydroxylase, in bovine preovulatory follicles. *Biol Reprod*, 64:1979-1803.
- KUMMERFELD H.L., OLTENACU E.A.B., FOOTE R.H. 1978. Embryonic mortality in dairy cows estimated by nonreturns to service, estrus, and cyclic milk progesterone patterns. *Journal of Dairy Science*. 61:1773-1777.
- LAMMING, G. E., A. O. DARWASH, AND H. L. BACK. 1989. Corpus luteum function in dairy cows and embryo mortality. *J. Reprod. Fertil.* 37:245-252.
- LEGENDRE Anne-Claire, Isabelle, Charlotte (2009). Induction d'un corps jaune secondaire par l'hCG en milieu de cycle chez la vache. These pour le doctorat veterinaire. École nationale vétérinaire d'alfort.
- LEYMARIE P., MARTAL J. 1991. Du corps jaune cyclique au corps jaune gestatif. La reproduction chez les mammifères et l'Homme. Thibault, Levasseur. Chapitre 21:403-421. Edition Marketing, Paris.
- LOKHANDE, S., D. MASSENOT, P. HUMBLLOT, AND M. THIBIER. 1981. Lack of luteolytic effect of gonadotropin releasing hormone (GnRH) with therapeutic and repeated doses in dairy cows. *Ann. Rech. Vet.* 12:353-362.
- LOPEZ-GATIUS F., SANTOLARIA P., YANIZ J., RUTLLANT J., LOPEZ-BEJAR M. 2002. Factors affecting pregnancy loss from gestation Day 38 to 90 in lactating dairy cows from a single herd. *Theriogenology*. 57:1251-1261.
- LOPEZ, H., R. SARTORI, AND M.C. WILTBANK, 2005. Reproductive hormones and follicular growth during development of one or multiple dominant follicles in cattle. *Biol Reprod*, 72(4): 788-95.
- LYNCH P.R., MACMILLAN K.L., AND TAUFU V.K. Treating cattle with progesterone as well as a GnRH analogue affects oestrus cycle length and fertility. *Anim. Reprod. Sci.*, 56 :189-200, 1999.

- MACHADO R, SILVA JCB, BARBOSA RT, NIEMEYER C, BINELLI M. 2006. Taxas de prenhez em receptoras após suplementação com GnRH e hCG. *Acta Sci Vet*, 34(supl. 1):533. (abstract).
- MACHADO R, BERGAMASCHI MACM, BARBOSA RT, OLIVEIRA CA, BINELLI M. 2008. Ovarian function in Nelore (*Bos taurus indicus*) cows after post-ovulation hormone treatments. *Theriogenology*, 69:798-804.
- MACMILLAN, K.L., 2003, Associations between the manipulation of patterns of follicular development and fertility in cattle. *Animal Reproduction Science*, 78: 327-344.
- MACMILLAN, K. L., A. M. DAY, V. K. TAUFA, M. GIBB, AND M G. PEARSON. 1985. Effects of an agonist of gonadotropin releasing hormone in cattle. I. Hormone concentrations and oestrous cycle length. *Anim. Reprod. Sci.* 8:203-212.
- MAILLARD R., CHASTANT-MAILLARD S. 2002. Viroses et reproduction. Proc. : Société Française de Buiatrie. 242-261.
- MANN GE, LAMMING GE, FRAY MD. Plasma oestradiol and progesterone during early pregnancy in the cows and the effects of treatment with buserelina. *Animal Reproduction Science*, 1995, 37, 121-131.
- MANN GE, MANN SJ, LAMMING GE. 1996. The interrelationship between the maternal hormone environment and the embryo during the early stages of pregnancy. *J Reprod Fertil Abstr Ser*,17:55. (abstract).
- MANN GE, LAMMING GE, FISHER PA. 1998. Progesterone control of interferon- τ production during early pregnancy in the cow. *J Reprod Fertil Abstr Ser*, 21:37. (abstract).
- MANN GE, LAMMING GE, ROBINSON RS, WATHES DC. 1999. The regulation of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy. *J Reprod Fertil Suppl*, 54:317-328.
- MANN G.E AND LAMMING G.E. the influence of progesterone during early pregnancy in cattle. *Reprod. Dom. Anim.*, 34 :269-274, 1999.
- MANN G.E., LAMMING G.E. 2001. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction*. 121:175-180.
- MANN GE, FRAY MD, LAMMING GE. 2006. Effect of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon-tau production in the cow. *Vet J*, 171:500-503.
- MANN GE. Corpus luteum size and plasma progesterone concentration in cows. *Animal Reproduction Science*, 2009, 115, 296-299.

- MANTOVANI AP, REIS EL, GACEK F, BÓ GA, BARUSELLI PS, BINELLI M. 2005. Prolonged use of a progesterone-releasing intravaginal device (CIDR) for induction of persistent follicles in bovine embryo recipients. *Anim Reprod*, 2:272-277.
- MARQUES MO. 2002. Ultrasonografia Ovariana, Concentração Plasmática de Progesterona e Taxa de Concepção em Novilhas Receptoras de Embrião Submetidas a Diferentes Tratamentos no Dia 7 do Ciclo Estral. São Paulo, SP: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. Dissertation.
- MARTAL J., CHARLIER M. 1985. Avortements précoces et signaux embryonnaires de reconnaissance de la gestation. *Recueil de Médecine Vétérinaire*. 161:87-97.
- MARTIN, T. L., L. V. SWANSON, L. H. APPELL, K. E. ROWE, AND F. STORMSHAK. 1990. Response of the bovine corpus luteum to increased secretion of luteinizing hormone induced by exogenous gonadotropin releasing hormone. *Domest. Anim. Endocrinol.* 7:27-34.
- MATTOS R., GUZELOGLU A., BADINGA L., STAPLES C.R., THATCHER W.W. 2003. Polyunsaturated fatty acids and bovine interferon-tau modify phorbol ester-induced secretion of prostaglandin F₂-alpha and expression of prostaglandin endoperoxide synthase-2 and phospholipase-A₂ in bovine endometrial cells. *Biology of Reproduction*. 69:780-787.
- MATTOS, R, STAPLES CR, ARTECHE A, WILTBANK MC, DIAZ FJ, JENKINS TC, THATCHER WW. 2004. The effect of feeding fish oil on uterine secretion of PGF₂ α , milk composition, and metabolic status of periparturient Holstein cows. *J Dairy Sci*, 97:921-932.
- MAURER R.R., CHENAULT J.R. 1983. Fertilization failure and embryonic mortality in parous and nonparous beef cattle. *Journal of Animal Science*. 56:1186-1189.
- McCANN, S. M., J. ANTUNES-RODRIGUEZ, AND A. P. S. DHARIWAL. 1965. Physiology and chemistry of hypothalamic factors which influence gonadotropin secretion. *Proc. XXII Inter. Cong. Physiol., Tokyo. Excerpta. Medica. International Congress Series* 87:292-297.
- McCRACKEN JA, SCHRAMM W, OKULICZ WC. 1984. Hormone receptor control of pulsatile secretion of PGF₂ α from ovine uterus during luteolysis and its abrogation in early pregnancy. *Anim Reprod Sci*, 7:31- 55.
- McDERMOTT, J. M., W. W. THATCHER, M. DROST, J. M. MARTIN, AND D. J. PUTNEY. 1986. Effects of hCG on cycle length, response to PGF_B2 α , and pregnancy rate in dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 63 (Suppl. 1):354 (Abstr.).
- McNEILL R.E., DISKIN M.G., SREENAN J.M., MORRIS D.G. 2006. Associations between milk progesterone concentration on different days and with embryo survival during the early luteal phase in dairy cows. *Theriogenology*. 65:1435-1441.

- MERRYL ML, ANSOTEGUI RP, BURNS PD, McNEIL MD, GEARY TW. 2007. Effects of flunixin meglumine and transportation on establishment of pregnancy in beef cows. *J Anim Sci*, 85:1547-1154.
- MIALOT JP, PONTER A, GRIMARD B, CONSTANT F, CHASTANT-MAILLARD S. Prévention des mortalités embryonnaires chez les bovins : stratégies anti-lutéolytiques. *Bulletin des GTV*, 2004, 24, 419-425.
- MILVAE, R. A., B. D. MURPHY, AND W. HANSEL. 1984. Prolongation of the bovine estrous cycle with a gonadotropin-releasing hormone analog. *Biol. Reprod.* 31:664-670.
- MOODY, E. L., AND W. HANSEL. 1971. Effect of pretreating heifers with human chorionic gonadotropin and estradiol on subsequent in-vitro luteal tissue progesterone biosynthesis. *J. Anim. Sci.* 33:1032-1037.
- MOREIRA F, BADINGA L, BURNLEY C, THATCHER WW. 2002a. Bovine somatotropin increases embryonic development in superovulated cows and improves posttransfer pregnancy rates when given to lactating recipient cows. *Theriogenology*, 57:1371-1387.
- MOREIRA F, PAULA-LOPES FF, HANSEN PJ, BADINGA L, THATCHER WW. 2002b. Effect of growth hormone and insulin-like growth factor-I on development of in vitro derived bovine embryos. *Theriogenology*, 57:895-907.
- NIEMANN H., SACHER B., ELSAESSER F. Pregnancy rates relative to recipient plasma progesterone levels on the day of nonsurgical transfer of frozen/thawed bovine embryos. *Theriogenology*, 23 :631-639, 1995.
- NISWENDER, G. D., L. E. REICHERT, A. R. MIDGLEY, AND A. V. NALBANDOV. 1969. Radioimmunoassay for bovine and ovine luteinizing hormone. *Endocrinol.* 84:1166-1173.
- NISWENDER, G. D., R. H. SCHWALL, T. A. FITZ, C. E. FARIN, AND H. R. SAWYER. 1985. Regulation of luteal function in domestic ruminants: new concepts. In: *Recent Prog.*
- NORTHEY D.L., FRENCH L.R. 1980. Effect of embryo removal and intrauterine infusion of embryonic homogenates on the lifespan of the bovine corpus luteum. *Journal of Animal Science.* 50:298-380.
- NOSEIR, W., 2003, Ovarian follicular activity and hormonal profile during estrous cycle in cows: the development of 2 versus 3 wave, *Reproductive Biology and Endocrinology*, 1: 50.
- OLIVEIRA JF, HENKES LE, ASHLEY RL, PURCELL SH, SMIRNOVA NP, VEERAMACHANENI DNR, ANTHONY RV, HANSEN TR. 2008. Expression of interferon (IFN)-stimulated genes in extrauterine tissues during early pregnancy in sheep is the consequence of endocrine IFN- τ release from the uterine vein. *Endocrinology*, 149:1252-1259.

PAKSOY Zahid, KALKAN Cahit,. The Effects of GnRH and hCG Used During and After Artificial Insemination on Blood Serum Progesterone Levels and Pregnancy Rate in Cows. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 16 (3): 371-375, 2010.

PERES RFG, CLARO JR. I, COSTA M, AONO FHS, PEREIRA MH, LOPES CN, SÁ FILHO OG, VASCONCELOS JLM. 2008. Pre and post ovulatory progesterone concentrations in Nellore cattle after AI. *Acta Sci Vet*, 36(supl. 2):s613. (abstract).

PETERS AR, MAWHINNEY I, DREW SB, WARD SJ, WARREN MJ, GORDON PJ (1999). Development of a gonadotrophin-releasing hormone and prostaglandin regimen for the planned breeding of dairy cows. *Vet Rec*, **145**, 516-521.

PETERS AR, MARTINEZ T.A, COOK AJC. A meta-analysis of the effect of GnRH 11-14 days after insemination on pregnancy rates in cattle. *Theriogenology*, 2000, 54, 1317-1326.

PETIT HV, TWAGIRAMUNGU H. 2004. Conception rate and reproductive function of dairy cows fed different fat sources. *Theriogenology*, 66:1316-1324.

PFEIFER LFM, VASCONCELOS JLM, SCHNEIDER A, WILSON NETO J, DIONELLO NJL, DUARTE P, MENEGHELO L, CORREA MN, GUZELOGLU A, THATCHER WW. 2007. Effect of flunixin meglumine at days 15 and 16 after TAI on pregnancy rates in lactating Holstein cows. *J Anim Sci*, 85(suppl. 1):326. (abstract).

PICARD-HAGEN N., GAYRARD V., AND BERTHELOT X. Les causes de la mortalité embryonnaire chez les ruminants. *Bulltin des GTV*, 21 :39-42,2003.

PIERSON R.A. et GINTHER O.J. (1988)- Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. *Theriogenology*, 29, 21-37.

PIERSON, R. A., AND O. J. GINTHER. 1984. Ultrasonography of the bovine ovary. *Theriogenology* 21:495-504.

PIETERSE M.C., TAVERNE M.A.M., KRUIP T.A.M. et WILLEMSE A.H. (1990) Detection of corpora lutea and follicles in cows : a comparison of transvaginal ultrasonography and rectal palpation. *Vet. Rec.*, 126, 552-554.

PINTO A., BOUCA P., CHEVALLIER A., FRERET S., GRIMARD B., HUMBLOT P. 2000. Sources de variation de la fertilité et des fréquences de mortalité embryonnaire chez la vache laitière. *Proc. : Rencontres, Recherches, Ruminants*. 7:213-216.

POLL C. 2007. La mortalité embryonnaire chez les bovins. Thèse de Doctorat Vétérinaire (Lyon). L-2007-077. 104 p.

PONSART C., FRERET S., HUMBLOT P., CHARBONNIER G., DUBOIS P. 2006. NEC+REPRO : signes de chaleurs, profils de cyclicité, état sanitaire du début de lactation, état corporel et production laitière, 5 effets conjugués sur la reproduction. *Bulletin technique de l'insémination artificielle*. n°120:33-36.

- PONTER A.A., ARNAULT J., JOLY C., GUELOU K., VALY G., PONCHON S. 2007. Effect of the type of dietary fatty acid (α -linolenic acid or linoleic acid) on the number and the quality of oocytes collected by ovum pickup and on in vitro embryo production in dairy heifers. *Reproduction Fertility Development*. 19:244 (Abstract).
- PRICE, C. A., AND R. WEBB. 1989. Ovarian response to hCG treatment during the oestrous cycle in heifers. *J. Reprod. Fertil.* 86:303-308.
- RAJAKOSKI, E., 1960, The ovarian follicular system in sexually mature heifers with special reference to seasonal, cyclical, end left-right variations. *Acta Endocrinol Suppl (Copenh)*, 34(Suppl 52): 1-68.
- RAJAMAHENDRAN R, SIANANGAMA RC. Effect of human gonadotrophin on dominant follicles in cows: formation of accessory corpora lutea, progesterone production and pregnancy rates. *Journal of Reproduction and Fertility*, 1992, 95, 577-84.
- REEVES, J. J., A. ARIMURA, AND A. V. SCHALLY. 1971. Pituitary responsiveness to purified luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) at various stages of the estrous cycle in sheep. *J. Anim. Sci.* 32:123-131.
- RETTMER, I. 1991. Administration of a GnRH analog agonist (fertirelin acetate) during the mid-luteal phase of the estrous cycle: Effects on pregnancy rates, hormonal profiles and ovarian follicular and luteal dynamics. MS Thesis, Kansas State Univ., Manhattan.
- RIBADU A.Y., WARD W.R. et DOBSON H. (1994)- Comparative evaluation of ovarian structures in cattle by palpation per rectum, ultrasonography and plasma progesterone concentration. *Vet. Rec.*, 135, 452-457.
- RIVERA, G.M. AND J.E. FORTUNE, 2001, Development of codominant follicles in cattle is associated with a follicle-stimulating hormone-dependent insulin-like growth factor binding protein-4 protease. *Biol Reprod.*, 65(1): 112-8.
- ROBINSON R.S., MANN G.E., LAMMING G.E., WATHES D.C. 1999. The effect of pregnancy on the expression of uterine oxytocin, oestrogen and progesterone receptors during early pregnancy in the cow. *Journal of Endocrinology*. 160:21-33.
- ROBINSON R.W., MANN G.E., LAMMING G.E., AND WATHES D.C. Expression of oxytocin, oestrogen, and progesterone receptors in uterine biopsy samples throughout the oestrus cycle and pregnancy in cows. *Reproduction*, 122 :965-979, 2001.
- ROBINSON R.S., FRAY M.D., WATHES D.C., LAMMING G.E., MANN G.E. 2006. In Vivo expression of interferon tau mRNA by the embryonic trophoblast and uterine concentrations of interferon tau protein during early pregnancy in the cow. *Molecular Reproduction and Development*. 73:470-474.

- ROCHE J.F. 2006. The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Animal Reproduction Science*. 96:282-296.
- RODGER, L. D., AND F. STORMSHAK. 1986. Gonadotropin-releasing hormone-induced alteration of bovine corpus luteum function. *Biol. Reprod.* 35:149-156.
- ROMANO JE, THOMPSON JA, FORREST DW, WESTHUSIN ME, TOMASZWESKI MA, KRAEMER DC. 2006. Early pregnancy diagnosis by transrectal ultrasonography in dairy cattle. *Theriogenology*, 66:1034-1041.
- ROYAL M.D., DARWASH A.O., FLINT A.P.F., WEBB R., WOOLLIAMS J.A., LAMMING G.E. 2000. Declining fertility in dairy cattle: changes in traditional and endocrine parameters of fertility. *Animal Science*. 70:487-501.
- SALFEN BE, CRESSWELL JR, XU ZZ, BAO B, GARVERICK HA. 1999. Effects of the presence of a dominant follicle and exogenous oestradiol on the duration of the luteal phase of the bovine oestrous cycle. *J Reprod Fertil*, 115:15-21.
- SANTOS JEP, THATCHER WW, POOL L, OVERTON MW. 2001. Effect of human chorionic gonadotropin on luteal function and reproductive performance on high producing lactating Holstein cows. *J Anim Sci*, 79:2881- 2894.
- SANTOS JEP, JUCHEN SO, CERRI RLA, GALVÃO KN, CHEBEL RC, THATCHER WW, DEI C, BILBY C. 2004. Effect of bST and reproductive management on reproductive and lactational performance of Holstein dairy cows. *J Dairy Sci*, 87:868-881.
- SANTOS JEP, BILBY TR, THATCHER WW, STAPLES CR, SILVESTRE FT. 2008a. Long chain fatty acids of diet as factors influencing reproduction in cattle. *Reprod Domest Anim*, 43(suppl. 2):23 30.
- SANTOS RM, GOISSIS MD, FANTINI DA, BERTAN CM, VASCONCELOS JLM, BINELLI M. 2008b. Elevated progesterone concentrations enhance prostaglandin F2 α synthesis in dairy cows. *Anim Reprod Sci*, 82:E24-39. (submitted).
- SANTOS J.E.P., RUTIGLIANO H.M., SA FILHO M.F. 2009. Risk factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science*.110:207-221.
- SARTORI R, SARTOR-BERGFELT R, MERTENS SA, GUENTHER JN, PARRISH JJ, WILTBANK MC. 2002. Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. *Journal of Dairy Science*. 85:2803-2812.
- SCHALLY, A. V., C. Y. BOWERS, W. F. WHITE, AND A. I. COHEN. 1967. Purification and *in vivo* and *in vitro* studies with porcine luteinizing hormone-releasing factor (LRF). *Endocrinol*. 81:77-87.

- SCHMITT E J-P, DIAZ T, BARROS CM, DE LA SOTA RL, DROST M, FREDRIKSSON EW, STAPLES CR, THORNER R, THATCHER WW. 1996. Differential response of the luteal phase and fertility in cattle following ovulation of the first-wave follicle with human chorionic gonadotropin or an agonist of gonadotropin-releasing hormone. *J Anim Sci*, 74:1074-1083.
- SEEGERS H. 1992. L'impact économique de l'infécondité en élevage bovin laitier : discussion. Bulletin des GTV. GTV-92-2-B-422:27-33.
- SHAHAM-ALBALANCY A, FOLMAN Y, KAIM M, ROSENBERG M. 2001. Delayed effect of low progesterone concentrations on bovine uterine PGF 2α secretion in the subsequent oestrous cycle. *Reproduction*, 122:643-648.
- SHIPLEY, S. K., J. W. FUQUAY, A. E. SMITH, AND M. J. STUART. 1988. Response of dairy heifers to prostaglandin FB 2α B after treatment with human chorionic gonadotropin. *Theriogenology* 29:743-749.
- SILKE V., DISKIN M.G., KENNY D.A., BOLAND M.P., DILLON P., MEE J.F., SREENAN J.M. 2002. Extent, pattern and factors associated with late embryonic loss in dairy cows. *Animal Reproduction Science*. 71:1-12.
- SINGH J., PIERSON R.A. et ADAMS G.P. (1997)- Ultrasound image attributes of the bovine corpus luteum : structural and functional correlates. *J. Reprod. Fert.*, 109, 35-44.
- SPENCER TE, BURGHARDT RC, JOHNSON GA, BAZER FW. 2004. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Anim Reprod Sci*, 82/83:537-550.
- SPENCER TE, JOHNSON GA, BAZER FW, BURGHARDT RC, PALMARINI M, 2007. Pregnancy recognition and conceptus implantation in domestic ruminants: roles of progesterone, interferons and endogenous retroviruses. *Reproduction, Fertility and Development*. 19: 65-78.
- SREENAN J.M., DISKIN M.G. 1983. Early embryonic mortality in the cow: its relationship with progesterone concentration. *Veterinary Record*. 112:517-521.
- STARBUCK M.J., DAILEY R.A., INSKEEP E.K. 2004. Factors affecting retention of early pregnancy in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*. 84:27-39.
- STERRY, R. A., M. L. WELLE, AND P. M. FRICKE. 2006. Treatment with gonadotropin-releasing-hormone after first timed artificial insemination improves fertility in noncycling lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*. 89:4237-4245.

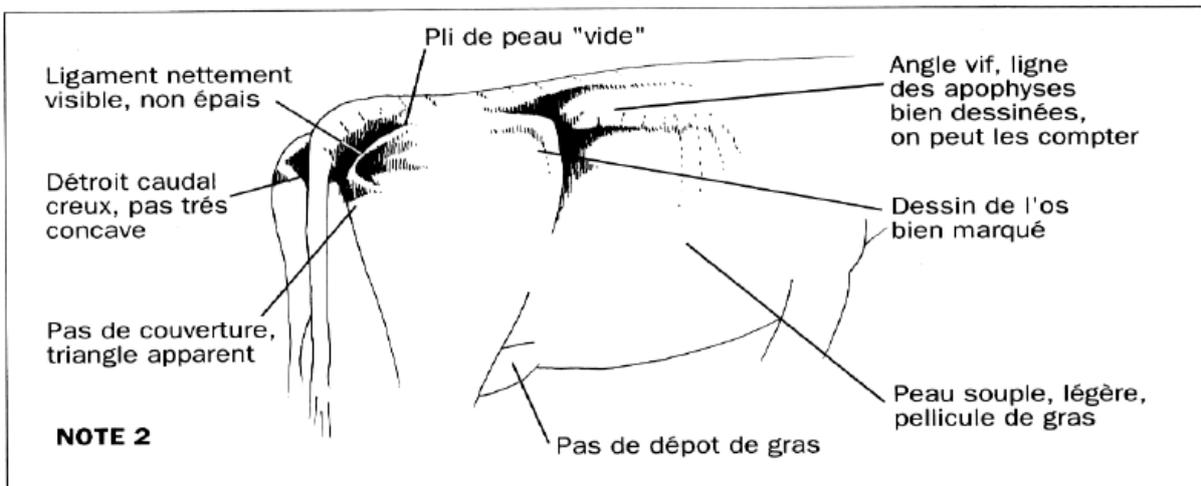
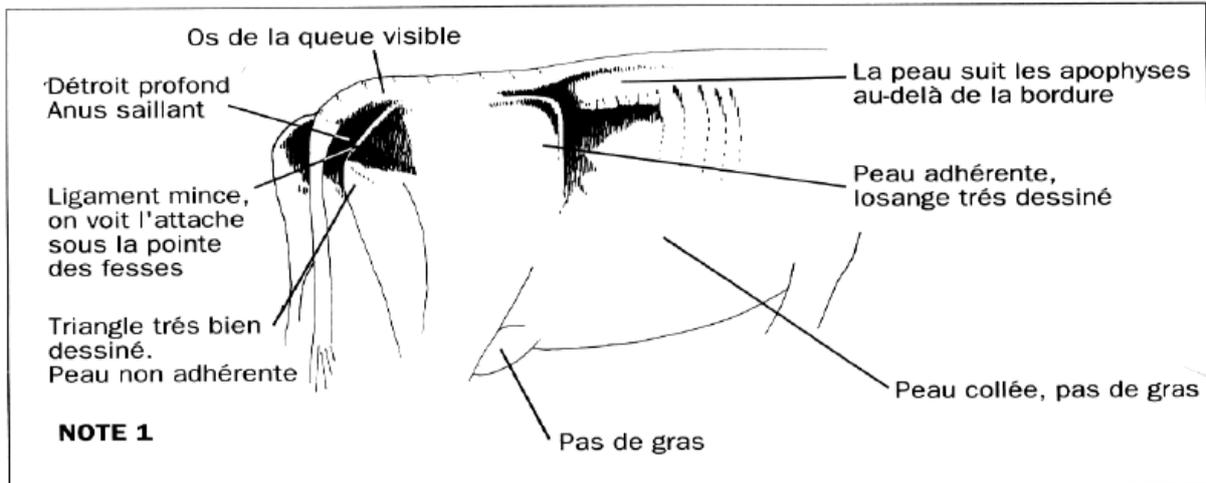
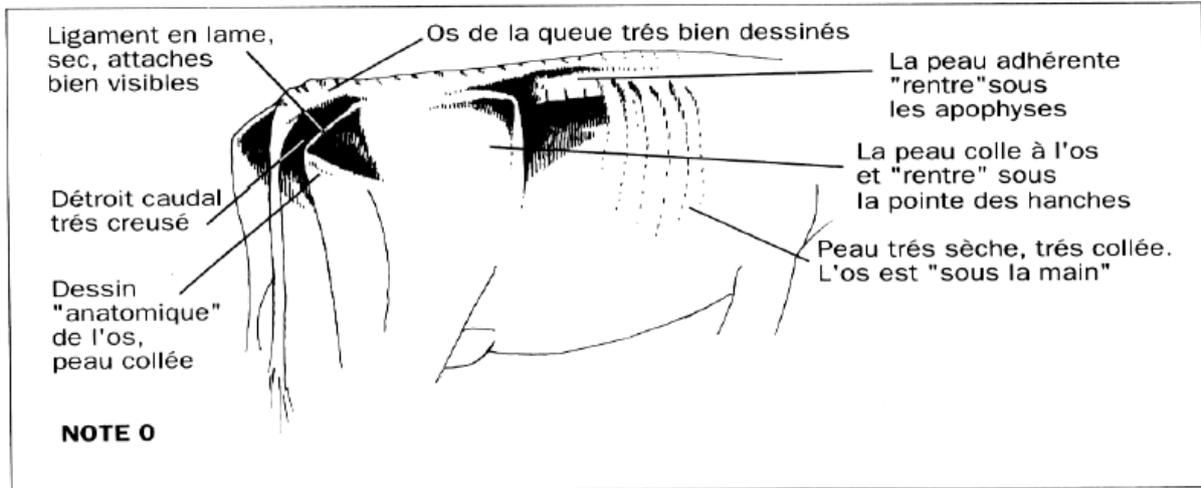
- STEVENSON JS, PORTALUPPI MA, TENHOUSE DE, LLOYD A, EBORN DR, KAKUBA S, DEJARNETTE JM. 2007. Interventions after artificial insemination: conception rates, pregnancy survival, and ovarian responses to gonadotropic-releasing hormone, human chorionic gonadotropin, and progesterone. *J Dairy Sci*, 90:331- 340.
- STEVENSON JS, TIFFANY SM, INSKEEP EK. Maintenance of pregnancy in dairy cattle after treatment with human Chorionic Gonadotropin or Gonadotropin-Releasing Hormone. *Journal of Dairy Science*, 2008, 91, 3092-101.
- STRONGE A.J.H., SREENAN J.M., DISKIN M.G., MEE J.F., KENNY D.A., MORRIS D.G. 2005. Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. *Theriogenology*. 64:1212-1224.
- THATCHER WW, TERQUI M, THIMONIER J, MAULEON P. 1986. Effect of estradiol-17 β on peripheral plasma concentration of 15-keto-13,14-dihydro PGF $_2\alpha$ and luteolysis in cyclic cattle. *Prostaglandins*, 31:745-756.
- THATCHER, W. W., K. L. MACMILLAN, P. J. HANSEN, AND M. DROST. 1989. Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. *Theriogenology* 31:149-164.
- THATCHER W.W., BILBY T.R., BARTOLOME J.A., SILVESTRE F., STAPLES C.R., SANTOS J.E.P. 2006. Strategies for improving fertility in the modern dairy cow. *Theriogenology*. 65:20-44.
- THOMPSON, F. N., T. CLEKIS, T. E. KISER, H. J. CHEN, AND C. K. SMITH. 1980. Serum progesterone concentrations in pregnant and non-pregnant heifers and after gonadotropin releasing hormone in luteal phase heifers. *Theriogenology* 13:407- 417.
- TOWNSON, D.H., ET AL., 2002, Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows. *J Anim Sci*, 80(4): 1053-8.
- VAN CLEEFF J, DROST M, THATCHER WW. 1991. Effects of postinsemination progesterone supplementation on fertility and subsequent estrous responses of dairy heifers. *Theriogenology*, 36:795-807.
- VASCONCELOS JLM, ARAUJO TPB, CERRI RLA, VALARELLI RL, WECHSLER FS (2000). Ovulation and synchronization rates in Holstein and crossbred lactating dairy cows when receiving the PGF $_2\alpha$ injection on d 6 or 7 of the Ovsynch protocol. *J Dairy Sci*, 83(suppl. 1):214. (abstract).
- VASCONCELOS J.L., SANGSRITAVONG S., TSAI S.J., WILTBANK M.C. 2003. Acute reduction in serum progesterone concentrations after feed intake in dairy cows. *Theriogenology*. 60:795-807.
- VILLA-GODOY A, IRELAND JJ, WORTMAN JA, AMES NK, HUGHES TL, FOGWEL RL. 1985. Effect of ovarian follicles on luteal regression in heifers. *J Anim Sci*, 60:519-527.

- WALTON, J. S., G. W. HALBERT, N. A. ROBINSON, AND K. E. LESLIE. 1990. Effects of progesterone and human chorionic gonadotrophin administration five days postinsemination on plasma and milk progesterone and pregnancy rates of normal and repeat breeder dairy cows. *Can. J. Vet. Res.* 54:305–308.
- WATHES D.C., TAYLOR V.J., CHENG Z., AND MANN G.E. Follicle growth, corpus luteum function and their effect on embryo development in post-partum dairy cows. *Reproduction Suppl.*, 61 :219-237, 2003.
- WEHRMAN M, FIKE KE, MELVIN EJ, KOJIMA FN, KINDER JE. 1997. Development of a persistent ovarian follicle and associated elevated concentrations of 17 beta estradiol preceding ovulation does not alter the pregnancy rate after embryo transfer in cattle. *Theriogenology*, 47:1413-1421.
- WEILBOLD 1988. Embryonic mortality and the uterine environment in first-service lactating dairy cows. *J. Reprod. Fertil.* 84:393.
- WILLARD, S., S. GANDY, S. BOWERS, K. GRAVES, A. ELIAS, AND C. WHISNANT (2003). "The effects of GnRH administration post insemination on serum concentrations of progesterone and pregnancy rates in dairy cattle exposed to mild summer heat stress." *Theriogenology* 59: 1799-1810.
- WILMUT I., SALES D.I., ASHWORTH C.J. 1986. Maternal and embryonic factors associated with prenatal loss in mammals. *Journal of Reproduction and Fertility.* 76:851-864.
- WILTBANK JN, HAWK HW, KIDDER HE, BLACK WG, ULBERG LC, CASIDA LE. 1956. Effect of progesterone therapy on embryo survival in cows of lowered fertility. *J Dairy Sci*, 39:456-461.
- WILTBANK, J. N., J. A. ROTH LISBERGER, AND D. R. ZIMMERMAN. 1961. Effect of human chorionic gonadotropin on maintenance of the corpus luteum and embryonic survival in the cow. *J. Anim. Sci.* 20:827-829.
- WOLFENSON D., ROTH Z., MEIDAN R. 2000. Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. *Animal Reproduction Science.* 60-61:535-547.
- YILDIZ H, KAYGUSUZOĞLU E., KAYA M., AND ÇENESIZ, M. Effect of post-mating GnRH treatment on serum progesterone, luteinizing hormone levels, duration of estrous cycle and pregnancy rates in cows pakistan vet. J., 2009, 29(3): 110-114.

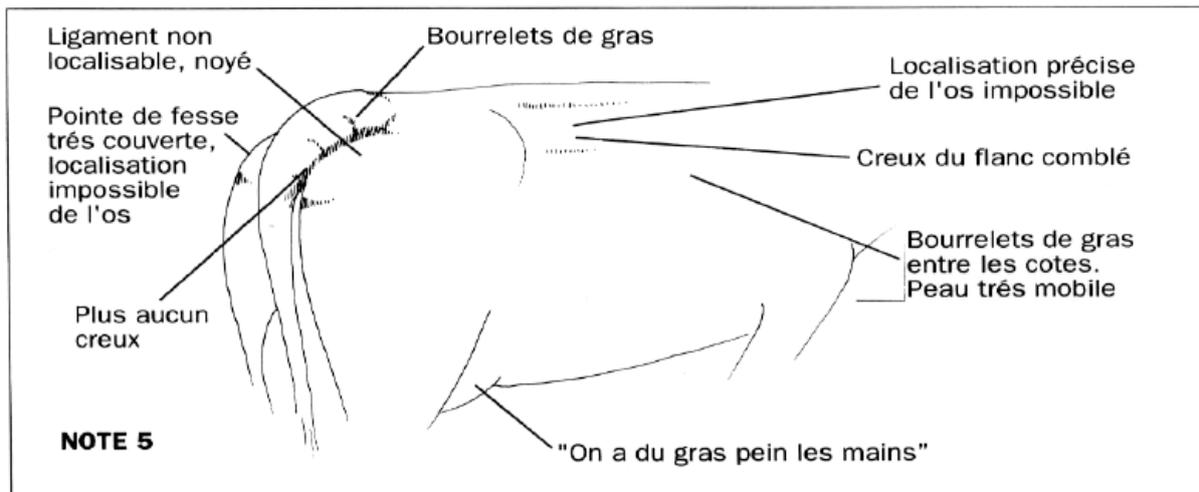
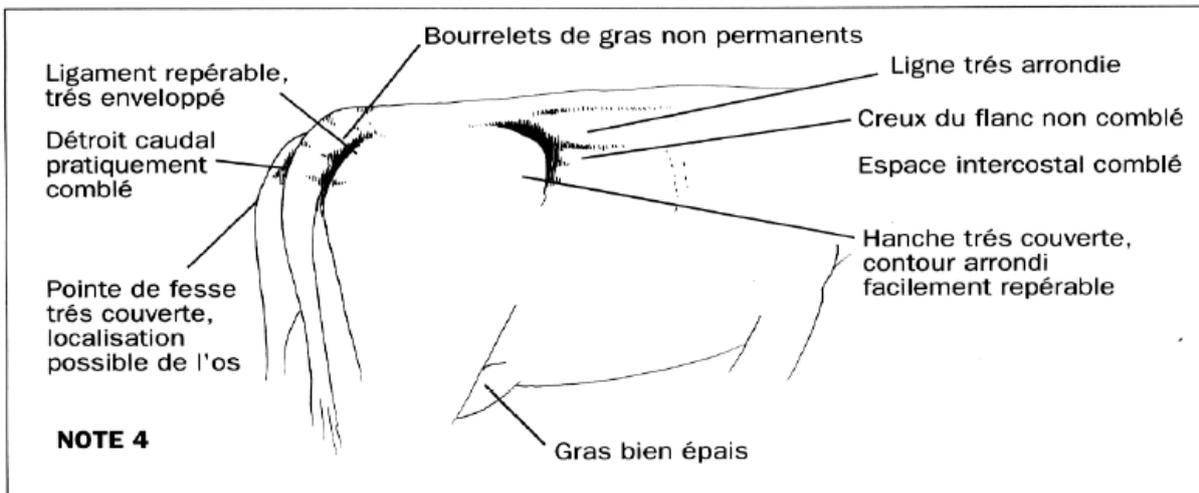
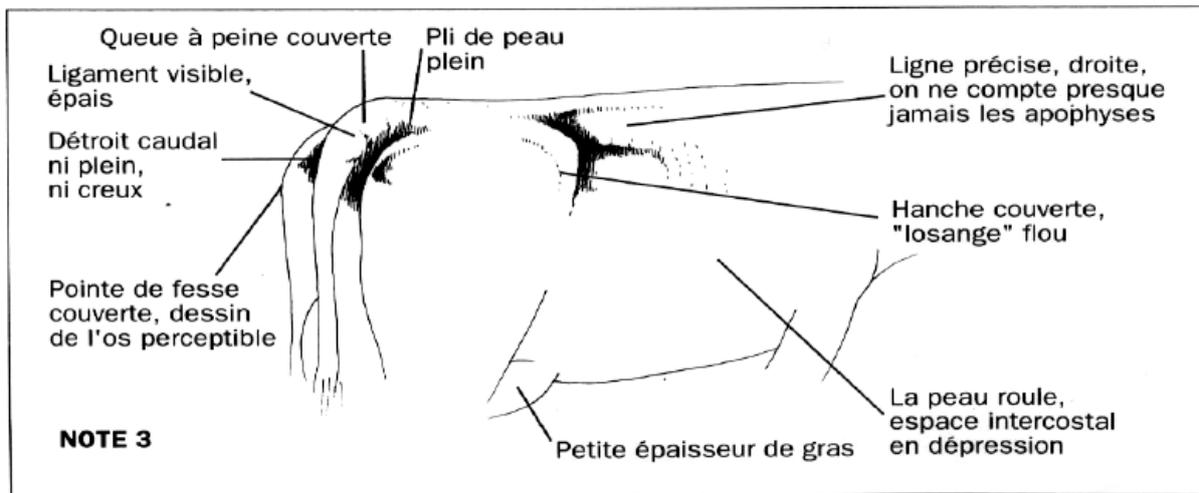
Annexes

Annexe 01

Grille de notation de l'état d'engraissement des vaches Montbéliardes (Bazin ; 1989)

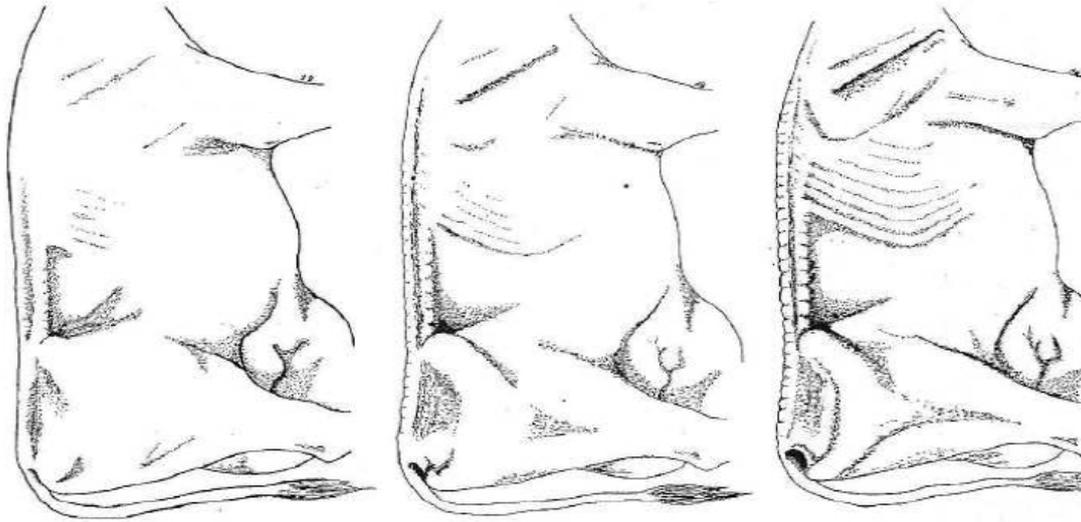


Suite annex 01



Annex 02

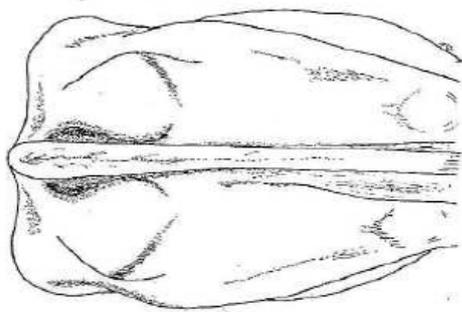
Notation de l'état corporel en race Prim'Holstein (schéma) (INSTITUT DE L'ELEVAGE 2005)



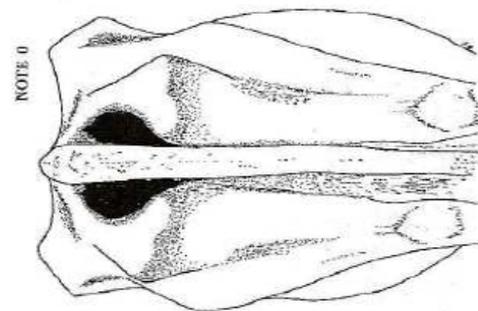
NOTE 1

NOTE 1

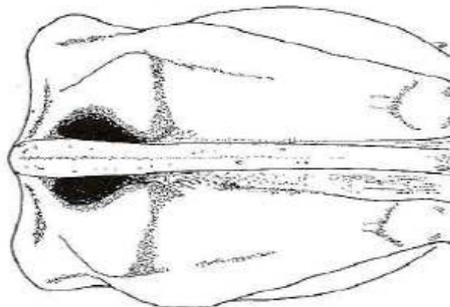
NOTE 0



NOTE 2



NOTE 0



NOTE 1

Annex 03

Notation de l'état corporel en race Prim'Holstein (tableau)
(INSTITUT DE L'ELEVAGE 2005)

Note	5	4	3	2	1	0
Critère de note Arrière						
Base de la queue	queue noyée dans un rond de tissu gras	absence de rond, masses grasses débordant largement la pointe des fesses	queue bien dégagée, pointe des fesses couverte mais non noyée	pointe des fesses sans couverture	ensemble de la tubérosité ischiatique perceptible	le bassin est parfaitement visible
Pointe des fesses						
Ligament sacro-tubéral	invisible noyé	à peine visible	bien visible couvert, d'aspect épais et arrondi	bien isolé, légèrement couvert	aspect en lame, sec	très sec
Déroit caudal						
Déroit caudal	totalemement comblé	pratiquement comblé	n'est plus comblé, limites planes	profond	très profond	très creusé
Épine dorsale	dos plat ou arrondi	à peine visible, noyée dans le tissu environnant	nettement visible, couverte, régulière différence de niveau légère	ligne des apophyses épineuses marquée, peu couverte	ligne irrégulière, différence de niveau importante, corps vertébral non apparent	corps vertébral apparent
Note	5	4	3	2	1	0
Critère de note Flanc						
Pointe de la hanche	localisation précise de l'os impossible	ilium apparent angle ouvert	ilium fait saillie, reste couvert	la crête n'est pas apparente, angle bien vif	la crête devient visible	la crête est très visible
Apophyses transverses et épineuses	aucune structure repérable, rein plat, creux du flanc	colonne vertébrale repérable, rein plat	épine dorsale bien dessinée, rein non plat, bordure des	ligne des apophyses transverses fait un angle vif	on peut compter facilement	ligne du dos très irrégulière, apophyse

Annexe 05

DILUTION-FACTOR	1.000	LOWER THR.	0.00	UPPER THR.	0.00 ng/ml	BOUND
ID #	cpm	cpm	%C.V.	AVG-cpm	DELETED	%B/B0
1	35947.4	36731.4	1.53	36339.4		TC
3	20198.9	20130.9	0.24	20164.9		B0
5	17696.7	17619.4	0.31	17658.1		%B0/TC 55.5
7	13972.4	14106.9	0.68	14039.7		87.57
9	8552.8	8324.4	1.91	8438.6		69.62
11	4181.4	4171.8	0.16	4176.6		41.85
13	1907.1	1702.4	8.02	1804.8		20.71
						8.95

AUTOMATIC SMOOTHED CUBIC SPLINE

SMOOTHING FACTOR 0.125

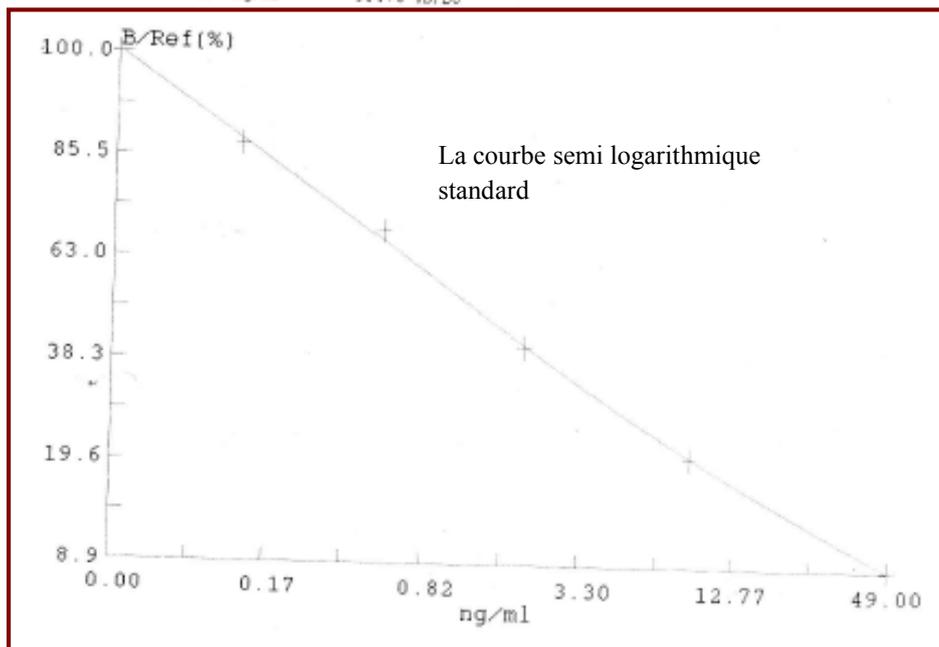
STANDARD-CONCENTR.	RECALC. CONCENTR.	PERCENT DEVIATION
0.00	0.00	
0.12	0.13	9.10
0.55	0.49	-10.97
2.00	2.06	2.82
8.70	8.83	1.51
49.00	48.36	-1.31

Progesterone à dose connue (étalons)

GOODNESS OF FIT 0.0847

ESTIMATED DOSES

20 %B/B0 =^	9.47 ng/ml
50 %B/B0 =^	1.35 ng/ml
80 %B/B0 =^	0.25 ng/ml
MIN. CONC.	0.00 ng/ml =^ 100.00 %B/B0
MAX. CONC.	196.00 ng/ml =^ 4.38 %B/B0
DET. LIMIT	0.09 ng/ml =^ 90.76 %B/B0



IMMUNOTECH
A BECKMAN COULTER COMPANY

Notice d'utilisation

FRENCH

IVD

RIA PROGESTERONE

REF

IM1188

ISO 9001
13485
certified

TROUSSE RADIOIMMUNOLOGIQUE POUR LE DOSAGE IN VITRO
DE LA PROGESTERONE DANS LE SERUM OU LE PLASMA HUMAIN

1. PRINCIPE DU DOSAGE

Le dosage radioimmunologique de la progestérone est un dosage par compétition. Les échantillons à doser ou les calibrateurs sont incubés dans des tubes recouverts d'anticorps avec un traceur progestérone marquée à l'iode 125. Après incubation, le contenu du tube est vidé par aspiration, puis la radioactivité liée est mesurée. Une courbe d'étalonnage est établie. Les valeurs inconnues sont déterminées par interpolation à l'aide de cette courbe.

2. REACTIFS FOURNIS

Tous les réactifs de la trousses conservés à 2-8°C sont stables jusqu'à la date de péremption mentionnée sur la trousses.

2.1 Tubes revêtus d'anticorps anti-progestérone : 2 x 50 tubes (prêts à l'emploi)

2.2 Traceur progestérone marquée à l'iode 125 : 1 flacon de 55 mL (prêt à l'emploi)
Le flacon de 55 mL contient 185 kBq (en début de lot) de progestérone marquée, sous forme liquide en tampon avec des protéines et de l'azide de sodium (<0,1% ; voir § Précautions).

2.3 Calibrateurs : 6 flacons de 0,5 mL (prêts à l'emploi)
Les flacons de calibrateurs liquides contiennent des concentrations de progestérone permettant d'établir une gamme d'étalonnage de 0 à 50 ng/mL. Les calibrateurs sont fabriqués dans du sérum humain, en présence d'azide de sodium (<0,1% ; voir § Précautions). La concentration exacte est indiquée sur chaque flacon. Les calibrateurs ont été calibrés par rapport à la solution de référence BCR 347.

2.4 Sérum de contrôle : 1 flacon de 0,5 mL (prêt à l'emploi)
Le sérum de contrôle contient de la progestérone dans du sérum humain et de l'azide de sodium (<0,1% voir § Précautions). La fourchette de concentrations attendues en progestérone est indiquée sur l'étiquette du flacon.

Remarque: Les températures et dates d'expiration imprimées sur les étiquettes des flacons, concernent uniquement le stockage à long terme des réactifs par le fabricant, avant l'assemblage de la trousses. Ne pas en tenir compte.

3. MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

En plus de l'équipement de laboratoire usuel, il est nécessaire d'utiliser le matériel suivant :

- micropipette de précision (50 µL).
- pipette semi-automatique (500 µL).
- mélangeur de type vortex.
- agitateur à mouvement de va et vient horizontal ou à plateau oscillant.
- système d'aspiration.
- compteur gamma calibré pour l'iode 125.

4. PRECAUTIONS

4.1 Précautions générales

- Equilibrer les réactifs à la température de laboratoire avant utilisation.
- Ne pas mélanger des réactifs de lots différents.
- Effectuer simultanément la courbe standard et le dosage des échantillons.
- Le bon réglage de l'agitateur est une condition importante pour la reproductibilité du dosage.
- Il est recommandé de réaliser les dosages en double.
- Chaque tube ne doit être utilisé qu'une seule fois.

4.2 Protection contre les rayonnements ionisants

L'achat, la possession, l'utilisation et l'échange de matières radioactives sont soumis aux réglementations en vigueur dans le pays de l'utilisateur. L'application des règles de base de protection contre les rayonnements ionisants assure une protection adéquate. Certaines d'entre elles sont rappelées ci-après :

- Ne pas manger, ni boire, ni fumer, ni appliquer de cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés.
- Ne pas pipeter des solutions radioactives avec la bouche.
- Eviter le contact direct avec tout produit radioactif en utilisant des blouses et des gants de protection.
- Toute manipulation de matières radioactives se fera dans un local approprié.
- Les produits radioactifs seront stockés dans leur conditionnement d'origine dans un local approprié.
- Un cahier de réception et de stockage de produits radioactifs sera tenu à jour.

5. PRELEVEMENT, PREPARATION, CONSERVATION ET DILUTION DES ECHANTILLONS

- Recueillir le sang dans des tubes secs sans additif, des tubes héparinés ou contenant de l'EDTA.
- Séparer le sérum ou le plasma par centrifugation.
- Les échantillons sériques ou plasmatiques peuvent être conservés à 2-8°C si le dosage est réalisé dans les 24 heures. Sinon, il est préférable de les conserver congelés (<-18°C) et de préférence aliquotés, afin d'éviter les congélations et décongélations successives.
- Si l'échantillon analysé a une concentration supérieure au calibrateur le plus élevé de la gamme, le diluer dans un échantillon bas en progestérone (sérum d'homme de concentration <0,1 ng/mL).

6. MODE OPERATOIRE (voir tableau page suivante).

7. RÉSULTATS

Les résultats sont déduits de la courbe standard par interpolation. La courbe sert à déterminer les taux de progestérone de tous les échantillons mesurés en même temps que les calibrateurs.

7.1 Courbe standard

Les résultats présentés dans cette notice ont été calculés en employant un mode de tracé semi-logarithmique pour la gamme standard (mode "spline") avec en ordonnée le rapport B/T (%) ou B/B0 (%) et en abscisse les concentrations en progestérone des calibrateurs (ng/mL). L'utilisation d'un autre mode de calcul peut conduire à des résultats légèrement différents.

Activité totale : 47452 cpm				
Calibrateurs	Progestérone (ng/mL)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B0 (%)
0	0	24570	51,8	100
1	0,12	21234	44,7	86,4
2	0,55	17733	37,4	72,2
3	2,0	10221	21,5	41,6
4	8,7	4802	10,1	19,5
5	49	1529	3,22	6,22

(Exemple de courbe standard, ne pas utiliser pour les calculs.)

7.2 Echantillons

Pour chaque échantillon, repérer le rapport B/T (%) ou B/B0 (%) sur l'axe vertical, puis le point correspondant de la courbe standard et en déduire par lecture sur l'axe horizontal la concentration en progestérone de l'échantillon. Pour convertir des concentrations de ng/mL en nmo/L, multipliez les résultats par 3,18.

IM1188 2011-03-24_CE

3/30

Suite annexe 06

8. CONTROLE DE QUALITE

Les bonnes pratiques de laboratoire impliquent que des échantillons de contrôle soient utilisés dans chaque série de dosage pour s'assurer de la qualité des résultats obtenus. Ces échantillons devront être traités de la même façon que les prélèvements à doser et il est recommandé d'en analyser les résultats à l'aide de méthodes statistiques appropriées.

En cas de détérioration de l'emballage ou si les résultats obtenus montrent une perte de performance du produit, veuillez contacter :
Beckman Coulter France Tel 01 49 90 90 00 ou notre service Support Technique :
Tel: 04 91 17 27 27, Fax : 04 91 17 27 25, e-mail, immuno-techsup@beckmancoulter.com

9. VALEURS ATTENDUES

Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs normales. Les valeurs suivantes déterminées chez des sujets sains sont données à titre indicatif.

Progesterone	ng/mL	nmol/L
Hommes (20 à 70 ans)	0,13 - 1,26	0,4 - 4,0
Femmes en période d'activité génitale		
phase folliculaire	0,06 - 1,26	0,2 - 4,0
phase ovulatoire	0,08 - 1,2	0,25 - 3,8
phase luteale	2,5 - 25	8 - 78
Femmes ménopausées	0,06 - 1,6	0,2 - 5

10. CARACTERISTIQUES DU DOSAGE

(voir la feuille "APPENDIX" pour plus de détails)

10.1 Sensibilité analytique: 0,05 ng/mL (0,16 nmol/L)

10.2 Spécificité
L'anticorps utilisé dans ce dosage est hautement spécifique de la progesterone.

10.3 Précision

10.3.1 Intra-essai

Des échantillons ont été dosés 20 fois dans une même série. Les coefficients de variation obtenus étaient inférieurs ou égales à 6,5 % pour les sérums.

10.3.2 Inter-essais

Des échantillons ont été dosés en doublet dans 40 séries différentes. Les coefficients de variation obtenus étaient inférieurs ou égales à 7,2 % pour les sérums.

10.4 Exactitude

10.4.1 Epreuve de dilutions

Des échantillons de concentration élevée ont été dilués dans un échantillon de en progesterone (sérum d'homme de concentration <0,1 ng/ml). Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 102 % et 113 %.

10.4.2 Epreuve de surcharge

Des quantités connues de progesterone ont été ajoutées à des sérums humains. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 76 % et 114 %.

10.5 Plage de mesure (de la sensibilité analytique au calibrateur le plus élevé) : 0,05 - 50 ng/mL.

11. LIMITATIONS DE LA METHODE

Le non-respect des recommandations indiquées dans cette notice peut avoir un impact significatif sur les résultats. Les résultats doivent être interprétés à la lumière du dossier clinique complet du patient, incluant l'historique clinique et les données de tests additionnels et toute autre information appropriée.

Ne pas utiliser de spécimens lipidiques

Pour les tests employant des anticorps, il existe la possibilité d'une interférence par des anticorps hétérophiles présents dans l'échantillon du patient. Les patients qui ont été régulièrement exposés à des animaux ou qui ont reçu une immunothérapie ou qui ont subi des procédures diagnostiques utilisant des immunoglobulines ou des fragments d'immunoglobulines peuvent produire des anticorps, par exemple des anticorps HAMA (anticorps humains anti-souris), qui interfèrent avec les tests immunologiques.

Ces anticorps qui interfèrent peuvent être la cause de résultats erronés. Evaluer avec précaution les résultats de patients suspects de posséder ces anticorps.

6. MODE OPERATOIRE

Etape 1 Répartition	Etape 2 Incubation	Etape 3 Comptage
<p>Dans les tubes recouverts d'anticorps, distribuer successivement:</p> <ul style="list-style-type: none"> - 50 µL de calibrateur ou d'échantillon et - 500 µL de traceur* <p>Agiter</p>	<p>Incuber 1 heure à 18-25°C avec agitation (350 rpm)</p>	<p>Aspirer soigneusement le contenu de chaque tube (sauf les 2 tubes «cpm totaux»)</p> <p>Compter les cpm liés (B) et cpm totaux (T) pendant 1 min.</p>

* Ajouter 500 µL de traceur dans 2 tubes supplémentaires pour obtenir les cpm totaux.