## REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

# UNIVERSITE IBN KHALDOUN DE TIARET ISTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES DEPARTEMENT DE SANTE ANIMALE

PROJET DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE

#### SOUS LE THEME

## DETECTION DES CHALEURS ET L'INSEMINATION ARTIFICIELLE CHEZ LA VACHE

PRESNTE PAR:
AMRANI ABD ELHAMID
BOUMEDIEN IBTISSEM

ENCADRE PAR:
DR. SI AMEUR ABD ELHADI



#### Remerciements

Nous remercions DIEU tout puissant, maitre des cieux et de terre, qui nous a permis de mener à bien ce travail.

Tout d'abord on tient surtout à adresser nos plus vifs remerciements au Mr Si Amour Abed Elhadi qui nous permis de réaliser ce travail sous sa direction. Nous ne aurons jamais oublier sa disponibilité, son assistance et ses conseils judicieux pour nous.

Nous remercions vivement notre membre de jury qui nous a fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail.

Au personnel de l'université de Tiaret Ibn Khaldoun, qu'il trouve ici la marque de notre plus haut respect.

Ainsi qu'à tous qui ont contribué de pré ou loin à la réalisation de ce mémoire.

#### **DEDICACE**

# Louange à Allah, maître de l'univers. Paix et Salut sur notre Prophète Mohamed

A mes chers parents Fatma et Amar qui ont consenti d'énormes sacrifices pour me voir réussir, pour l'enseignement de la vie et pour l'éducation qu'ils m'ont donnée et tous les conseils et encouragements qu'ils n'ont cessé de me prodiguer durant mes études.

Je leur dois reconnaissance et gratitude.

A mes chers frères: Youcef, Azzedine, Elhachemi, Hocine, Yaakoube, et le petit poussin Ishak.

A mes chers ma sœur: Zineb.

A mes chers grands parents: Ahmed et Om Elkheir.

A mes chers mes tontons, et leurs Famille.

A toute ma grande famille.

A mes chers amis: Med Cherfi et Omar.

A mes amis de mon cartier: Abd Esalem, Brahim, Mohamed, et Djamel.

A mes amies: Khadija, Sara, Aicha, et Zakia.

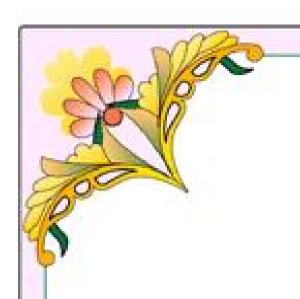
A mes amis chéléfiens en particulier : Khemisti et Kader.

A mes amis de groupe 1.

A tous mes amis en particulier: Sofiane, Hassen, Talha, Amine, Nasro, Krimo, 3aine, Mehdi, Hamza, Sereir, Berrezoug, Abd Elah, Yakhlef, Adenane, Hakim et Moussa.

A mes chers ma binôme: Ibtissem.

## Amrani Abd Elhamid







Je dédié ce modeste travail

A ma chère mère Aicha

A mon chère père Ahmed

Qui est le meilleur père dans ce monde, grâce à son encouragement, sa confiance et son soutien moral et matériel et pour son amour infini en exprimant mes gratitudes, mon profond amour et ma passion

A mes chères sœurs Asmaa, Karima et Soumia.

A mes chères frères Mohamed El Amine et Slimane

En leurs espérant le plein succès dans leur vie.

A ma tante Zohra

En témoignage de ma profonde gratitude et de mon reconnaissance, pour tous les sacrifices qu'elle me contente, toute la confiance qu'elles m'accordent et tout l'amour dont elle m'entoure.

A ma grande mère et toute la famille.

A mes amies Fatima, Ghozeyel, Hafida, Halima, Khadija, Khadra et Naima.

A mon chère ami Abed Elrazak et tous ceux qui me chers.

A mon binôme Abed Elhamid « Rougi ».



## **Sommaire**

	Page
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction générale	
Objectif de l'étude	11
Chanitus I - Dannal anatama nhysialogique suu l'annavail génital mâle et	fomalla 12
Chapitre I : Rappel anatomo-physiologique sur l'appareil génital mâle et	
II-Les caractéristiques de reproduction des bovins	
1- Les caractéristiques de reproduction du male	
1.1-L'appareil génital du taureau	
1.1.1-Les testicules	
1.1.2-L'épididyme	
1.1.3-Le canal déférent.	
1.1.4-Les glandes annexes	
1.1.5-Le canal uro-génital	
1-2-Le comportement sexuel chez le male	
1.2.1-La libido	
1.2.2-Le saut	
1.2.3-L'intromission de pénis	
1.2.4-L'éjaculation	
1-3-La sélection des mâles	
1.3.1-La sélection sur les descendances	16
1.3.2-Principe	16
1.3.3-Définition de testage	
1.3.4-Avantage	16
1.3.5-Inconvénients	16
1.3.6-Les schémas de sélection	16
1.4-Le cycle spermato génétique	17
1.4.1-Phase de multiplication des spermatogonies	17
1.4.2-Phase de réduction et de maturation	17
1.4.3-La spermiogénèse	
2-Caractéristiques de reproduction de la femelle	18
2.1-L'appareil génital de la vache	
2.1.1-La vulve	20
2.1.2-Le vagin	
2.1.3-L'utérus	
2.1.4-La trompe utérine	
2.1.5-Les ovaires	
2.2-Le comportement sexuel chez la vache	
2.3-Les cycles sexuels chez la vache	
2.3.1-Etude analytique de l'ovogenèse	
2.3.2-La folliculogénèse	
2.4-La dynamique folliculaire	24

2.4.1-cinétique de développement de follicule ovulatoire	25
2.4.2-Régulation des processus de recrutement, sélection et dominance	
2.4.3-l'atrésie folliculaire	
2.4.4-L'ovulation	26
2.4.5-Le corps jaune	27
2.5-Le cycle æstral chez la vache	27
2.6-Le contrôle neuro-endocrinienne	28
2.6.1-Le système hypothalamus hypophysaire	28
2.6.2-Axe hypophyso-gonadique	28
Chapitre II:L'impact de détection des chaleurs sur les performances de la repr	
[-Introduction	
II-Les différents signes observés lors de l'æstrus	
1-Les modifications comportementales	
1.1-L'acceptation du chevauchement	
1.2-Les signes secondaires	
1.3-L'agitation	
2-Les autres signes	
III-Place de l'œstrus au sein du cycle œstral	
1-Durée de l'œstrus	
2-Le déterminisme hormonal de l'œstrus	
2.1-L'œstradiol 17 β	
2.2- Le cortisol	
3-Durée entre les différentes manifestations comportementales et l'ovulation	
3.1-Durée entre les acceptations de chevauchement et l'ovulation	
3.2-Durée entre les autres signes présents lors de l'œstrus et l'ovulation	
V-Facteurs influençant la manifestation de l'æstrus	
1-Les facteurs intrinsèques.	
2-Les facteurs extrinsèques	
V-La détection de l'œstrus chez la vache laitière	
1-L'observation du troupeau	
1.1-L'observation de l'acceptation du chevauchement	
1.2-L'observation des signes secondaires	
2-Les outils spécifiques d'aide à la détection des chaleurs	
2.1-Le planning d'élevage	
2.2-Les détecteurs de chevauchement	
2.2.1-Les crayons marqueurs	
2.2.2-Les détecteurs mécaniques de chevauchement	
2.2.3-Les détecteurs électroniques de chevauchement	
2.3-Les systèmes d'enregistrement de l'activité physique	
2.4-Les animaux détecteurs	
2.5-La mesure de la résistance électrique vaginale	
2.6-Les autres outils	
3-Simplifier la détection par la synchronisation des chaleurs	70
3.1-Synchronisation des chaleurs par des prostaglandines	
3.2-Synchronisation des chaleurs par les progestagènes	71
6	

Liste des références	94
IV-CONCLUSION	92
à la femelle	
2.2-Les facteurs de variations environnementaux de la réussite de l'insémination lié	
	91
2.1-Les Facteurs variation environnementaux de la réussite de l'insémination liée	
2-Facteurs de variations de la réussite de l'insémination artificielle	91
1.4-La méthode d'insémination	
1.3-Les instruments	
1.2-Le lieu de dépôt de la semence	
1.1-Le moment de L'IA	
1-La technique de L'IA	
III- L'insémination artificielle proprement dite	
6-Le conditionnement	
5.2-La conservation du sperme congelé	
5.1-La conservation de la semence fraîche	
5-La conservation de la semence	
4.2-Les milieux de dilution	
4.1-Intérêt de la dilution	
4-La dilution du sperme	
3.4-La pathologie du sperme	
3.3-L'examen biochimique	
3.2-L'examen microscopique	
3.1-L'examen macroscopique	
3-L'examen du sperme	
2.2-L'électro-éjaculation	
2.1-La récolte au vagin artificiel	
2-La récolte du sperme	
1-Entrainement des mâles	
II-La semence	
4-Législations et règlementations	
3-Historique	
2-Les avantages et les inconvénients	
1-Introduction	
I-Généralités sur l'insémination artificielle	
Chapitre III: L'insémination artificielle	
4.3-Les méthodes de dosage	
4.2-Facteurs influençant la concentration de progestérone dans le lait	
4.1-Choix du type de prélèvement	
4-Le dosage de la progestérone	
ou protocole GPG	72
3.3-Synchronisation des chaleurs par le protocole GnRH-PGF <sub>2</sub> α-GnRH	

## Liste des figures

	Page
Figure 1 : la spermatogenèse chez le taureau	18
Figure 2 : l'appareil génital chez la vache	19
Figure 3 : déférents stades du folliculogénèse	23
Figure 4: la dynamique folliculaire	
Figure 5 : La retro action dans le contrôle de la testostéronémie	29
Figure 6 : Vache acceptant le chevauchement	
Figure 7 : Score comportemental d'œstrus et concentration plasmatique en œstradiol 17β présentés comme un pourcentage du maximum atteint pour chaque an cours de la phase œstrale, en fonction du temps. Pour chaque animal, l'he	imal au ure 0
correspond à la période de surveillance au cours de laquelle a été observé comportemental maximal	
Figure8: Score comportemental d'œstrus présenté comme un pourcentage du maxim atteint pour chaque animal au cours de la phase œstrale et concentration ple en cortisol, en fonction du temps. Pour chaque animal, l'heure 0 correspon période de surveillance au cours de laquelle a été observé le score compor maximal	asmatique d à la temental
Figure 9 : Profils de NEC identifiés en période post-partum	
Figure 10: Schéma de la zone de test avec les vaches « attachées » (A et B) et la vac	
(TC)	50
Figure 11 : Capsule Kamar ®	61
<b>Figure 12 :</b> Capsule Kamar <sup>®</sup> fixée sur la croupe, avant et après chevauchement	61
Figure 13 : Sonde Ovatec <sup>®</sup>	
Figure 14 : Principe général d'un test rapide permettant d'évaluer la concentration e	
progestérone d'un échantillon de lait par la méthode immuno-enzymatique	
Figure 15 : les déférents types de dilueurs	
Figure 16 : congélateur de stockage de semence	
Figure 17 : le moment idéal par apport des phases des chaleurs de la vache	
Figure 18 : lieu de dépôt de la semence	90

### Liste des tableaux

Pag	ţe.
Tableau 1: Survenues moyennes des signes secondaires initiés par les 11 vaches vues œstrus	
Tableau 2: Survenues moyennes des signes sexuels reçus par les 11 vaches vuesen œstr	
<b>Tableau 3 :</b> Influence du nombre de lactation sur le nombre d'acceptations de chevaucheme par heure lors de la première observation d'œstrus	en
<b>Tableau 4 :</b> Influence de la perte d'état corporel entre 0 et 30 jours post-partum et de la NI lors des premières chaleurs sur l'intervalle vêlage-premières chaleurs	
Tableau 5 : Moyennes des activités œstrales sur aire paillée et aire bétonnée	19
<b>Tableau 6 :</b> Manifestation des chevauchements et acceptations de chevauchement sur a paillée et aire bétonnée	
<b>Tableau 7 :</b> Influence de la nature du sol et du statut œstral des vaches « attachées » sur temps passé sur chaque surface et le nombre de chevauchements lors d'u observation de 30 minutes	ıne
<b>Tableau 8 :</b> Influence de la nature du sol et du statut œstral des vaches attachées sur manifestation des signes comportementaux autres que les chevauchements 5	
<b>Tableau 9 :</b> Influence du nombre de vaches en œstrus simultanément sur la manifestation o signes comportementaux	des
Tableau 10 : Distribution des périodes d'æstrus caractérisées par leur intensité et leur dur grâce au système HeatWatch	rée
Tableau 11 : Récapitulatif des pourcentages de détection d'œstrus en fonction du temps par à l'observation du troupeau	ssé
Tableau 12 : Grille de pointage des signes secondaires	57
Tableau 13: Principe général d'un outil de détection de l'æstrus chez la vache laitière	
Tableau 14: Détection des chaleurs et faux positifs en fonction des seuils et durées d'activi	té
utilisés dans le calcul du ratio	<b>5</b> 5

### Liste des abréviations

**DAC :** Distributeur Automatique de Concentrés

**ECG:** Equine Chorionic Gonadotrophin

**ELISA:** Enzyme-Linked Immunosorbent Assays

**FSH:** Follicle Stimulating Hormone

**GnRH:** Gonadotropin Releasing Hormone

IA: Insémination Artificielle

**IAC:** Increased Activity Count

**IAR:** Increased Activity Ratio

**INRA:** Institut National de la Recherche Agronomique

**LH:** Luteinizing Hormone

**NEC:** Note d'Etat Corporel

P<sub>4</sub>: Progéstérone

**PGF2α:** Prostaglandine F2 alpha

**RFID:** Radio Fréquence Identification

#### **Introduction**

Le cycle œstral chez les bovins se divise en quatre parties, dont trois pendant la période reliée à la chaleur : la pré-chaleur, la chaleur et l'après-chaleur. Chacune de ces parties à ses propres signes qu'il importe de bien reconnaître. La fréquence des observations et la prise de notes ont démontré leur efficacité et il n'existe pas de solutions miracles pour faire la détection de chaleur même si quelques outils ont été développés.

La détection des chaleurs est une des composants majeurs de la rentabilité des élevages laitiers. Les œstrus non détectés ou détectés à tort sont en effet responsables d'insémination manque ou réalisée au mauyais moment (LEHRER et al. 1992).

Les pertes financières qui en résultent ont quatre origines principales :

- -Une augmentation de l'intervalle vêlage vêlage avec pour conséquence une diminution de la production de lait et de veaux.
- -Une augmentation de nombre d'insémination artificielle par animal.
- -Un taux de renouvellement excessif.
- -Un progrès génétique ralenti.

La détection de l'æstrus dans les levages passe la plupart du temps par l'observation des acceptations des chevauchements. Or depuis une trentaine d'années, l'évolution des méthodes d'élevages à en un impact négative sur la détection de ce type de comportements. D'une part, les éleveurs ont de moins de temps disponibles pour observer leurs animaux (augmentation du nombre d'animaux et d'activité au sein des élevages).

Le moment de l'insémination est très important, mais il ne se limite pas à quelques instants. Si la détection des chaleurs est efficace, le moment propice à l'insémination est beaucoup plus facile à déterminer.

Finalement, un troupeau en bonne santé, bien alimenté, une technique d'insémination appliquée adéquatement avec de la semence de qualité et un gérant de troupeau connaissant et notant bien les signes de chaleur tout en prenant ses décisions avec confiance obtiendra des résultats tout à fait satisfaisants.

#### Objectif de l'étude : Cette étude vise trois objectifs :

- Faire une étude bibliographique aussi large que possible sur l'activité sexuelle chez la vache.
  - Faire une étude de déférents signes d'æstrus et la détection des chaleurs chez la vache.
  - Faire une étude sur l'insémination artificielle chez la vache.

## **Chapitre I**

Rappel anatomo-physiologique sur l'appareil génital mâle et femelle.

#### **I-Introduction:**

Quel que soit l'espèce, sa connaissance est indispensable pour pouvoir réaliser certains interventions dans de parfaites conditions (insémination artificielle, transplantation embryonnaire...) Mais aussi la mise bas et les traitements qui peuvent en découler (métrites...). (DUDOUET, 2004).

L'appareil de la reproduction comprend d'une part les organes génitaux externes et internes et d'autre part les glandes mammaires. Chez toutes les espèces de mammifères, l'examen clinique des organes génitaux externes et des mamelles est effectué grâce aux impressions visuelles et tactiles de l'opérateur; Au contraire les territoires internes de l'appareil génital sont en général accessibles qu'aux divers manœuvres de la palpation indirecte. (KELLY, 1967).

#### II-Les caracteristiques de reproduction des bovins :

#### 1-Les caractéristiques de reproduction du male :

#### 1.1-l'appareil génital du taureau :

#### 1.1.1-Les testicules :

Les testicules sont des organes ovoïdes, suspendus aux cordons spermatiques, de 10à 12 centimètres de haut, sur 6à 8 centimètres de larges et d'un poids d'environ 250à 350g chez le taureau adulte, le bord postérieur de chaque testicule est longé par l'épididyme qui contourne le bord supérieur de sa tête et le bord inférieur de sa queue.

Normalement mobilisables dans les enveloppes, les testicules sont de consistance ferme et souple, sans induration.

Primaires, le tractus génital constitue par les voies excrétrices du sperme l'organe sexuel secondaire et par le canal uro-génital et les glandes annexes les organes sexuels annexes. (PAREZ, 1987).

#### 1.1.2-l'épididyme:

L'inspection et la de l'épididyme (transit, stockage et maturation des spermatozoïdes) sont réalisées sur le testicule, maintenu manuellement (l'épididyme est fixé sur le testicule en son centre et inférieurement par le ligament testis propium). (ROSEBER, 1964).

On y distingue une tête, un corps et une queue. La tête surmonte l'extrémité supérieur de testicule et reçoit les canaux efférents .Le corps, étroits et allonge, suit le bord postérieur de testicule. La queue située inférieurement, forme un appendice arrondi, elle se recourbe en haut et en dedans pour se contenue par le déférent. (CRAPLET, 1952).

#### 1.1.3-Le canal déférent :

C'est un conduit de la grosseur d'une plume, qui s'étend de la queue de l'épididyme jusqu'au col de vessie ; il s'élève dans la cavité abdominale, l'anneau vaginal, se contenue dans la vessie ou il forme un renflement pelvien très allongé et peu volumineux, qui s'accuse insensiblement d'avant en arrière. (CRAPLET, 1952).

#### 1.1.4-Les glandes annexes :

#### 1.1.4.1-Vésicules séminales :

Encore appelées prostates latérales, ce sont deux organes mesurant 12 centimètres sur 3 centimètres, situés au-dessus de la vessie, irrégulières de surface, bosselées et lobulés, d'aspect grisâtre en surface, jaune et de consistance ferme à la coupe. Les vésicules séminales donnent, par sécrétion, un fluide gélatineux. (CRAPLET, 1952).

#### 1.1.4.2-La prostate:

La prostate, peu volumineux, est situé sous le sphincter urétral qu'elle déborde légèrement en avant, au-dessus de la terminaison des canaux éjaculateurs.

#### 1.1.4.3-Les glandes de cowper ou bulbo urétrales :

De grosseur d'une noisette, sont cachées par le bulbo caverneux et débouchent de chaque côté dans le cul –de sac de bulbe de l'urètre, près de valvule semi-lunaire .Elles donnent une sécrétion visqueuse. (CRAPLET, 1952).

#### 1.1.5-Le canal uro-génital :

#### 1.1.5.1-Canal éjaculateur :

Il résulte de la réunion du canal de la vésicule séminale avec le canal déférent du même côté; après un très court trajet (il est presque virtuel) il débouche à l'intérieur du canal du l'urètre par deux orifices elliptiques percés au voisinage d'un petit tubercule : le verumontarum. (CRAPLET, 1952).

#### 1.1.5.2-l'urètre :

Au niveau de courbure ischiaque, l'urètre présente un renflement, le bulbe de l'urètre recouvert par un muscle bulbo caverneux très puissant.

La cavité du canal de l'urètre présent une dilatation initiale un rétrécissement puis une deuxième dilatation situé sous le bulbe. (CRAPLET, 1952).

#### 1.2-Le comportement sexuel chez le male :

Pour améliorer les résultats de la reproduction, l'éleveur devra mettre les meilleurs atouts de son côté. Si l'animal a été acheté ; réaliser une quarantaine pour pratiquer les interventions nécessaires à la détection de toute maladie réputée légalement contagieuse, mais aussi pour réaliser les traitements antiparasitaires, à l'appui si cela est nécessaire d'une analyse coprologique. L'éleveur en profitera pour vérifier toute infection de l'appareil reproducteur. Un examen du sperme est souhaitable .Il est possible de s'assurer de son comportement sexuel. Celui est apprécié en quatre phases, Une fois mis en présence d'une femelle en chaleur, un taureau doit présenter un comportement particulier, stéréotypé :

#### 1.2.1-la libido:

La libido, ou appétit sexuel est le temps que met le taureau pour s'intéresser 'de prés 'à la femelle. Cette phase ne doit pas dépasser 10 mn. On observe alors un début d'érection, des écoulements au niveau du pénis et des tentatives de chevauchement.

#### 1.2.2-Le saut :

Renseigne sur l'intégrité des membres et articulations. Il permet de noter le degré d'érection.

#### 1.2.3-l'intromission de pénis :

Se fait dans l'axe, sans déviation et s'accompagne d'un saut nommé « coup de rein ».

#### 1.2.4-l'éjaculation:

Se produit au moment du coup de rein. Puis le taureau se laisse retomber sur les quatre membres et suit 's a 'femelle pendant quelques heures. (DUDOUET, 1999).

#### 1.3-La sélection des mâles :

Deux types de male entrent généralement dans le centre du l'insémination artificielle. Les males choisis sur une base génétique (sur les performances individuelles ou après testages sur descendance) pour les caractères tels que prolificité, production laitières, caractéristiques bouchères, etc. Quelle que soit leur origine, organisation de sélection ou éleveurs individuelles, des garanties quant à leur valeur génétique doivent être prises. Les jeunes males impliquent dans un schéma de sélection qui doit être testés sur descendance. L'organisation de sélection détermine les règles pour ces jeunes males soient candidats à l'entrée dans le centre d'insémination artificielle.

Les males possèdent des défauts évidents d'aplomb, du tractus génital, ou de symptômes

d'anciennes maladies doivent être éliminé sans hésitation. Si des jeunes males sont à sélectionnes, il est nécessaire de tenir complète des parents afin d'éviter toute transmission de défaut. (BARIL et al, 1993).

#### 1.3.1-La sélection sur les descendances :

#### **1.3.2-Principe** :

On suppose que la production d'un animal est fonction de deux groupes de facteurs :

- Les facteurs internes ou héréditaires.
- Les facteurs externes ou non héréditaires.

Ce mode de sélection repose sur la valeur génétique d'un male. Pour évaluer son patrimoine génétique, en recourt à une technique appelée le testage. (DUDOUET, 1999).

#### 1.3.3-Définition de testage :

C'est le moyen d'estimer le potentiel héréditaire d'un male d'après la valeur de sa descendance (mesure en ferme ou en station).

Pour que les résultats soient fiables, il faut avoir un grand nombre de descendants et ceux-ci doivent être places dans les mêmes conditions de milieu. A l'issue du testage, on calculera des index et des indices.

#### **1.3.4-Avantage** :

C'est la meilleure méthode pour la sélection des males. Elle donne de bons résultats pour les caractères dont le coefficient d'héritabilité est faible.

#### 1.3.5-Inconvénients:

Sa mise en place est complexe et couteuse : de plus, l'intervalle de génération est très long.

#### 1.3.6-Les schémas de sélection :

Les schémas de sélection intègrent les trios méthodes de sélection suivantes :

- La sélection sur l'ascendance(S.A).
- La sélection individuelle(S.I.).
- La sélection sur la descendance (S.D.).

S.A	PERES A TAUREAUX X MERES A TAUREAUX					
	$1^{e}$ sélection $\longrightarrow \longrightarrow \downarrow$					
S.I	Veaux males CONTROLE EN STATION OU FERME					
	$2^{e}$ sélection $\longrightarrow \downarrow$					
S.D	TESTAGE.					
	$3^{e}$ sélection $\longrightarrow \longrightarrow \downarrow$					
Animaux retenus : index, indice.						

#### 1.4-Le cycle spermato génétique :

C'est l'ensemble de divisions et différenciations cellulaires qui, à partir de la spermatogonie souche, aboutissent aux «spermatozoïdes ». L'élaboration des spermatozoïdes se déroule dans les tubes séminifères, de la paroi vers la lumière, c'est— à- dire en direction centripète, suivant des coordonnées spatio-temporelles très précises.

#### 1.4.1-Phase de multiplication des spermatogonies :

Les spermatogonies souche sont situées à la périphérie des séminifères, au voisinage immédiat de la membrane basale. Ce sont des cellules réunies par des ponts cytoplasmique à noyau arrondi ou ovoïde, foncé, à chromatine finement dispersée, dispersée, désignées depuis CLERMONT(1967) sous le siège Ad (dark, type A). Au début du cycle spermato Génétique, des spermatogonies Ad entrent en mitose et se transforment chacune en une nouvelle spermatogonie Ad et en une spermatogonie À p (pale, type). Les spermatogonies A p ou spermatogonies poussiéreuses ont un noyau à chromatine plus claire mais toujours finement dispersée avec deux nucléoles. Les spermatogonies A p évoluent ensuite de façon irréversible; Leur division donne naissance à deux spermatogonies B ou spermatogonies croutelleuses, à noyau ovoïde dont la membrane nucléaire est hérissée sur sa face interne de grosses granulations de chromatine, plus nombreuses chez le rat et le bélier que chez le taureau et le verrat. Les spermatogonies croustilleuses ou différenciées se divisent une, deux ou trois fois selon l'espèce pour donner des spermatocytes de premier ordre ou spermatocytes I.

Les spermatocytes I deviennent de grandes cellules ovalaires auxquelles on donne le nom d'auxocytes lorsqu'elles ont atteint leur taille maximale; Leur noyau arrondi, un nucléole est souvent visible. Spermatogonies s'effectuent par des mitoses normales et les cellules filles possèdent le même équipement chromosomique que les cellules mères.

#### 1.4.2-Phase de réduction et de maturation :

Les auxocytes subissent une division réductionnelle ou hétéro typique, 1<sup>re</sup> mitose de la méiose, qui aboutit à la formation de deux spermatocytes de 2<sup>e</sup> ordre (spermatocyte II) possèdent chacun la moitié du stock chromosomique du spermatocyte I. Les spermatocytes II sont des cellules de petite taille, groupées par paire. Elles forment chacune deux spermatides haploïdes, à la suite d'une division équationnelle qui est la deuxième mitose de la méiose.

#### 1.4.3-La spermiogénèse :

Située près de la lumière des tubes séminifères, les spermatides sont des cellules légèrement allongées. Leur noyau clair possède un volumineux nucléole. Les 4 spermatides nées de la division d'un spermatocyte I ne se divisent plus mais subissent de nombreuses différenciations avant de donner naissance aux spermatozoïdes. Cette transformation constitue la spermatogénèse (Figure 1). (Vaissaire, 1977).

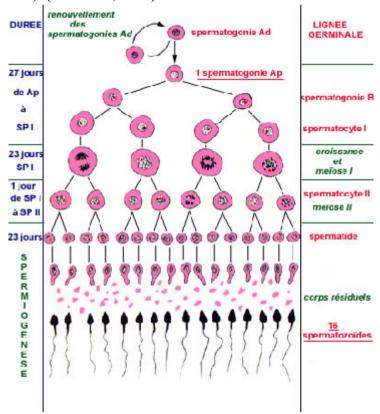


Figure 1: la spermatogenèse chez le taureau.

#### 2-Caractéristiques de reproduction de la femelle :

#### 2.1-l'appareil génital de la vache :

Les organes sexuels primaires de la vache sont les ovaires. Ils produisent les ovules et les hormones sexuelles femelles. Ils sont dans la cavité pelvienne.

Les organes sexuels secondaires comportent des éléments qui conduisent les ovules vers leur lieu de rencontre avec les spermatozoïdes et vers l'appareil qui permettra l'implantation de l'œuf fécondé pour en assurer le développement au cours de la gestation (utérus). Ils s'ouvrent au niveau du sinus uro-génital par la vulve (Figure 2). (PAREZ, 1987).

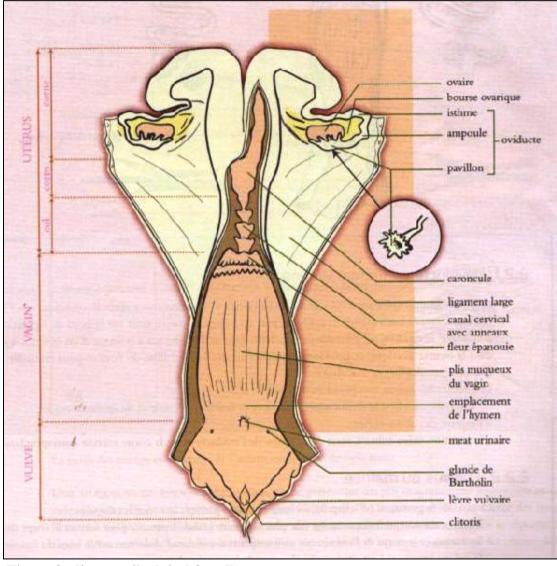


Figure 2 : l'appareil génital femelle.

#### 2.1.1-La vulve :

La partie caudale de sinus, qui s'ouvre à l'extérieur par l'ostium uro-génital, produit la vulve. **(BARONE, 1978).** 

#### 2.1.2- Le vagin :

Pourvu de parois molles et plus minces que celle de l'utérus, le vagin est un conduit cylindroïde mais normalement affaissé et aplati dans le sens dorsiventral, il entrainement distanciable. Sa longueur moyenne est relativement plus grande chez les femelles domestiques, 30cm chez la vache. Situé à peu près dans l'axe du bassin cet organe prolonge le vestibule de vagin (partie profonde de sinus uro-génital) en direction cranio-dorsale. **(BARONE, 1978).** 

#### 2.1.3 l'utérus :

C'est le siège de développement de l'œuf après son implantation. Il intervient dans les mécanismes de la parturition. (PAREZ, 1987).

#### 2.1.3.1-Le col de l'utérus :

Le col de l'utérus ou cervix (cervix utéro) est peu dixèrnable en surface. Il est en générale plus cylindroïde que le corps utérin et la grande épaisseur de sa paroi permet de le reconnaître sans peine à la palpation. Il est beaucoup plus long que le corps utérin chez les ruminants (10 cm environ chez la vache). (BARONE, 1978).

#### 2.1.3.2-le corps de l'utérus :

Il est à peu près aussi long que chaque corne chez les équidés (16 cm chez la vache). **(BARONE, 1978).** Chez la vache non gestante d'un diamètre d'environ 10à 15 cm et une longueur d'environ 5 cm. **(PAREZ, 1987).** 

#### 2.1.3.3-Les cornes utérines :

Elles sont beaucoup plus longues chez la truie (1 mètre environ), les ruminants (une quarantaine de centimètres chez la vache). On voit que chacune des deux cornes est cylindroïdes et incurvée, ce qui permet de lui reconnaître de face deux bords, un apex et une base. (BARONE, 1978).

#### 2.1.4-La trompe utérine :

Plus ou moins flexueuses selon les espèces, la trompe utérine n'a jamais un trajet rectiligne. Elle commence par une partie évasée ou infundibulum, ouverte dans la bourse ovalaire en regard de l'ovaire qu'elle a coiffé. Lorsqu'elle est très flexueuse, comme chez les équidés, les ruminants ou les porcines, la portion peut s'élever jusqu'à cinq ou six : la longueur dépasse 20 cm chez la truie atteint 30 cm chez la jument et la vache. (BARONE, 1978).

#### 2.1.5-Les ovaires :

Situées à environ 30cm de l'ouverture vaginale, ils sont facilement palpables par voie rectale en avant et sur le coté de chaque corne utérine, logés dans un repli de méso-salpinx qui forme la bourse ovarien. Ce sont des glandes ovoïdes de taille variable en fonction de l'âge et du stade du cycle œstral. Ils ont de 3 à 5 cm de long sur 2à3 cm de large et 1à 2 cm d'épaisseur. De consistance ferme, leur forme est irrégulièrement bosselée par structures qui entraînent le développement des organites, tels que follicules, corps jaune. (PAREZ, 1987). Chaque ovaire a la forme d'une amande de 4 cm de longueur sur 2.5 cm de largeur et 1.5 cm d'épaisseur. (DUDOUET, 2004).

L'ovaire droit ovule plus fréquemment que le gauche (60% contre 40%) et les gestations dans la corne droite sont donc pré-dominant. (**DERIVAUX et ECTORS, 1980**).

#### 2.2-Le comportement sexuel chez la vache :

La vache en chaleur est inquiète agitée ; l'appétit, la rumination et la sécrétion lactée sont diminués. Elle beugle fréquemment. Se déplace, suit les autres animaux du troupeau et cherche à les chevaucher. De la vulve s'écoule un liquide muqueux, filant clair, transparent dont on retrouve des traces au niveau de la queue et des flancs ; l'élasticité et la transparence sont deux caractères importants car ils sont le reflet de l'intégrité organique du tractus. La vulve est congestionnée et tuméfiée. (DERIVAUX et ECTORS, 1980).

#### 2.3-Les cycles sexuels chez la vache :

Lorsqu'on examine une coupe d'ovaire, on observe des séries d'unités microscopiques différentes ; Ce sont les organites spécifiques l'ovaire ou follicules ovariens.

Les divers images des follicules correspondent à des stades d'une évolution régulier conduisent d'une formation simple et de petite taille : le follicule primordial, à une complexe de la grande taille : le follicule mur, libérant par les mécanismes de l'ovulation, le gamète femelle ou ovocyte ; c'est la raison pour laquelle on parle « d'évolution gamétogenétiqué ». Après l'évolution, ce follicule rompu subit une transformation l'amenant à l'état de « corps jaune », organite transitoire destiné à régresser plus ou moins rapidement suivant qu'il y a, ou non, gestation.

#### 2.3.1-Etude analytique de l'ovogenèse :

Comme la spermatogenèse, l'ovogenèse comporte trois phases : multiplication, accroissement, maturation. Mais alors que la spermatogenèse commence à la puberté, l'ovogenèse début pendant la vie fœtale. (GIROD et CZYBA, 1977).

L'ovogenèse commence dans l'ovaire fœtal, peu après la différenciation sexuelle, à 31 jours chez les ovins, 40 jours chez les bovins ; Elle se poursuit pendant une partie de la vie intra – utérine, subit une longue interruption jusqu'à la puberté ou elle répond de manière cyclique. (INRA, 1988).

#### 2.3.1.1-La multiplication:

Les cellules germinales primordiales ou gonocytes subissent une série de mitoses, donnant naissance à de nombreuses ovogonies. Cette période de multiplication des ovogonies est limitée dans le temps ; Chez la vache, elle s'arrête vers la fin du 3<sup>e</sup> mois de vie intra-utérine. Le nombre maximum de gamètes femelles est alors définitivement fixé, donc bien avant la naissance ; Il est de 400 000 chez la vache. (INRA, 1988).

#### 2.3.1.2-l'accroissement:

Les ovogonies deviennent des ovocytes 1 ou ovocytes de premier ordre par accumulation de réserves cytoplasmiques ; Il y a accroissement de taille des gamètes.

Les ovocytes entrent en méiose division réductionnelle caractéristique des cellules germinales, mais elle s'arrête au stade de la prophase de la première division de la méiose l'ovocyte 1 est donc toujours une cellule à 2 n chromosomes.

Parallèlement, chaque ovocyte s'entoure d'une couche de cellules folliculeuses pour constituer un follicule primordial. Ces phénomènes sont terminés avant la fin de la vie intra-utérine. (INRA, 1988).

#### 2.3.1.3-La maturation:

A partir de la puberté, l'ovogenèse répond avec un caractère cyclique. Lors de chaque cycle, il y a reprise de la méiose quelques heures avant l'ovulation. La première division de la méiose, réductionnelle, donne un ovocyte 2 et un premier globule polaire est recueilli par le pavillon de l'oviducte. La deuxième division de la méiose, équationnelle, se produit uniquement si l'ovocyte2 est active par un spermatozoïde; Cette activation est réalisée quand le spermatozoïde s'accole à la membrane cytoplasmique de l'ovocyte. Cette deuxième division donne un ovotide ou ovule et un deuxième globule polaire. (INRA, 1988).

#### 2.3.2-Le folliculogénèse :

L'évolution d'un gamète femelle ou ovogenèse se fait en partie à l'intérieur d'un massif cellulaire, le follicule, dont l'évolution ou follicule genèse aboutit à la maturité à son éclatement et à l'expulsion de l'ovule ou ovulation. (**Figure 3**).

Aucune évolution ne se produit jusqu'à la puberté. De nombreux follicules dégénèrent mais un nombre suffisamment important reste au repos jusqu'à la puberté.

Ovogenèse et le follicule genèse sont donc partiellement simultanés. (INRA, 1988).

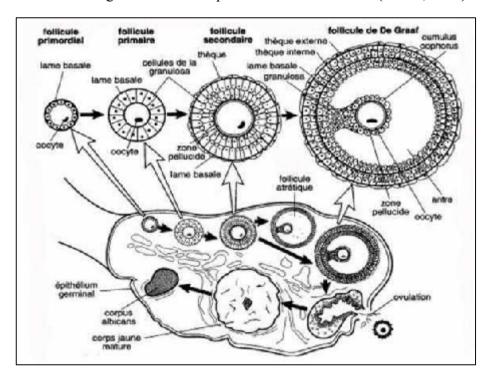


Figure 3: les différents stades de folliculogénèse.

#### 2.3.2.1-Les follicules :

On trouve dès la naissance dans la zone corticale de l'ovaire de petits amas cellulaires ou follicules primordiaux composés chacun d'un ovocyte entouré de quelques cellules du stroma ovarien aplaties ou cellules folliculeuses. Dans l'ovaire d'une femelle adulte. On observe des follicules à différents stades d'évolution. Du plus petits ou plus gros. On trouve : les follicules primaires, secondaires, tertiaires et les follicules de dégraaf.

#### a-Les follicules primaires :

L'ovocyte en prophase de la méiose et en croissance et entouré d'une couche de cellules folliculeuses de forme cubique : les cellules granuleuses.

#### b-Les follicules secondaires :

L'ovocyte a atteint sa taille maximale et s'entoure d'une couche hyaline : la membrane pellucide. Les cellules granuleuses se multiplient activement pour former un amas de plus important autour de l'ovocyte : la granulosa. Autour de la granulosa deux couches de cellules du stroma s'organisent ; la thèque interne, et la thèque externe délimite avec la granulosa la membrane basale.

#### c-Les follicules tertiaires (ou follicules à antrum) :

La granulosa du follicule se creuse d'une cavité : l'antrum contenant le liquide folliculaire, excrété par les cellules granuleuses et la thèque interne. A ce stade, les thèques sont bien différenciées.

#### d-Les follicules de degraaf ou les follicules murs :

Les follicules pré ovulatoires sont les plus volumineux : 12 à 19 mm chez la vache, 5 à 10 mm chez la chèvre et la brebis, 8 à 12 mm chez la truie et 25 à 70 mm chez la jument. Un follicule mur est composé :

- D'une volumineuse cavité dans laquelle le cumulus oophorus portant l'ovocyte entouré d'une couche régulière de cellules granuleuses, la couronne radiée, fait saillie.
- De la granulosa ou rôle nourricier pour le gamète.
- De la thèque interne sécrétrice d'æstrogènes.
- De la thèque externe fibreuse. (INRA, 1988).

#### 2.4-La dynamique folliculaire :

L'échographie a permis une observation dynamique des follicules pendant un cycle œstrale complet, observation qui s'avère fortement corrélée aux phénomènes biologiques (mesures anatomiques). D'après des études ultra-sono-graphiques chez la génisse, 81% des cycles comporteraient 3 vagues folliculaires 15% en comporteraient 2 et seulement 4% n'en montreraient qu'une seul (Figure 4). (BRUYERE, 2002).

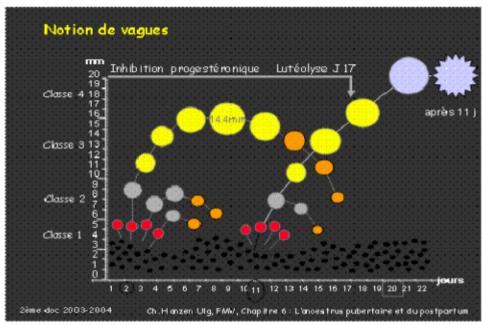


Figure 4: la dynamique folliculaire.

#### 2.4.1-cinétique de développement de follicule ovulatoire :

Le recrutement se produit lors de la régression du corps jaune (début de la phase folliculaire) soit 3,7 et 14 jours avant l'ovulation chez respectivement la vache, la brebis, la femme. Il concerne tous les follicules sains de taille supérieure à la taille ou les follicules ont un besoin absolu en hormones gonadotropes pour leur développement. Le nombre de follicules recrutés est 2 à3 fois supérieur au nombre de follicules ovulés. Tous les follicules recrutés sont potentiellement aptes à ovuler, conséquent, le choix du follicule pré-ovulatoire n'est pas prédétermine.

Le diamètre de follicule recruté augmente pendant le période de recrutement. A la fin de cette période, a la fin la sélection du follicule qui va se transformer en follicule ovulatoire. La dominance se traduit par la régression des autres follicules recrutés. Par conséquent, le diamètre de ces follicules devenus atteindre celui d'un follicule ovulatoire.

#### 2.4.2-Régulation des processus de recrutement, sélection et dominance :

Les hormones gonadotropes (LH, FSH) régulent les processus de recrutement, sélection et dominance. Leur action est modulée par l'action des stéroïdes (œstradiols) et des peptides (inhibine) dont la sécrétion par le follicule en croissance dépend elle- même des hormones gonadotropes.

FSH induit le recrutement, la présence d'un niveau basal de LH est indispensable. La croissance des follicules recrutes s'accompagnée d'une augmentation de la production folliculaire d'œstradiol est d'inhibine. L'expression de la rétro action positive de l'œstradiol se traduit par une a augmentation de la fréquence des pulses de LH qui stimule la synthèse d'androgènes par les cellules de la thèque. L'augmentation résultant des secrétions d'œstrogènes et la production accrue e d'inhibine sur la sécrétion de FSH et donc une réduction des taux plasmatiques de l'hormone.

La sélection est obtenue lorsque les concentrations plasmatiques en FSH atteignent des valeurs inferieurs à celles capables d'induire le recrutement.

Le follicule dominant persiste malgré la diminution des concentrations plasmatiques en FSH car ses besoins en FSH sont réduits.

L'acquisition de répéteurs à LH par les cellules de granulosa, au cours des derniers stades de développement pourrait expliquer la persistance du follicule dominant. (GAYRARD, 2007).

#### 2.4.3-l'atresie folliculaire:

L'atrésie est le devenir de la majorité des follicules. Elle entraine la régression du follicule jusqu'à sa disparition. D'un point de vue morphologique elle est identifié par la diminution de la taille du follicule visualisée par échographie et pare l'accumulation de pycnose (grains de chromatine condensée) dans les cellules de la granulosa. Dun points de vue fonctionnel, elle est associe à une réduction de la stéroidogénèse qui résulte d'une diminution de l'activité aromatase (accumulation de testostérone (GAYRARD, 2007).

#### 2.4.4-l'ovulation:

L'augmentation rapide du taux de gonadotrophines dans le sang ou « décharge ovulant »en fin de phase folliculaire déclenche :

- La fragilisation de la membrane du follicule (action due surtout à FSH).
- La dissociation des cellules du cumulus oophorus, qui reliaient l'ovocyte à la granulosa (effet déclenché directement par FSH et LH).
- La fin de la maturation ovocytaire (émission du premier globule polaire).
- La rupture de la paroi folliculaire (contraction de l'ovaire).

L'ensemble du processus, tel qu'il est actuellement perçu, est complexe et fait intervenir à la granulosa (sécrétion de progestérone indispensable à la stimulation des activités collagénoses puis production de prostaglandines), les thèques du follicule et la région périphérique de l'ovaire (source des activités collagénases), ainsi que l'épithélium ovarien (libération d'enzymes lysosomiales).

L'expulsion finale du contenu libre du follicule, dont l'enveloppe tournée vers l'extérieur de l'ovaire est fragilisée à l'extrême, intervient à la suite de contractions ovariennes. L'ovocyte est libéré en entraînant la corona-radiata ensemble des cellules qui étaient à son contact immédiat dans le follicule, et qui restent ancrées dans la zone pellucide (RIEUTORT, 1999). L'ovulation se produit sous l'influence combinée de la baisse du taux de la FSH et de l'augmentation de celui de la LH. Intervient, là encore, une synergie d'action. (J.M, 1976).

#### 2.4.5-Le corps jaune :

Après l'ovulation, les cellules de la granulosa et de la thèque interne du follicule rompu forment une glande endocrine, le corps jaune. La vascularisation sanguine et lymphatique du futur corps jaune prend place peu avant l'ovulation, lorsque la lame basale qui entourait les cellules de la granulosa disparaît. Après l'ovulation, les cellules de la granulosa se transforment en cellules lutéales (multiplication cellulaire, hypertrophie poly ploïdie très souvent), sécrétrices de progestérone (vers le sang), en même temps que des cellules de la thèque interne prolifèrent, à des degrés variables, et peuvent envahir également l'espace laissé vacant par la rupture du follicule.

La transformation des cellules de granulosa en cellules lutéales dépend directement des fortes concentrations de LH présentes lors de la décharge ovulant : cette action n'est possible que si des taux suffisant de FSH ont pu atteindre les cellules de la granulosa pendant la phase folliculaire. La sécrétion de progestérone (essentiellement) par le corps jaune nécessitant une stimulation des cellules lutéales par la LH et la prolactine ; l'une ou l'autre de ces deux hormones hypophysaires peut suffire pour maintenir une sécrétion une sécrétion de progestérone, mais celle-ci reste alors inférieur à ce qu'elle est en présence des deux hormones. L'æstradiol  $17\beta$  et les prostaglandines (PG) E1 et E2 peuvent participer, à des degrés divers, au maintien de la sécrétion de progestérone.

La régression du corps jaune (luteolyse) lorsqu'il n'y a pas une fécondation, dépend de nombreux facteurs mettant en jeu l'utérus, (rôle luteolytique de la PGF2a sécrétrice par l'endomètre) et l'ovaire lui- même (synthèse d'æstrogènes et de PGF2a dans certain espèces). (RIEUTORT, 1995).

#### 2.5-Le cycle œstral chez la vache:

La vache est une espèce poly-estrienne, à cycle œstral contenu dont la durée est 20 à21 jours, il est généralement plus court chez la génisse que chez la vache. Les mauvaises conditions d'entretien, d'environnement, de nutrition peuvent interférer sur le déroulement de cycle et entraîner soit son irrégularité soit sa suppression. (DERIVAUX et ECTORS, 1980). Le cycle œstral chez les bovins se divise en quatre parties, dont trois pendant la période reliée à la chaleur : Le pré chaleur, la chaleur et l'après chaleur. Chacune de ces parties à ses propres signes qu'il importe de bien reconnaître. (LACERTE, 2003).

- Le pré chaleur (Le pro œstrus): est synchrone de déclin d'activité du corps jaune, vers le 17<sup>e</sup> jour et il est nettement précise au 19<sup>e</sup> jour avec l'accensions du taux plasmatique des œstrogènes.
- La chaleur (l'œstrus) : est de durée, en moyenne de 14 à 15 heures, après la fin des chaleurs. Il existe à cet égard d'assez grandes et les génisses ont tendances à ovuler plus pré- maturément que les vaches adultes.
- L'après chaleur (Le meta-œstrus et le di œstrus): la période met- œstrus correspond à

l'installation du corps jaune et va de 1 jour au jour 6 du cycle ; Elle est suivie du diæstrus dont la durée réglée par l'activité lutéale, est de 10-11 jours (6<sup>e</sup> aux 7<sup>e</sup> jours).

#### 2.6-Le contrôle neuro endocrinienne:

Pour exercer les fonctions les plus variées et complexes, les organismes supérieurs requièrent un système du contrôle central. Ce rôle de chef d'orchestre ou de coordinateur de l'activité des différents tissus et organes est l'apanage du système nerveux central. Pour l'exercer, le cerveau dispose de deux moyens, des signaux électriques véhiculés directement vers les sites d'action par l'intermédiaire de nerfs, et des messages chimiques (hormones) distribués par le courant sanguin.

#### 2.6.1-Le système hypothalamus hypophysaire:

L'hypothalamus, à la base du cerveau, contient des neurones responsables de sécrétion d'hormones. On distingue à ce niveau deux systèmes neuro-sécrétrices. L'un est constitué par des neurones secrétant la vasopressine et l'ocytocine, deux peptides actifs respectivement au niveau des reins et de la glande mammaire. L'autre, plus, complexe, est à destinée antéhypophysaire. Dans ce cas, le cerveau n'envoie pas directement ses messages aux organes périphériques, mais il se sert de l'antéhypophyse comme amplificateur. Les six hormones principales sécrétées par l'adéno- hypophyse sous la direction de l'hypothalamus hypo physiotrope sont l'hormone de croissance (GH), l'hormone cortico-trope (ACTH), l'hormone lutéinique (LH), l'hormone folliculo-stimulante (FSH), l'hormone thyréotrope (TSH), et la prolactine (PRL).

La sécrétion de ces différentes hormones adéno- hypophysaires est contrôlée de façon constante et précise par des hormones secrétées par l'hypothalamus et transportées aux cellules cibles de l'adéno- hypophyse par le système porte hypothalamus hypophysaire. (BAULIEU et al, 1978).

#### 2.6.2-Axe hypophyso-gonadique:

L'hypophyse joue un grand rôle dans le développement des organes sexuels et dans l'entretien du pouvoir de reproduction de l'organisme. Son ablation amène, chez les animaux, un ralentissement de la croissance et un arrêt du développement des organes sexuels qui restent infantiles ; Chez les adultes, elle entraîne une atrophie des gonades et une régression des caractères sexuels secondaires (**Figure 5**).

L'hypophyse secrète les trois gonadotrophines suivantes :

- L'hormone de maturation folliculaire (FSH);
- L'hormone stimulatrice des cellules interstitielles (ICSH);
- L'hormone luteotrope (LTH).

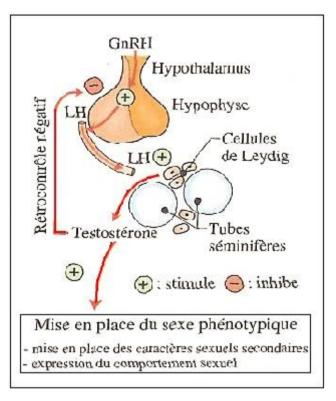


Figure 5: des retro action dans le contrôle de la testostéronémie

#### 2.6.2.1-l'hormone de maturation folliculaire:

Stimule le développement de l'épithélium germinatif chez le male et la femelle. Chez les femelles hypophysectomies. L'administration de FSH active le développement des follicules ; chez le male elle accélère la spermatogenèse.

#### **2.6.2.2-l'hormone stimulatrice des cellules interstitielles (lutéinisante):**

Exerce chez les femelles une action stimulatrice sur la maturation folliculaire et sur la sécrétion d'œstrogènes par l'épithélium folliculaire. Par suite de cette production accrue d'œstrogènes, l'utérus entre en phase de prolifération. L'ICSH déclenche d'ovulation et le développement du corps jaune mais, n'interviennent pas dans la synthèse de progestérone. Pendant la période de maturation folliculaire jusqu'à l'ovulation, FSH et ICSH agissent en synergie.

Chez le male, L'ICSH active l'évolution des cellules de LEYDIG et la sécrétion de testostérone qui conditionne le développement des caractères sexuels secondaires. (KLOB et al, 1975).

Une seconde gonadotrophine dite de lutéinisation (LH) provoque la formation de corps jaune après avoir déclenché l'ovulation. (MALMEJAC, 1976).

#### 2.6.2.3-l'hormone luteotrope (prolactine):

N'est importante que chez la femelle. Elle stimule la synthèse de progestérone dans le corps jaune et assure l'entretien de l'activité sécrétrice de ce dernier. Le défaut de production de prolactine entraîne une diminution de synthèse de la progestérone et dans ces conditions la phase de sécrétion de muqueuse utérine n'évolue pas favorablement. (KLOB et al, 1975).

## **Chapitre II**

L'impact de détection de la chaleur sur les performances de la reproduction.

#### **I-Introduction:**

La détection de l'œstrus revêt une importance capitale dans les élevages laitiers dans la mesure où sa qualité détermine en grande partie la réussite des inséminations artificielles.

#### II-Les différents signes observés lors de l'æstrus:

#### **1-Les modifications comportementales:**

Par définition, l'œstrus correspond à la période pendant laquelle se manifestent des modifications comportementales précédant l'ovulation. (DISENHAUS et al, 2003)

Cette définition doit donc être précisée en fonction des manifestations comportementales observées.

#### 1.1-l'acceptation du chevauchement :

L'acceptation du chevauchement est le signe caractéristique de l'œstrus. Il s'agit d'un signe très fiable dont la spécificité est supérieure à 95%. (ORIHUELA, 2000)

Une vache accepte le chevauchement lorsqu'elle reste immobile pendant plusieurs secondes alors qu'une autre vache la chevauche (la plupart du temps une durée supérieure à 2 secondes est admise) (figure 6).



Figure 6: Vache acceptant le chevauchement

Des études récentes réalisées à l'aide de détecteurs électroniques de chevauchement ont montré que :

- Le nombre moyen des acceptations de chevauchement lors d'une période œstrale est compris entre  $2,1\pm0,3$  et  $8,5\pm6,6$  selon les auteurs. (PIGGOTT et al, 1996; TIMMES et al, 1997; DANSFIELD et al, 1998; AT-TARAS et SPAHR 2001; NEBEL 2003; PERALTA et al, 2005)
- La durée moyenne d'une acceptation de chevauchement est comprise entre  $3.2 \pm 0.2$  et  $3.4 \pm 0.4$  secondes. (AT-TARAS et SPAHR, 2001)

Une première définition de l'œstrus peut être proposée : l'œstrus correspond à la période comprise entre la première et la dernière acceptation de chevauchement. (DISENHAUS et al, 2003)

Toutefois, cette définition implique que chaque vache manifeste plus d'une fois ce comportement afin de pouvoir parler d'æstrus. Or ce signe n'est exprimé que par 50 à 70% des vaches lors de leurs « périodes ovulatoires ». Ainsi, dans un troupeau observé en continu, sur 44 vaches ayant ovulé pour la deuxième ou la troisième fois, seules 26 (soit 59% des vaches ayant ovulé et 68% des vaches ayant montré des signes comportementaux d'æstrus) ont accepté le chevauchement. (**DISENHAUS et al, 2003**)

Dans une autre étude portant sur 15 vaches cyclées observées en continue, 8 vaches (53,3%) ont accepté le chevauchement lors de leurs périodes de chaleurs. (**KERBAT et DISENHAUS**, **2004**)

77% de ces acceptations de chevauchement étaient en outre initiées par des vaches ellesmêmes en chaleur. Enfin, dans une dernière étude réalisée sur 56 vaches laitières observées 30 minutes toutes les 4 heures, 63% des primipares et 65% des multipares ont accepté le chevauchement. (YOSHIDA et KAKAO; 2005)

Ces résultats montrent donc l'importance d'observer les autres signes exprimés pendant l'œstrus afin de détecter les vaches en chaleur.

#### 1.2-Les signes secondaires :

Les signes secondaires sont des signes comportementaux présents pendant l'ensemble du cycle œstral mais exprimés plus fréquemment lors de l'œstrus. Ils ne sont donc pas spécifiques de celui-ci. Ce sont des comportements très brefs (3 à 15 secondes) dont la répartition au cours de la journée est quasi régulière. (DISENHAUS et al, 2003)

Les signes secondaires peuvent être séparés en 3 groupes (KERBAT et DISENHAUS, 2004):

- Les comportements sexuels secondaires
- Les comportements agonistiques
- Les comportements sociaux

Pour la détection de l'œstrus, les signes secondaires sont assimilés aux comportements sexuels secondaires. En effet, bien que les vaches en chaleur recherchent le contact, le nombre de

comportements agonistiques et sociaux n'augmente pas de manière significative pendant l'œstrus. (KERBAT et DISENHAUS, 2004).

Les signes secondaires ainsi définis sont au nombre de quatre (KERBAT et DISENHAUS, 2004):

- Les tentatives de chevauchement par l'arrière
- Les tentatives de chevauchement par l'avant
- Les frottements/appuis du menton ou de la tête sur la croupe d'une autre vache
- Les léchages/flairages de la région ano-génitale d'une autre vache

Chacun de ces signes peut être initié ou reçu par la vache en chaleur.

De grandes variations dans l'expression des signes secondaires existent entre les individus.

#### (YOSHIDA et KAKAO, 2005; REOLOFS et al, 2005a)

Certaines vaches peuvent exprimer pendant leur phase lutéale plus de comportements sexuels secondaires que d'autres vaches pendant leur œstrus. En conséquence, ce n'est pas le comportement sexuel secondaire seul mais la répétition de celui-ci qui est un comportement spécifique de l'æstrus. (DISENHAUS et al, 2003; KERBAT et DISENHAUS, 2004). Une deuxième définition de l'æstrus peut donc être proposée : l'æstrus correspond à la période comprise entre l'augmentation significative de la fréquence de comportements sexuels secondaires et sa diminution significative.

Mais à l'instar de l'acceptation du chevauchement, ces comportements ne sont pas toujours présents lors des périodes ovulatoires. Ainsi, dans une étude portant sur 44 vaches ayant ovulé pour la deuxième ou la troisième fois, 6 (soit 14%) n'ont exprimé aucun signe comportemental de chaleur. (**DISENHAUS et al, 2003**). Ceci démontre bien l'existence d'ovulations silencieuses.

#### 1.2.1-Validité des signes secondaires :

Les signes secondaires sont présents à la fois en phase œstrale et en phase lutéale. Il est donc important de savoir quel crédit accorder à ces signes dans la détection de l'æstrus. Lors d'une étude réalisée sur 15 vaches laitières observées en continu sur aire paillée, les signes secondaires de chaleurs ainsi que l'acceptation du chevauchement ont été comptabilisés lors du deuxième ou troisième cycle post-partum pendant 5 jours particuliers (KERBAT et DISENHAUS, 2004): le jour de l'æstrus (Œstrus), un jour avant l'æstrus (Œstrus-1), un jour après l'æstrus (Œstrus+1) l'æstrus, et enfin un jour pris au hasard lors de la première (Lut1) et la deuxième (Lut2) moitié de la phase lutéale. Sur les 15 vaches, seules 11 ont manifesté des signes comportementaux.

Les premiers signes secondaires étudiés ont été les signes secondaires initiés (tableau 1).

Signes secondaires initiés observés	Lut1	Lut2	Œstrus-1	Œstrus	Œstrus+1	Signifa
Chevauchement	0.0	0.0	0.0	$6.6^{b} (0-22)^{c}$	0.0	P<0.01
Chevauchement par la tête	0.0	0.0	0.0	0.2 (0-1)	0.0	NS
Appui/frottement du menton sur la croupe	0.1 (0-1)	0.1 (0-1)	0.6 (0-3)	34.5 (2-230)	0.3 (0-2)	P<0.001
Renifler/lécher la région ano-génitale	0.2 (0-2)	0.1 (0-1)	0.5 (0-3)	18.6 (4-37)	0.3 (0-3)	P<0.001
Signes secondaires Initiés totaux	0.3 (0-3)	0.2 (0-2)	1.1 (0-4)	59.9 (8-176)	0.6 (0-5)	P<0.001

a : la significativité correspond à la comparaison des survenues moyennes entre les 5 jours.

Tableau 1 : Survenues moyennes des signes secondaires initiés par les 11 vaches vues en œstrus (KERBAT et DISENHAUS, 2004).

Le nombre des signes secondaires initiés a été plus grand le jour de l'œstrus que les autres jours (p<0,001). Ils peuvent donc être utilisés pour la détection des chaleurs. Parmi les signes secondaires initiés, l'appui/frottement du menton sur la croupe et le léchage/flairage de la zone ano-génitale ont représenté respectivement 57,6% et 31,1% (soit 88,7% à eux 2) des signes secondaires initiés totaux. Ils ont par ailleurs été exprimés plus fréquemment le jour de l'œstrus que les autres jours du cycle (p<0.001) et par toutes les vaches au moins une fois le jour de l'œstrus. Ces résultats sont en accord avec ceux d'une autre étude publiée en 2005 (REOLOFS et al, 2005a) et ces signes sont donc des signes forts pour la détection des chaleurs.

De même, les vaches n'ont tenté de chevaucher que le jour de l'œstrus. Mais le nombre de chevauchements était bas (6,6 en moyenne) et seules 9 vaches ont tenté de chevaucher une fois ou plus. Dans une autre étude réalisée sur 70 vaches laitières cependant, des tentatives de chevauchement ont été observées lors de 90% des œstrus. (REOLOFS et al, 2005a)
Enfin, les tentatives de chevauchement par la tête n'ont eu lieu que le jour de l'œstrus mais leur nombre était trop peu important pour que ce signe soit sensible. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus dans une étude publiée en 1986 dans laquelle seules 26 des 750 tentatives de chevauchement ont été réalisées par la tête. (BRITT et al, 1986)
Les signes secondaires reçus ont également été comptabilisés (tableau 2).
La table ci-dessous récapitule les comportements sexuels reçus qui prennent en compte à la fois les signes secondaires reçus ainsi que l'acceptation du chevauchement.

b: survenues moyennes.

c: minimum-maximum.

Signes sexuels	Lut1	Lut2	Œstrus-1	Œstrus	Œstrus+1	Signifa
reçus observés						
Chevauchement	0.0	0.0	0.0	8.2 <sup>b</sup> (0-32) <sup>c</sup>	0.0	P<0.05
avec acceptation						
Chevauchement	0.1	0.0	0.0	1.6 (0-6)	0.2 (0-2)	NS
sans acceptation						
Chevauchement	0.0	0.0	0.0	1.7 (0-14)	0.1 (0-1)	P<0.01
par la tête						
Appui/frottement	1.1 (0-8)	0.3 (0-2)	0.1 (0-1)	19.4 (0-75)	2.3 (0-12)	P<0.001
du menton sur la						
croupe						
Renifler/lécher la	0.4 (0-1)	0.3 (0-2)	1.2 (0-5)	9.5 (0-27)	2.3 (0-9)	P<0.01
région ano-génitale						
Signes sexuels	1.6 (0-10)	0.6 (0-2)	1.3 (0-6)	40.4 (0-135)	4.9 (0-20)	P<0.001
reçus totaux						

a : La significativité correspond à la comparaison des survenues moyennes entre les 5 jours.

b : survenues moyennes

c: minimum-maximum

Tableau 2 : Survenues moyennes des signes sexuels reçus par les 11 vaches vues en œstrus (KERBAT et DISENHAUS, 2004).

De même que pour les signes secondaires initiés, le nombre des signes secondaires reçus a été plus important le jour de l'œstrus que les autres jours du cycle (p<0.001) mais semblent moins pratiques pour la détection des chaleurs. L'appui/frottement du menton sur la croupe et le léchage/flairage de la région ano-génitale ont également été les signes secondaires reçus les plus fréquents avec respectivement 61,1% et 27,6% (soit 88,7% à eux 2) des signes secondaires reçus. A l'exception des chevauchements sans acceptation, les signes secondaires reçus ont été exprimés plus fréquemment lors de l'œstrus que lors des autres jours du cycle. Les auteurs concluent que les signes secondaires initiés semblent être très sensibles et peuvent constituer un indicateur pratique pour la détection des chaleurs. (KERBAT et DISENHAUS, 2004).

On peut toutefois remarquer que les signes secondaires reçus semblent aussi être de bons indicateurs de l'æstrus.

#### 1.3-l'agitation:

Une vache est plus agitée le jour de l'œstrus et passe moins de temps à s'alimenter et à boire. Une première étude réalisée à l'aide de podomètres sur 40 vaches laitières a permis de montrer que l'augmentation moyenne d'activité au moment de l'œstrus était de 393% sur aire paillée.(KIDDY, 1977). Ceci est en accord avec une autre étude réalisée sur 15 vaches observées en continu dans laquelle le temps passé à marcher sur aire paillée a augmenté de 342% entre le jour situé avant l'œstrus et le jour de l'æstrus tandis que le temps passé allongée diminue de 26%. (KERBAT et DISENHAUS, 2004).

Cette augmentation d'activité débutait environ 4 heures avant les premières acceptations de chevauchement. (RORIE et al, 2002)

#### 2-Les autres signes:

En dehors des signes comportementaux, des changements physiques et physiologiques sont visibles lors de la période d'œstrus :

• Une production accrue de mucus a lieu dans le vagin. (BALL et PETERS, 2004) Il en résulte l'apparition d'un filet de mucus transparent sortant de la vulve, et souvent adhérant à la queue. Il ne doit toutefois pas être confondu avec le filet de mucus sanguinolent sortant de la vulve environ 2 jours après l'æstrus. Celui-ci résulte en effet de l'augmentation des sécrétions de produits sanguins à l'intérieur de la lumière de l'utérus sous l'action des æstrogènes. Il n'est donc présent qu'une fois l'æstrus terminé.

Ces 2 filets de mucus sont souvent les 2 seuls signes permettant la détection des chaleurs dans les étables où les vaches sont entravées :

- Si le filet de mucus est de couleur transparente, la vache est en période d'æstrus et elle peut donc être inséminée.
- Si le filet de mucus est sanguinolent, l'æstrus est fini depuis 2 jours environ.
- Les prochaines chaleurs se dérouleront donc environ 19 jours plus tard.
- Les lèvres vulvaires sont généralement plus humides, enflées et rouges. (BALL et PETERS, 2004)
- La production de lait est réduite (BALL et PETERS, 2004).

  Ceci est sans doute dû à la diminution de l'alimentation associée au stress psychologique associé à l'æstrus. Ainsi, lors d'une étude publiée en 1986, l'induction de l'æstrus a provoqué une baisse de la production laitière de 2 Kg lors de la traite réalisée pendant les chaleurs (10,2 ± 0,5 litres contre 12,2 ± 0,3 litres, p<0,05). (BRITT et al, 1986)
- Une odeur particulière est présente dans le tractus urogénital et dans l'urine. (KIDDY et al, 1978)

On ne sait toutefois pas encore si l'urine est la source des substances sexuelles odorantes ou si elle est juste porteuse de substances odorantes prélevées lors de son passage dans le vagin ou

sur la vulve. Un changement d'odeur périnéale a été confirmé par une étude plus récente réalisée à l'aide d'un nez électronique composé de 12 capteurs. (LANE et WATHES, 1998)

• A cause des chevauchements répétés, les poils situés à la base de la queue sont souvent arrachés et la peau située de part et d'autre de la base de la queue est souvent sale et éraflée. (DISKIN et SREENAN, 2000).

## III-Place de l'æstrus au sein du cycle æstral:

## 1-Durée de l'æstrus:

Plusieurs définitions de l'œstrus existent en fonction des signes comportementaux observés. Or les périodes pendant lesquelles s'expriment ces signes ne sont pas concomitantes. Ainsi, les signes secondaires apparaissent avant et disparaissent après les acceptations du chevauchement si elles ont lieu. La durée de l'œstrus varie donc en fonction de la définition choisie.

La définition de l'œstrus définit celui-ci comme la période comprise entre la première et la dernière acceptation de chevauchement. Avec cette définition, de nombreux auteurs s'accordent sur le fait que la durée de l'œstrus a diminué au cours des 30 dernières années passant de 18 à 14 heures en moyenne. (DISENHAUS et al, 2003)

Des études plus récentes réalisées à l'aide de détecteurs électroniques de chevauchement donnent des durées de chaleur encore plus courtes allant de  $5,6 \pm 1,0$  à  $9,6 \pm 0,8$  heures selon les auteurs. (WALKER et al 1996; TIMMS et al, 1997 ; DANSFIELD et al, 1998; PERALTA et al, 2005 ; AT-TARAS et SPAHR, 2001)

Par ailleurs, dans une étude réalisée sur 51 vaches laitières, la durée des chaleurs a été plus courte chez les primipares que chez les multipares  $(7,4 \pm 1,4 \text{ contre } 13,6 \pm 2,0 \text{ heures}, p<0,05)$ . (WALKER et al ; 1996)

Selon 2 autres études, la durée de l'œstrus tendait également à être plus courte chez les primipares (de  $4,0 \pm 2,6$  à  $4,4 \pm 2,2$  heures) que chez les multipares (de  $6,9 \pm 6,6$  à  $8,4 \pm 4,6$  heures). (YOSHIDA et KAKAO, 2005)

Une seconde définition de l'œstrus définit celui-ci comme la période comprise entre l'augmentation et la diminution significatives de la fréquence des signes secondaires. Dans une étude réalisée sur 15 vaches laitières observées en continues, 11 ont été considérées en chaleur selon cette définition avec une durée moyenne d'æstrus de 14,1 ± 4,5 heures.

#### (KERBAT et DISENHAUS, 2004)

Aucune corrélation n'existait cependant entre la durée de l'œstrus et le nombre de signes secondaires exprimés.

Une définition semblable a été utilisée lors d'une étude réalisée sur 70 vaches laitières observées 30 minutes toutes les 3 heures. (**ROELOFS et al, 2005a**)

Le début de l'œstrus était défini comme la première période de 30 minutes pendant laquelle l'animal avait exprimé au moins un signe secondaire moins une heure et demie, et la fin de l'œstrus comme la dernière période de 30 minutes pendant laquelle l'animal avait exprimé au

moins un signe secondaire plus une heure et demie. Selon cette définition, la durée moyenne de l'æstrus a été de  $11.8 \pm 4.4$  heures et a été significativement plus longue chez les primipares que chez les multipares ( $13.6 \pm 4.8$  contre  $10.6 \pm 3.8$  heures, p<0.05). Elle n'a par contre pas été influencée par le nombre d'animaux simultanément en chaleur.

#### 2-Le déterminisme hormonal de l'æstrus:

#### 2.1-l'œstradiol 17 β:

Les estrogènes, et en particulier l'æstradiol 17  $\beta$ , sont responsables du déclenchement de l'æstrus. (NEBEL, 2003 ; SAUMANDE, 2000)

Ceci a été démontré par l'induction chez des vaches ovariectomies de comportements d'œstrus après injection d'un milligramme de benzoate d'œstradiol par voie intramusculaire. (BRITT et al, 1986)

Le rôle des estrogènes dans le déclenchement de l'æstrus semble suivre la loi du «tout ou rien». (LYIMO et al, 2000 ; ALLRICH, 1994)

En effet, une fois le seuil de déclenchement atteint, des quantités supplémentaires d'estrogènes sécrétées n'ont pas d'influence sur la manifestation des comportements. Elles ont toutefois avoir un effet sur la durée de l'œstrus. (BRITT et al ; 1986)

Dans une étude publiée en 2000, les auteurs se sont intéressé à l'influence de l'æstradiol 17  $\beta$  sur l'expression des chaleurs. (LYIMO et al, 2000)

Pour cela, les signes de chaleurs étaient observés 30 minutes toutes les 3 heures afin d'attribuer un score comportemental à chaque vache. Dans le même temps, des prélèvements sanguins étaient réalisés toutes les 3 heures afin de doser l'æstradiol 17  $\beta$ . La moyenne des concentrations plasmatiques maximales en æstradiol obtenues lors de l'æstrus a été de 7,76  $\pm$  2,39 pg/ml.

Cette concentration plasmatique maximale était concomitante de la période pendant laquelle le score comportemental était le plus élevé (figure 7). Elle était également positivement corrélée avec plusieurs indices d'intensité de l'œstrus : sa durée, le nombre total de points acquis pendant la période d'œstrus et le nombre d'occurrences de 3 signes secondaires (tentatives de chevauchement, appui/frottement de la tête sur la croupe et agitation).

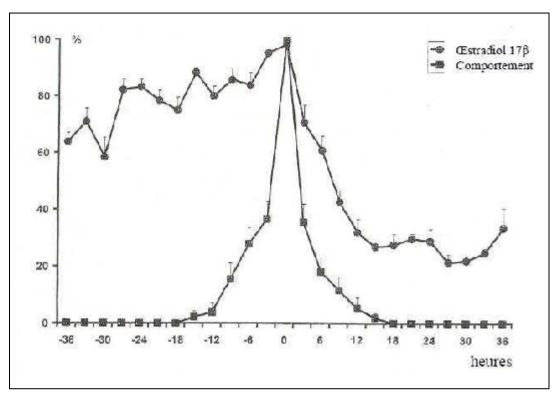


Figure 7: Score comportemental d'œstrus et concentration plasmatique en œstradiol 17β présentés comme un pourcentage du maximum atteint pour chaque animal au cours de la phase œstrale, en fonction du temps. Pour chaque animal, l'heure 0 correspond à la période de surveillance au cours de laquelle a été observé le score comportemental maximal. (LYIMO et al, 2000)

On peut remarquer que ces corrélations n'ont été obtenues qu'après correction de la concentration plasmatique en œstradiol 17  $\beta$  par la concentration en progestérone lors de la phase lutéale précédente. En effet, une imprégnation progestéronique est nécessaire à la manifestation correcte de signes comportementaux lors de l'æstrus. (BRITT et al, 1986) L'absence de signes comportementaux lors de la première période ovulatoire post-vêlage est donc physiologique. (LYIMO et al, 2000)

### 2.2-Le cortisol:

Lors de la même étude, les auteurs se sont également intéressé à l'influence du cortisol, et donc du stress, sur l'expression des chaleurs. (LYIMO et al, 2000) De la même manière que pour l'æstradiol 17  $\beta$ , le cortisol était dosé toutes les 3 heures. 2 périodes ont alors été définies :

 $\bullet$  La période de 24 heures précédant les 30 minutes pendant lesquelles était observé le score comportemental maximal. Pendant cette période, la moyenne des concentrations plasmatiques maximales en cortisol a été de  $10,59 \pm 5,40$  ng/ml

• La période de 24 heures suivant les 30 minutes pendant lesquelles était observé le score comportemental maximal. Pendant cette période, la moyenne des concentrations plasmatiques maximales en cortisol a été de  $6.88 \pm 5.71$  ng/ml

La concentration moyenne en cortisol durant les 24 heures précédant le score comportemental maximal n'a pu être corrélée à aucun des indices de l'intensité de l'œstrus (durée, nombre d'occurrences des comportements...). Il en est de même pour la concentration concomitante du score comportemental maximal.

La concentration moyenne en cortisol durant les 24 heures suivant le score comportemental maximal a en revanche pu être corrélée positivement avec le score comportemental maximal. Par ailleurs, la concentration en cortisol montre une légère augmentation lors de la période d'œstrus ainsi qu'un pic concomitant du pic d'œstradiol et du score comportemental maximal (figure 8). Mais aucune analyse statistique n'a pu être réalisée à cause du faible nombre d'animaux.

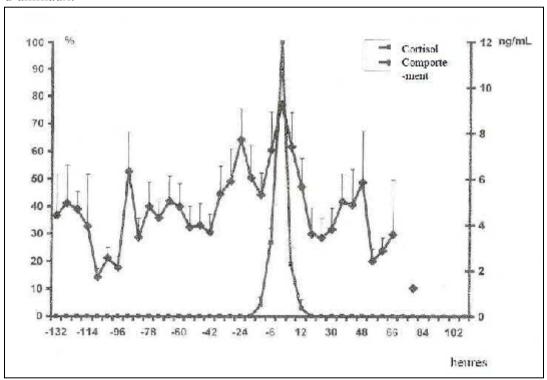


Figure 8 : Score comportemental d'æstrus présenté comme un pourcentage du maximum atteint pour chaque animal au cours de la phase æstrale et concentration plasmatique en cortisol, en fonction du temps. Pour chaque animal, l'heure 0 correspond à la période de surveillance au cours de laquelle a été observé le score comportemental maximal (LYIMO et al, 2000)

Il n'existait donc aucune corrélation négative entre la concentration moyenne en cortisol présent avant l'œstrus et les indices d'intensité d'œstrus. Mais cette absence ne signifie pas nécessairement que le stress n'inhibe pas les comportements d'æstrus. D'une part, le nombre d'animaux étudiés était limité et la variation des concentrations en cortisol était substantielle. D'autre part, les conditions environnementales étaient les mêmes pour tous les animaux et les niveaux de cortisol présents dans l'étude étaient dans les normes d'animaux « non stressés »

## 3-Durée entre les différentes manifestations comportementales et l'ovulation:

Pour être efficace, une insémination artificielle doit être réalisée dans une période précise par rapport à l'heure d'ovulation. (WALKER et al, 1996)

Il est donc important de connaître avec précision l'heure d'ovulation par rapport aux différentes manifestations comportementales qui ont lieu au cours de l'œstrus.

## 3.1-Durée entre les acceptations de chevauchement et l'ovulation:

Dans une première étude réalisée sur 51 vaches laitières, l'heure d'ovulation a été déterminée par rapport à la première acceptation de chevauchement visualisée grâce au système heatwatch<sup>®</sup>. (LYIMO et al, 2000)

La durée moyenne entre les 93 ovulations recensées et la première acceptation de chevauchement a été de  $27,6 \pm 5,4$  heures et n'a pas différé entre les 26 œstrus spontanés et les 67 œstrus induits par la **PGF2** $\alpha$ . Ceci indique que l'heure d'ovulation n'était pas affectée par la lutéolyse induite par la PGF2 $\alpha$ . Il est toutefois nécessaire de nuancer cette dernière affirmation. En effet, sur l'ensemble de l'étude, 22% des œstrus observés n'ont pas abouti à une ovulation dans les 40 heures et une majeure partie (77%) de ces œstrus étaient induits par la PGF2 $\alpha$ .

Lors de cette étude, une relation positive significative a été trouvée entre la durée de l'œstrus et la durée entre la première acceptation de chevauchement et la première ovulation. Ceci pourrait être expliqué par la présence en début d'æstrus d'une quantité d'æstradiol  $17~\beta$  suffisante pour déclencher des comportements de chaleur mais insuffisante pour stimuler le pic pré-ovulatoire de LH. La parité n'a en revanche eu aucune influence sur l'heure d'ovulation. Une seconde étude a été réalisée sur 70 vaches laitières observées 30 minutes toutes les 3 heures. (ROELOFS et al, 2005a)

La durée moyenne entre les 94 ovulations recensées et :

- La première acceptation de chevauchement observée a été de  $26, \pm 5, 2$  heures
- La dernière acceptation de chevauchement observée a été de  $21.4 \pm 5.4$  heures.

#### 3.2-Durée entre les autres signes présents lors de l'œstrus et l'ovulation:

Dans une première étude, les vaches ont été observées 30 minutes 2 fois par jour et un score comportemental, leur a été attribué. (VANEERDENBURG et al, 2002)

Les vaches ont alors été classées en groupes selon la durée entre l'ovulation et la première période d'observation pendant laquelle elles avaient atteint un score de 50 points.

Les vaches ayant ovulé dans les 24 heures suivant cette période d'observation a présenté un score comportemental presque 3 fois plus élevé que celles ayant ovulé 24 à 48 heures après (188 contre 65, p<0,05). Dans une seconde étude réalisée sur 43 vaches laitières, l'heure d'ovulation a été déterminée par rapport à l'augmentation d'activité visualisée grâce à un podomètre. (**REOLOFS et al, 2005b**).

Les 63 ovulations recensées ont eu lieu en moyenne  $29.3 \pm 3.9$  heures après le début de l'augmentation d'activité et  $19.4 \pm 4.4$  heures après la fin de l'augmentation. Ces 2 durées n'ont pas été influencées par le nombre de vaches en œstrus au même moment ou par la parité. Une dernière étude réalisée sur 70 vaches laitières observées 30 minutes toutes les 3 heures s'est intéressé à la durée entre l'ovulation et l'apparition ou la disparition de certains signes secondaires. (**REOLOFS et al, 2005a**)

L'ovulation a ainsi eu lieu en moyenne :

- $30.6 \pm 5.1$  heures après le premier signe secondaire observé, quel qu'il soit, et  $18.8 \pm 4.4$  heures après le dernier
- $\bullet$  30,3  $\pm$  5,0 heures après le premier flairage de la région ano-génitale et 19,2  $\pm$  4,1 heures après le dernier
- $\bullet$  30,2  $\pm$  5,1 heures après le premier appui de tête sur la croupe et 19,5  $\pm$  4,0 après le dernier
- $28,7 \pm 5,3$  heures après la première tentative de chevauchement et  $20,8 \pm 4,1$  après la dernière.

Il est toutefois important de remarquer que, pour être un bon indicateur de l'heure d'ovulation, un signe comportemental doit (REOLOFS et al, 2005a):

- Etre facilement identifiable
- Etre présent fréquemment mais uniquement pendant l'œstrus
- Déterminer le moment de l'ovulation au moins 18 heures avant celle-ci avec une précision inférieure à 12 heures

Dans cette étude, le flairage et l'appui de la tête sur la croupe ont été exprimés respectivement par 87% et 46% des animaux lorsqu'ils n'étaient pas en œstrus. De même, la durée entre le premier ou le dernier signe secondaire observé et l'ovulation a été très variable (respectivement de 18,5 à 48,5 heures et de 9,5 à 33,5 heures). Ces signes ne peuvent donc pas être des indicateurs fiables de l'heure d'ovulation.

Les tentatives de chevauchements, quant à elles, ont été observées lors de 90% des périodes d'œstrus tandis que seuls 2 animaux ont tenté de chevaucher alors qu'ils n'étaient pas en œstrus. Pour 86% de ces périodes, la première tentative de chevauchement a été observée entre

21,5 et 33,5 heures avant l'ovulation. Ainsi, dans 77% des cas, la première tentative de chevauchement aurait pu permettre de prédire l'heure d'ovulation avec une précision de 12 heures et pourrait donc être un indicateur fiable de celle-ci.

La parité n'a pas d'influence sur l'heure d'ovulation, (WALKER et al, 1996; REOLOFS et al, 2005a de même que le nombre de vaches en œstrus simultanément.

(VANEERDENBURG, 1997; REOLOFS et al, 2005a)

#### IV-Facteurs influençant la manifestation de l'œstrus:

#### 1-Les facteurs intrinsèques:

#### 1.1-La parité:

L'influence de la parité sur la manifestation des chaleurs a fait l'objet de plusieurs études dont les résultats ne sont pas tous en accord les uns avec les autres.

Une première étude publiée en 1983 a montré que le nombre de lactations avait une influence significative sur le nombre d'acceptations de chevauchement par heure lors de la première observation d'æstrus (p<0,05) (tableau 3) (GWAZIDAUSKAS et al, 1983)

Nombre de lactations	Nombre d'acceptations de chevauchement par heure
Génisses	$5,5 \pm 0,3$
1	$6,3 \pm 0,3$
2	$7.0 \pm 0.4$
3	$6,3 \pm 0,3$
4	$7,9 \pm 0,5$
5 ou plus	$7.9 \pm 0.6$

Tableau 3 : Influence du nombre de lactation sur le nombre d'acceptations de chevauchement par heure lors de la première observation d'æstrus (GWAZIDAUSKAS et al, 1983)

Dans une étude publiée en 2000, le score comportemental obtenu au cours d'une période œstrale a été significativement influencé par l'âge (p<0,01)

Toutefois, la corrélation négative obtenue était faible et l'âge ne constituait donc pas un indicateur important dans les différences d'expression de l'œstrus. Ces résultats sont contraires à ceux observés lors d'une étude publiée en 2002 dans laquelle la parité n'avait aucune influence sur le score comportemental total. (VANEERDENBURG et al, 2002)

Une étude publiée en 2005 a permis de préciser l'influence de la parité sur l'expression des signes secondaires. (**ROELOFS et al, 2005a**)

Dans cette étude les primipares ont manifesté significativement plus de léchage/flairage de la vulve et de tentatives de chevauchement que les multipares (p<0,05). De même, la durée

pendant laquelle les primipares reniflaient/léchaient la vulve ou posaient leur tête sur la croupe d'une autre vache a été significativement plus longue que chez les multipares (p<0,05). En conséquence, le score comportemental total acquis au cours d'une période œstrale tendait à être plus élevé chez les primipares tandis que le score comportemental maximal acquis au cours d'une période d'observation était significativement plus élevé chez les primipares (p<0,05).

Ces résultats ne sont pas forcément en contradiction avec ceux de l'étude de **GWAZIDAUSKAS** dans la mesure où cette dernière portait uniquement aux acceptations de chevauchement et non aux signes secondaires.

## 1.2-La production laitière :

Dans une étude réalisée sur 13 vaches ovariectomisées où l'œstrus était déclenché par une injection intramusculaire de benzoate d'œstradiol, la production laitière des 5 jours précédant l'induction de l'œstrus n'a eu aucune influence sur les activités de chevauchement et d'acceptation de chevauchement. (BRITT et al, 1986)

De même, 2 études plus récentes ont montré que la production laitière moyenne (HERES et al, 2000) ou cumulée à 305 jours (VANEERDENBURG et al, 2002) n'était pas corrélée avec le score comportemental.

Toutefois, de nombreux rapports incriminent l'augmentation de la production laitière dans la diminution de la manifestation des chaleurs depuis une trentaine d'année.

### (VANEERDENBURG et al, 200; DISENHAUS et al, 2003)

Ceci pourrait être expliqué par le rôle qu'elle joue dans la balance énergétique négative en période post-partum. (VANEERDENBURG et al, 2002)

## 1.3-La génétique:

Dans une étude publiée en 1983, des groupes de 20 à 40 vaches laitières ont été observés sur une aire paillée 2 heures 2 fois par jour. (GWAZIDAUSKAS et al, 1983)

Dans un groupe génétiquement semblable pour la production laitière, le père a eu une influence significative sur le nombre d'acceptations de chevauchement en une heure lors de la première observation d'æstrus (p<0,01) ce qui suggère une influence possible de la génétique dans la manifestation des chaleurs. Une étude plus récente a permis de montrer que l'héritabilité de l'expression de l'æstrus est de 0,21. (HERES et al, 2000)

Cette dernière peut donc rentrer dans un schéma de sélection dans la mesure où une héritabilité supérieure à 0,2 le permet.

#### 1.4-l'état corporel:

L'état corporel d'une vache est apprécié par sa Note d'Etat Corporel (NEC). Dans l'étude NEC + REPRO réalisée en 2004, 5 types de profil de NEC ont été identifiés en période post-partum (figure 9). (PONSART et al, 2006)

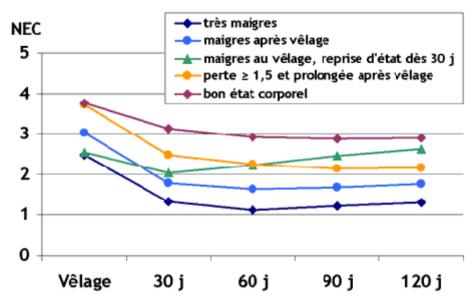


Figure 9: Profils de NEC identifiés en période post-partum (PONSART et al, 2006b)

Il s'est avéré que les pertes d'état supérieures ou égales à 1,5 étaient liées à un retard d'apparition des premières chaleurs post-vêlage (57 jours pour une perte de moins de 1,5 point contre 69 pour une perte supérieure ou égale à 1,5 point).

Une deuxième étude réalisée en 2006 a permis d'affiner ces résultats (**PONSART et al**, **2006a**)

Lors de cette étude, l'intervalle vêlage-premières chaleurs a été significativement allongé pour une perte d'état supérieure ou égale à un point entre 0 et 30 jours post-partum (p<0.005), et par une NEC insuffisante lors des premières chaleurs (p<0.05) (tableau 4).

		Intervalle vêlage- premières chaleurs	Significativité
Perte de NEC entre	< 1 point	$57 \pm 4$ jours	
0 et 30 jours postpartum	≥ 1 point	+ 8 jours	P<0,00
NEC aux premières	≥ 2,5	$54 \pm 4$ jours	
chaleurs	] 1,5 - 2,5[	+ 5 jours	P<0,05
	≤1,5	+ 16 jours	

Tableau 4 : Influence de la perte d'état corporel entre 0 et 30 jours post-partum et de la NEC lors des premières chaleurs sur l'intervalle vêlage-premières chaleurs (PONSART et al, 2006b).

## 1.5-l'intervalle entre le vêlage et la période ovulatoire:

Dans une étude réalisée sur 13 vaches ovariectomisées, les signes comportementaux ont été observés lors de 6 œstrus déclenchés successifs. (BRITT et al, 1986)

Les premiers œstrus ont eu lieu en moyenne à 54 jours post-partum et les derniers à 194 jours post-partum. Le nombre total de chevauchements a été significativement différent (p<0,01) entre les 6 périodes œstrales successives : de  $2,6 \pm 0,6$  lors de la première à  $6,9 \pm 1,0$  lors de la dernière.

Aucun autre signe comportemental n'a été influencé par le rang de l'œstrus. Ces résultats sont concordants avec ceux d'une autre étude dans laquelle les premières ovulations post-partum ont été significativement moins associées à des manifestations comportementales que les deuxième ou troisième ovulations post-partum (34,4% contre 71,9% et 83,3%, p<0,01).

#### (NEBEL et MCGILLIARD, 1993b)

On peut remarquer que, dans cette dernière étude, les vaches utilisées étaient toutes en balance énergétique négative.

Par ailleurs, le nombre d'acceptations de chevauchement ainsi que leur durée sont plus faibles au cours de la première ovulation. (DISENHAUS et al, 2003).

### 1.6-l'état de santé:

Les vaches présentant des affections des pieds et des membres ont une activité de chevauchement restreinte et acceptent moins souvent le chevauchement. (DISKIN et SREENAN, 2000)

De plus, elles peuvent également accepter le chevauchement alors qu'elles ne sont pas en œstrus si s'échapper leur est trop douloureux.

De même, la présence d'une pathologie post-partum (métrites, mammites...) allonge de manière significative l'intervalle vêlage-premières chaleurs (p<0,001). (PONSART et al, 2006b)

#### 1.7-La taille du follicule pré-ovulatoire:

La taille du follicule pré-ovulatoire peut être vue comme un indicateur de sa capacité fonctionnelle. (VANEERDENBURG et al, 2002)

Or la production d'œstradiol pourrait être altérée dans des follicules de mauvaise qualité ce qui aurait pour conséquence une diminution de l'expression des chaleurs. (LYIMO et al 2000) Cependant, une étude réalisée sur 100 vaches laitières n'a pas permis de montrer de corrélation entre la taille des follicules pré-ovulatoires et le score comportemental.

(VANEERDENBURG et al, 2002)

## 1.8-Le caractère de la vache:

Une étude réalisée sur un troupeau de vaches laitières observé en continu a permis de mettre en évidence différents caractères. (DISENHAUS et al, 2003)

Certaines vaches sont très réceptrices, vont peu vers les autres et acceptent souvent le chevauchement tandis que d'autres sont plutôt actives, acceptent plus difficilement le chevauchement et sont à l'origine des interactions sexuelles.

Tous les stades intermédiaires entre ces 2 catégories existent.

### 2-Les facteurs extrinsèques :

#### 2.1-La nature du sol :

La nature du sol joue un rôle relativement important dans la manifestation des chaleurs. Ainsi, plusieurs auteurs ont étudié l'influence d'un sol en béton et d'une aire paillée sur l'expression des comportements d'æstrus.

Dans une première étude publiée en 1986, 13 vaches laitières ont été ovariectomisées afin de contrôler leur cycle œstral. (BRITT et al, 1986)

L'œstrus était déclenché par une injection intramusculaire de benzoate d'œstradiol chez 3 vaches simultanément (de manière à éviter un suboestrus dû à un nombre insuffisant de vaches en chaleurs au même moment).

Lors de chaque induction d'œstrus, les vaches étaient transférées vers 2 sites tests : une aire paillée et une aire bétonnée. Les chevauchements et acceptations de chevauchement étaient alors observés durant 30 minutes sur chaque site, 3 fois à 8 heures d'intervalle. Le taux de détection des chaleurs a été significativement plus élevé sur aire paillée que sur aire bétonnée

((91,3% contre 76,8%, p<0,05), de même que la durée de l'æstrus (p<0,01) et le nombre de chevauchements (p<0,01) et d'acceptations de chevauchement (p<0,01) (tableaux 5 et 6).

	Nature d	u sol
	Aire paillée	Aire bétonnée
Durée moyenne de l'æstrus	$13.8 \pm 0.6$ heures	$9,4 \pm 0,8 \text{ heures}$
Nombre total moyen de chevauchements lors d'une observation	$7,0 \pm 0,6$	$3,2 \pm 0,3$
Nombre total moyen d'acceptations de chevauchement lors d'une observation	$6,3 \pm 0,5$	$2,9 \pm 0,3$

Tableau 5 : Moyennes des activités œstrales sur aire paillée et aire bétonnée (BRITT et al, 1986)

	Comportements observés sur aire :					
	Bétonnée uniquement Paillée uniquement					
Acceptations de	2	12				
chevauchement						
Chevauchements	1	7				

Tableau 6 : Manifestation des chevauchements et acceptations chevauchement sur aire paillée et aire bétonnée (BRITT et al, 1986)

Une seconde étude s'est déroulée en 1990 avec 7 vaches laitières ovariectomisées. (VAILES et BRITT, 1990)

Leur cycle était à nouveau contrôlé par des éponges de progestérone et des injections de benzoate d'œstradiol. Sur les 7 vaches, 2 ont été sélectionnées dès le début de l'expérimentation pour servir de vaches « attachées » (vaches A et B). Chacune de ces 2 vaches était attachée par une corde de 1,5 m de long à une aire paillée ou à une aire bétonnée reliées entre elles et de tailles égales. 4 cas de figures ont été testés lors des 4 jours d'expérimentation :

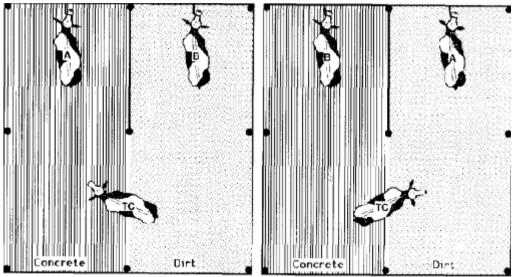
- A et B en œstrus simultanément.
- A en œstrus uniquement.
- B en œstrus uniquement.
- Ni A ni B en œstrus.

Lors de chacun des 4 jours de test, l'æstrus était déclenché chez les 5 autres vaches ovariectomisées (TC pour « test cows ») qui étaient observées pendant 2 périodes de 30 minutes (figure 10):

- La première lorsque la vache A était attachée sur l'aire bétonnée et la vache B sur l'aire paillée
- La seconde lorsque la vache B était attachée sur l'aire bétonnée et la vache A sur l'aire paillé

Période de test 1

période de test 2



Concrète : aire bétonnée

Dirt : aire paillée

Figure 10: Schéma de la zone de test avec les vaches « attachées » (A et B) et la vache test (TC) (VAILES et BRITT, 1990)

Le nombre de tentatives de chevauchement réalisées par les vaches « tests » a été significativement plus élevé sur l'aire paillée que sur l'aire bétonnée (p<0,05) quel que soit le statut des vaches A et B (en œstrus ou non). De la même manière, les vaches « tests » ont passé significativement plus de temps sur l'aire paillée que sur l'aire bétonnée (p<0,05) (tableau 7).

La nature du sol n'a eu par contre aucune influence sur la manifestation des signes secondaires. Ceci bien que la somme des signes secondaires exprimés pendant une période de 30 minutes ait été plus importante sur l'aire paillée que sur l'aire bétonnée lorsque les 2 vaches A et B étaient en œstrus simultanément  $(9,2\pm1,6\ \text{contre}\ 4,7\pm1,5)$ .

	Nombre m	•	Temps passé sur chaque aire par période de 30 minutes		
	période de 30 minutes		P - 10 u 0 u 0 0 11111		
Statut des vaches A et	Aire	Aire	Aire paillée	Aire bétonnée	
В	paillée bétonnée				
A et B en æstrus	$3,2 \pm 0,8$ $1,2 \pm 0,4$		$20,4 \pm 2,6 \text{ min}$	$9.6 \pm 2.6 \text{ min}$	
Ni A ni B en œstrus	0,0 0,0		$23,5 \pm 2,9 \text{ min}$	$6.5 \pm 2.9 \text{ min}$	
Vache en œstrus sur	$1,5 \pm 0,7$	$0,1 \pm 0,1$	$23.9 \pm 2.8 \text{ min}$	$6.1 \pm 2.1 \text{ min}$	
l'aire paillée					
Vache en œstrus sur	$0.2 \pm 0.2$ $0.8 \pm 0.4$		$18,6 \pm 3,1 \text{ min}$	$11,4 \pm 3,1 \text{ min}$	
l'aire bétonnée					

Tableau 7: Influence de la nature du sol et du statut œstral des vaches « attachées » sur le temps passé sur chaque surface et le nombre de chevauchements lors d'une observation de 30 minutes (VAILES et BRITT, 1990)

## 2.2-Le nombre de vaches en œstrus simultanément :

La plupart des études s'accordent sur le fait que l'expression comportementale lors de l'œstrus est meilleure lorsque le nombre de vaches simultanément en chaleur augmente. Il existe également des partenaires privilégiés. (DISENHAUS et al, 2003)

Lors de l'étude citée ci-dessus, le statut œstral des vaches « attachées » a été l'un des facteurs principaux influençant la manifestation de signes comportementaux (p<0,01). **(VAILES et BRITT, 1990)** 

Ainsi lorsque la seule vache en œstrus était située sur l'aire paillée, les chevauchements étaient 15 fois plus nombreux sur l'aire paillée que sur l'aire bétonnée tandis qu'ils étaient 4 fois plus nombreux sur l'aire bétonnée que sur l'aire paillée lorsque la seule vache en œstrus était située sur l'aire bétonnée (tableau 7). De même, les autres manifestations comportementales observées ont été significativement influencée par le statut œstral des vaches attachées (p<0,05) (tableau 8).

	Nbre mo	yen de le la vulve <sup>a</sup>	Nbre moyen de lécher de la vulve ou du corps <sup>a</sup>		Nbre moyen de poser de tête sur la croupe <sup>a</sup>	
Statut des	Aire Aire		Aire	Aire	Aire	Aire
vaches A et B	Paillée Bétonnée		Paillée	Bétonnée	Paillée	Bétonnée
Vache en œstrus	$0.9 \pm 0.3$ $0.3 \pm 0.1$		$0,7 \pm 0,4 \ 0$	0	2,8±0,9	$0.4 \pm 0.3$
sur l'aire paillée	ée					
Vache en œstrus	$0.6 \pm 0.4$ $0.7 \pm 0.3$ 0		0	$0,4 \pm 0,3$	0,5±0,3	$3,5 \pm 1,4$
sur l'aire						
bétonnée						

a : par période de 30 minutes

Tableau 8 : Influence de la nature du sol et du statut œstral des vaches attachées sur la manifestation des signes comportementaux autres que les chevauchements (VAILES et BRITT, 1990)

Dans une seconde étude réalisée sur 67 vaches laitières, l'observation des comportements d'œstrus 30 minutes toutes les 3 heures a permis le calcul de scores comportementaux. (ROELOFS et al, 2005a)

Les scores comportementaux moyen et maximal acquis au cours d'une période d'observation ont été plus élevés lorsque plus de 2 vaches étaient en œstrus simultanément que lorsqu'une seule vache était en chaleur. Il en a été de même pour le score comportemental total acquis au cours d'une période œstrale. Ceci est à relier à l'augmentation de fréquence de certains signes secondaires. La fréquence des appuis de tête sur la croupe et des tentatives de chevauchement tendait ainsi à être plus élevée quand plus de 2 animaux étaient en chaleurs simultanément que lorsqu'un seul animal l'était. Ces résultats sont en contradiction avec ceux d'une étude antérieure dans laquelle le nombre de signes sexuels secondaires n'était pas influencé par le nombre de vaches en œstrus au même instant.(KERBAT et DISENHAUS, 2004)

L'augmentation du nombre de vaches en œstrus simultanément a également eu pour conséquence une augmentation significative du pourcentage de phases œstrales avec observation de tentatives de chevauchement (p<0,05), de chevauchements non acceptés (p<0,01) et d'acceptations de chevauchement (p<0,01) (tableau 9).

Comportements	Une seule vache en		2 vaches en o	estrus	Plus 2 vaches	s en
Observés	œstrus				œstrus	
	Nombre <sup>a</sup>	Pourc <sup>b</sup>	Nombre <sup>a</sup>	Pourc <sup>b</sup>	Nombre <sup>a</sup>	Pourc <sup>b</sup>
Renifler/lécher	$28,9 \pm 19,3$	100	$23,3 \pm 16,9$	100	$26,0 \pm 17,3$	100
De la vulve						
Poser de tête sur la	$18,8 \pm 14,2$	100	$24,0 \pm 20,1$	100	$30,2 \pm 18,0$	100
croupe						
Chevauchement	$2,4 \pm 2,2$	20	$3,1 \pm 3,3$	66	$3,4 \pm 2,5 \ 75$	75
Non accepté						
Tentative de	$4,1 \pm 3,7$	76	$5,5 \pm 4,9$	92	$7,8 \pm 6,2$	100
Chevauchement						
Chevauchement	$2,3 \pm 1,5$	16	$3,9 \pm 3,1$	19	$3,0 \pm 2,1$	32
Par la tête						
Acceptation de	$3,6 \pm 3,1 \ 2$	20	$3,3 \pm 3,1$	69	$5,9 \pm 5,2$	79
chevauchement						

a : nombre moyen par période œstrale

Tableau 9 : Influence du nombre de vaches en œstrus simultanément sur la manifestation des signes comportementaux (ROELOFS et al, 2005a)

#### 2.3-Les facteurs environnementaux:

Des facteurs environnementaux liés aux saisons tels que le temps, la photopériode et la température ambiante peuvent avoir une influence sur l'expression des comportements d'œstrus. (ORIHUELA, 2000)

Dans une première étude publiée en 1983, les températures environnementales maximales ont eu une influence significative sur le nombre d'acceptations de chevauchement par heure lors de la première observation d'æstrus. (GWAZIDAUSKAS et al, 1983)

Ainsi, le nombre d'acceptations a augmenté jusqu'à 25°C puis a diminué à partir de 30°C. Ceci suggère que l'activité œstrale est maximale lorsque les températures sont situées dans la zone de confort des animaux.

Dans une étude publiée en 1985, 2 groupes de 73 vaches ont été observées en continu, l'un pendant 96 heures par temps froid (température moyenne de  $1,3 \pm 1,2$ °C) et l'autre pendant 120 heures par temps chaud (température moyenne de  $25 \pm 0,5$ °C).(BENNINGTON et al, 1985)

La durée entre la première et la dernière acceptation de chevauchement a été significativement plus longue par temps chaud que par temps froid (p<0,01). De même les activités reçues par les vaches tendaient à être plus nombreuses par temps chaud (p<0,1).

b : pourcentage de phases œstrales où le signe comportemental a été observé

Les chevauchements et tentatives de chevauchement ont toutefois représenté une part plus importante des activités œstrales totales par temps froid (p<0,01).

Ces résultats n'ont pas été confirmés par une autre étude dans laquelle des températures s'étalant de 3,9°C à 21,6°C n'ont eu aucune influence sur les activités de chevauchement et d'acceptation de chevauchement. (BRITT et al, 1986).

### 2.4-Le moment de la journée:

Dans une étude publiée en 1983, des groupes de 20 à 40 vaches ont été observés 2 heures le matin (entre 8 et 10 heures) et le soir (entre 20 et 22 heures). (GWAZIDAUSKAS et al, 1983).

Lors de la première observation d'œstrus, le nombre d'acceptations de chevauchement par heure a été significativement plus élevé le soir que le matin  $(7,7 \pm 0,3 \text{ contre } 6,0 \pm 0,2)$  bien que 61% des animaux aient été vus en œstrus pour la première fois entre 8 heures et 10 heures. Des résultats identiques avaient été trouvés dans une étude antérieure (SILVA et al, 1981). Et pourraient être dus à la réduction des activités humaines la nuit.

Une étude réalisée en 1998 a montré que 70% des acceptations de chevauchement avaient lieu entre 19h et 7h, ce qui suggère que les vaches sont plus enclines à exhiber des comportements d'œstrus lorsqu'elles ne sont pas distraites par une autre activité (alimentation, traite...). (DRANSFIELD et al, 1998).

Ces résultats sont cependant contraires à ceux trouvés dans une étude réalisée à l'aide du système heatwatch<sup>®</sup> dans laquelle les acceptations de chevauchement étaient réparties de manière uniforme lors de la journée lorsqu'elles étaient regroupées dans 4 périodes de 6 heures. (XU, 1998).

Ces 2 études ont également révélé que le début et la fin de l'æstrus n'étaient pas influencés par la période de la journée.

#### V-La détection de l'œstrus chez la vache laitière:

Traditionnellement, les inséminations artificielles suivent la loi du « matin-soir » établie en 1948 (WALKER et al, 1996; SAUMANDE, 2001) : toute vache vue en chaleur le soir est inséminée le lendemain matin et toute vache vue en chaleur le matin est inséminée le soir. Plus récemment, 2 études ont permis de réduire la durée de la période optimale pour les inséminations artificielles :

- Une étude réalisée à l'aide du système heatwatch<sup>®</sup> a permis de montre que la période la plus favorable aux inséminations artificielles était située entre 4 et 12 heures après la première acceptation du chevauchement (**DRANSFIELD** et al.1998).
- Ceci a été confirmé par une autre étude réalisée à l'aide de podomètres, les résultats ont permis de montrer que la période la plus favorable aux inséminations artificielles se situait entre 6 et 14 heures après une augmentation d'activité de plus de 100% (RORIE et al. 2002).

Cette fenêtre de 8 heures étant relativement courte, une bonne détection des chaleurs est donc indispensable afin de maximiser le taux de réussite lors des inséminations artificielles.

## 1-l'observation du troupeau:

Comme vu dans l'IA, de nombreux comportements plus ou moins spécifiques sont présents pendant la période de l'œstrus. La détection de l'œstrus chez la vache laitière passe donc le plus souvent par leur observation au sein même du troupeau.

### 1.1-l'observation de l'acceptation du chevauchement:

Le seul comportement spécifique de l'œstrus est le réflexe d'immobilisation lors d'une tentative de chevauchement par un taureau ou une autre vache du troupeau. Il s'agit donc du signe le plus utilisé pour détecter les chaleurs.

Ce signe n'est toutefois pas facile à repérer au sein d'un troupeau. D'une part, il n'est pas exprimé par l'ensemble des vaches. D'autre part, il s'agit d'un signe relativement fugace même lorsqu'il a lieu :

- Le temps total passé à accepter le chevauchement lors d'une
- Période ovulatoire varie de 10 à 15,5 secondes selon les auteurs ce qui est très court pour une période qui s'étend sur plusieurs heures (PIGGOTT et al, 1996; TIMMS, 1997).
- 57,3% des vaches acceptent le chevauchement moins d'une fois et demie par heure lors de leur œstrus (DANSFIELD et al, 1998) (tableau 10). La détection est donc d'autant plus compliquée si l'æstrus est court.

Œstrus court <sup>a</sup> et peu intense <sup>c</sup>	Œstrus long <sup>b</sup> et peu intense	<b>Estrus court et</b> intense <sup>d</sup>	Oestrus long et intense
24,1%	33,2%	34,3%	8,4%

a: œstrus court = œstrus dont la durée est strictement inférieure à 7h

b: œstrus long = œstrus dont la durée est strictement supérieure ou égale à 7h

c: œstrus peu intense = œstrus au cours duquel ont eu lieu strictement moins de 1,5 acceptations de chevauchement par heure

d: œstrus intense = œstrus au cours duquel ont eu lieu au moins 1,5 acceptations de chevauchement par heure

Tableau 10 : Distribution des périodes d'œstrus caractérisées par leur intensité et leur durée grâce au système heatwatch® (DANSFIELD et al, 1998).

L'acceptation du chevauchement seule permet de détecter 60% des chaleurs si elle est systématiquement observée (DISENHAUS et al, 2003).

Mais ceci nécessite une observation continue du troupeau incompatible actuellement avec la gestion d'un élevage. Elle permet en pratique de détecter 12% à 59% des œstrus suivant le temps passé dans le troupeau. **Le tableau 11** résume le pourcentage de détection des acceptations de chevauchement en fonction du temps passé à observer le troupeau.

Observation du troupeau	Acceptations du chevauchement détectées			
En continue	Pour 59% des vaches (DISENHAUS et al, 2003)			
30 minutes toutes les 2 heures	Lors de 37% des œstrus (VAN EERDENBURG F.J.M et al, 1996)			
30 minutes toutes les 3 heures	Lors de 53% des œstrus (LYIMO et al, 2000) Lors de 58% des œstrus (ROELOFS et al, 2005)			
3 fois 30 minutes par jour	Lors de 12% des œstrus (VANEERDENBURG F.J.M et al, 1996)			
2 fois 30 minutes par jour	Pour 24,5% des vaches (HERES et al, 2000) Pour 50% des vaches (VAN EERDENBURG et al, 2002)			

# Tableau 11: Récapitulatif des pourcentages de détection d'æstrus en fonction du temps passé à l'observation du troupeau.

Cette sensibilité relativement faible a conduit au développement de l'utilisation des signes secondaires pour la détection des chaleurs.

#### 1.2-l'observation des signes secondaires:

Lors d'une étude réalisée dans un troupeau observé en continu, une observation de 4 comportements secondaires initiés en un quart d'heure a permis de détecter 38 vaches sur 38 avec un faux positif (**DISENHAUS** et al, 2003).

L'observation de 5 comportements secondaires initiés en un quart d'heure a permis de détecter 36 vaches sur 38 sans faux positif.

Mais cette méthode nécessite encore une fois l'observation continue du troupeau.

Une grille de pointage des signes secondaires a été élaborée (tableau 12) (VAN EERDENBURG F.J.M et al, 1996).

Cette grille attribue à chaque signe secondaire initié un nombre de points en fonction de sa spécificité dans la détection de l'œstrus. Pour ce faire, un troupeau a été observé 30 minutes toutes les 2 heures pendant 6 semaines afin de recenser les différents signes secondaires présents pendant l'æstrus et le di-œstrus.

Signe secondaire initié observé	Nombre d'observ	ations	Points attribués	
	Œstrus	Di-œstrus		
Présence de mucus à la vulve	13	44	3	
Cajole ment	34	69	3	
Agitation	73	21	5	
Chevauchement sans acceptation	28	24	10	
Renifler/lécher de la vulve	246	113	10	
Poser de tête sur la croupe	228	54	15	
Tentative de chevauchement	218	5	35	
Tentative de chevauchement par la tête	11	0	45	
Acceptation du chevauchement	34	0	100	

Tableau 12: Grille de pointage des signes secondaires (d'après VAN EERDENBURG F.J.M et al, 1996).

Cette grille de pointage permet d'attribuer à chaque vache un score comportemental égal à la somme des points attribués aux signes secondaires exprimés pendant une période donnée. Lorsque ce score atteint un seuil défini, la vache est considérée en chaleur.

Dans une première étude, un seuil de 100 points associé à une observation du troupeau 30 minutes toutes les 2 heures pendant 24 heures a permis de détecter 100% des chaleurs avec une spécificité de 100% (VAN EERDENBURG F.J.M et al, 1996).

Un seuil de 50 points associé à 2 périodes d'observation de 30 minutes (à 10h et 20h) a permis de détecter 74% des chaleurs sans faux positif.

Une deuxième étude a tenté de vérifier la spécificité de cette méthode en l'appliquant à des vaches gravides (DIJKHUIZEN et VAN EERDENBURG, 1997).

Les vaches étaient observées 30 minutes toutes les 2 heures et il est apparu que 3,1% des vaches gestantes auraient été considérées en chaleur si le seuil avait été placé à 100 points. Si ce seuil avait été abaissé à 50 points, 10,8% des vaches auraient été considérées en œstrus. Ce résultat doit cependant être nuancé. D'une part, l'observation du troupeau ne peut être réalisée pendant 30 minutes toutes les 2 heures par un éleveur et certaines des vaches considérées en chaleur dans l'étude ne l'auraient pas été dans un élevage. Par ailleurs, la plupart des animaux de l'étude ont montré des signes secondaires de chaleur vers le milieu de la gestation. Lors de

cette période, il est facile pour l'éleveur de vérifier si l'animal présentant des comportements d'œstrus est gravide ou non et ainsi de savoir s'il est en période d'œstrus.

Dans une troisième étude réalisée dans plusieurs troupeaux, le taux de détection a chuté à 47% avec un seuil de 50 points atteint lors de 2 observations de 30 minutes consécutives (HERES et al, 2000).

Cette valeur est bien inférieure à celle obtenue par VAN EERDENBURG selon les mêmes critères. Mais cette étude s'est déroulée dans des conditions réelles d'élevage et non dans un centre d'expérimentation. Ceci a pu engendrer un certain nombre de biais (non-respect de la durée de 30 minutes, difficulté de compréhension et de mise en place de la méthode, isolement des animaux en chaleur avant les périodes d'observations...) qui peuvent expliquer ce résultat. L'excellente spécificité de la méthode a toutefois été confirmée par une valeur prédictive positive de 96% lorsque le seuil était placé à 100 points pour 2 observations consécutives de 30 minutes. Les signes et les points attribués à chaque signe peuvent être sujets à discussion (VAN EERDENBURG F.J.M et al, 1996).

L'agitation est ainsi un signe relativement subjectif dont la quantification ou même l'appréciation sont différentes en fonction des éleveurs. De même, la présence d'un filet de mucus n'est pas toujours observée en stabulation libre d'où le faible nombre de points attribués à ce signe. Mais lorsque la longueur de ce filet atteint 50 cm, la vache peut être considérée en chaleur sans autre signe apparent.

## 2-Les outils spécifiques d'aide à la détection des chaleurs:

Avant toute chose, il est nécessaire de préciser les qualités d'un outil de détection à savoir la sensibilité, la spécificité et l'exactitude. Pour ce faire, **le tableau 13** résume le principe général d'un outil de détection.

	Test positif	Test négatif
Animal en œstrus	Vrai Positif (VP)	Faux Positif (FP)
Animal en phase lutéale	Faux Négatif (FN)	Vrai Négatif (VN)

Tableau 13 : Principe général d'un outil de détection de l'æstrus chez la vache laitière.

- La sensibilité d'un test est égale à : VP/ (VP+FN).
- La spécificité est égale à : VN/ (VN+FP)
- L'exactitude est égale à : (VP+VN)/ (FP+FN)

Il existe actuellement de nombreux outils ne permettant pas de s'affranchir de l'observation du troupeau mais offrant une aide à la détection de l'œstrus.

Le système de détection idéal devrait (SENGER, 1994) :

- Permettre une surveillance continue du troupeau ce qui inclut une source d'énergie fiable et un moyen de fixation correct pour permettre une bonne sensibilité.
- Permettre une identification automatique et précise de l'animal en œstrus. Les animaux doivent donc être identifiés électroniquement de façon permanente.
- Etre utilisable tout au long de la vie de l'animal. Ceci pourrait être permis par des dispositifs implantés chirurgicalement.
  - Nécessiter un travail minimal voire nul.
  - Permettre une détection précise de la modification comportementale.
  - Ou physiologique recherchée pour permettre une bonne spécificité.

## 2.1-Le planning d'élevage:

Le planning d'élevage est un planning de reproduction permettant la visualisation de l'état physiologique de l'ensemble des vaches du troupeau.

Il s'agit le plus souvent d'un planning rotatif dont l'utilisation est un peu complexe mais dont le principe est relativement simple : chaque vache est représentée par une épingle sur laquelle figure son numéro et cette épingle migre sur le tableau en fonction de l'état physiologique de la vache en question.

Le planning est organisé comme suit :

- Il est tout d'abord divisé en 12 mois, eux-mêmes divisés en jours. La ligne verticale partant du centre du cercle pour aboutir en haut matérialise le jour présent et le planning tourne dans le sens des aiguilles d'une montre.
- Il est ensuite divisé en cercles concentriques qui matérialisent, de l'extérieur vers l'intérieur, les différentes étapes du cycle de reproduction d'une vache dans l'ordre chronologique : vêlage, chaleurs observées puis inséminations artificielles.
- Enfin, différentes lignes partant du centre du cercle matérialisent des périodes clefs du suivi de reproduction des vaches : les retours en chaleurs (J21, J42 et J63), les dates attendues de tarissement et de vêlage ainsi que J50 (date où chaque vache doit avoir été vue en chaleur au moins une fois).

Ce planning rotatif permet donc de connaître le moment du cycle dans lequel se trouve une vache donnée et de focaliser l'attention de l'éleveur sur des périodes clefs tels que les retours en chaleurs. Une liste journalière des vaches attendues en chaleurs peut ainsi être créée et aider à la détection (NEBEL, 2003).

#### 2.2-Les détecteurs de chevauchement:

De nombreux détecteurs de chevauchement existent, du simple crayon marqueur au détecteur de chevauchement électronique à distance.

#### 2.2.1-Les crayons marqueurs:

Les crayons marqueurs sont utilisés afin de réaliser une bande de couleur (souvent 20cm de long et 5 cm de large) en avant de la base de la queue où elle peut être effacée par un éventuel chevauchement. Une vache est ainsi considérée en chaleur lorsque la bande colorée est largement enlevée ou étalée.

Il s'agit d'un dispositif peu onéreux mais dont la durée de vie est relativement courte. Les bandes doivent ainsi être fréquemment refaites.

Une première étude réalisée en France sur 110 vaches laitières a permis de mettre en évidence l'impact de l'utilisation des bandes colorées (**THIBIER et al, 1983**).

Dans cette étude, 2 groupes de vaches ont été observés pendant deux années consécutives :

- Le groupe 1 constitué de vaches n'ayant subi aucune insémination artificielle et n'ayant pas plus de 60 jours post-partum.
- Le groupe 2 constitué des vaches ayant reçu une ou plusieurs inséminations artificielles

La première année, la détection des chaleurs a été assurée uniquement par les éleveurs grâce à une surveillance biquotidienne du troupeau. La deuxième année, une lecture des bandes colorées réalisée par les expérimentateurs a été rajoutée. La combinaison de ces 2 méthodes a permis :

- Une augmentation de 26% de la détection des chaleurs dans le groupe 1 (de 62 à 88%) et de 22% dans le groupe 2 (de 45 à 67%).
- La détection de 92% des 168 ovulations attendues dans le groupe 1 (avec une spécificité supérieure à 97%) et de 86% des 163 ovulations attendues dans le groupe 2 (avec une spécificité de 95%).

Dans une seconde étude réalisée en Nouvelle-Zélande sur 2 troupeaux de 150 et 190 vaches laitières, l'association de 2 périodes de surveillance de 20 minutes (à 5h30 et 15h30) et d'une surveillance de la disparition des bandes colorées pendant la traite a permis une excellente détection des chaleurs avec une sensibilité de 98,4% et une spécificité de 97,6% (XU et al, 1998).

Ces résultats sont toutefois à nuancer dans la mesure où les troupeaux faisaient partie d'élevages extensifs peu représentatifs de la majorité des troupeaux rencontrés en France et où les vachers Néo-zélandais ont une grande expérience de la lecture des bandes de couleur.

## 2.2.2-Les détecteurs mécaniques de chevauchement:

Les détecteurs mécaniques de chevauchements sont des dispositifs contenant une poche transparente englobant un réservoir opaque rempli d'encre rouge. Sous la pression d'un chevauchement, le réservoir éclate et l'encre diffuse dans la poche transparente qui devient alors colorée voire luminescente.

Deux détecteurs sont principalement répandus : Kamar<sup>®</sup> (figures 11 et 12) et oestruflash<sup>®</sup> (SAUMANDE, 2000).

La coque du réservoir de l'oestruflash<sup>®</sup> est plus rigide, ce qui limite les déclenchements par excès. Son encre est également phosphorescente pendant une douzaine d'heures ce qui permet de bien le visualiser dans l'obscurité.



Figure 11 : Capsule Kamar<sup>®</sup>.





Figure 12: Capsule Kamar® fixée sur la croupe, avant et après chevauchement (SAINT-DIZIER, 2005).

Il 'existe pas d'études récentes sur l'efficacité de ces 2 systèmes. Lors d'une étude réalisée sur 170 vaches laitières en 1972, l'utilisation du système Kamar<sup>®</sup> lors de l'observation du

troupeau a permis la détection de plus de 90% des vaches en œstrus contre seulement 56% pour une observation classique du troupeau par les éleveurs (WILLIAMSON et al, 1972). Les dispositifs Kamar<sup>®</sup> étaient considérés comme positifs lorsqu'ils étaient entièrement rouges (42 cas sur 57) ou lorsqu'ils étaient absents (15 cas sur 47). Un dispositif Kamar<sup>®</sup> n'ayant pas complètement viré était considéré comme négatif. Une seule vache ayant un Kamar<sup>®</sup> positif n'était pas en œstrus et a donc constitué le seul faux positif de l'étude.

L'utilisation des détecteurs mécaniques de chevauchement pose toutefois un certain nombre de problèmes (WILLIAMSON et al, 1972; SAUMANDE, 2000).

D'une part, la perte de ces dispositifs est relativement fréquente (de 12 à 25%). D'autre part, bien qu'ils ne soient pas censés se déclencher lors d'une pression peu importante ou de courte durée (appui de menton, bousculade...), ils ne peuvent faire la différence entre un chevauchement et une pression anormalement longue (croupe appuyée contre un mur lors d'un repos par exemple). Ainsi, dans une étude réalisée sur 4515 vaches inséminées après détection des chaleurs par le système Kamar<sup>®</sup>, 10,6% avaient des concentrations de progestérone dans le lait caractéristiques d'une phase lutéale.

Enfin, lorsqu'ils sont effectivement déclenchés par un chevauchement, ils ne permettent pas de connaître l'heure de celui-ci (bien que la phosphorescence d'oestruflash<sup>®</sup> soit limitée dans le temps). Un troisième type de détecteur a récemment été fabriqué : la vignette estrusalert<sup>®</sup>. Il s'agit de vignettes autocollantes recouvertes d'une surface argentée qui disparait progressivement à chaque frottement et laisse apparaitre une sous-couche fluorescente. Il s'agit donc d'un détecteur semi-quantitatif dans la mesure où le nombre de chevauchements reçus par l'animal peut être évalué en fonction de la surface fluorescente mise à nue.

### 2.2.3-Les détecteurs électroniques de chevauchement :

Il existe enfin des détecteurs électroniques de chevauchement. Il s'agit de capteurs de pression placé dans une pochette résistant à l'eau fixée à un support textile en nylon, lui-même collé sur la croupe de l'animal à proximité de la queue (SAUMANDE, 2000; KASTELIC, 2001). Lorsque ce capteur enregistre une pression d'une intensité et d'une durée déterminées, l'éleveur est averti par l'intermédiaire d'un logiciel livré avec le dispositif ou d'une lumière présente celui-ci. Lors de la pose des détecteurs, il est important de prendre certaines précautions sous peine de les voir se décoller au premier chevauchement (collage correct, détecteurs en bon état...). En particulier, il est nécessaire de tondre l'animal sur la zone de pose en hiver car lors de la chute du pelage au printemps, celui-ci risque d'entraîner le système de détection.

Il existe actuellement 3 types de détecteurs électroniques de chevauchement :

• Le système DEC<sup>®</sup> commercialisé par une entreprise française sur lequel une lampe clignotante s'allume lorsqu'un chevauchement a lieu (SAUMANDE, 2000). Le nombre de flash lumineux dépend du temps écoulé depuis le chevauchement (un flash est rajouté toutes les 2 heures).

- Le système Mount Count&Trade commercialisé par une entreprise américaine sur lequel 3 lumières de couleurs différentes s'allument en fonction de l'évènement détecté (chevauchement unique, 3 chevauchements en moins de 4 heures) puis lors de la période où il est souhaitable de réaliser l'insémination (SAUMANDE, 2000).
- Le système heatwatch<sup>®</sup> commercialisé par la même entreprise américaine et qui semble être le plus utilisé actuellement (SAUMANDE, 2000; KASTELIC, 2001; RORIE et al, 2002). Dans ce système, le capteur enregistre les pressions d'une durée supérieure à 2 secondes dans une mémoire tampon contenue dans le dispositif. Les données issues de la mémoire (identification du détecteur, date et heure, durée du chevauchement) sont alors transmises par radio-transmission à un ordinateur où elles sont centralisées puis analysées par un logiciel qui dresse une liste des vaches potentiellement en œstrus (une vache est considérée en œstrus si plus de 3 chevauchements ont été enregistrés en moins de 4 heures). Il existe toutefois une limite dans la mesure où la transmission des données ne peut être faite que si la vache est située à moins de 400 mètres du récepteur relié à l'ordinateur.

Un quatrième système implanté en position sous cutanée(SQID), le système SQID, est actuellement en cours de développement (SENGER, 1994).

Ce système pourrait permettre de s'affranchir des problèmes liés à la pose et à la chute des dispositifs externes.

La plupart des études se rapportent au système heatwatch<sup>®</sup>, il sera donc pris comme exemple pour la suite.

Dans une étude préliminaire réalisée en 1997, la sensibilité et la spécificité de heatwatch® pour la détection des chaleurs ont été respectivement de 94 et 95% (KASTELIC 2001).

Dans une seconde étude réalisée en 1997 sur 71 vaches laitières, la sensibilité et la spécificité ont été respectivement de 89% et 88% de mai à octobre puis de 89% et 77% de novembre à avril (TIMMES et al, 1997).

Enfin, heatwatch<sup>®</sup> peut aussi être utilisé au pâturage. Dans une étude réalisée sur 2 troupeaux de 150 et 190 vaches en Nouvelle-Zélande, heatwatch<sup>®</sup> a permis la détection de 91,7% des chaleurs avec une spécificité de 100% (XU et al, 1998).

Il est à noter que le taux de conception est significativement plus bas chez les vaches inséminées après une seule acceptation de chevauchement enregistrée par heatwatch<sup>®</sup> que chez les vaches inséminées après plus d'une acceptation de chevauchement enregistrée (36% contre 46%, p<0,05) (DANSFIELD et al, 1998).

## 2.3-Les systèmes d'enregistrement de l'activité physique :

Ces systèmes sont basés sur l'augmentation de l'activité générale des vaches pendant la période des chaleurs. 2 types de dispositifs existent actuellement (SAUMANDE, 2000):

• Des dispositifs s'attachant au collier de l'animal. Lors d'une étude réalisée sur 255 vaches laitières, le système ALPRO<sup>®</sup> a permis la détection de 37,2% des chaleurs contre 48% pour le système heatwatch<sup>®</sup> (PERALTA et al, 2005).

• Des podomètres qui sont actuellement les dispositifs les plus utilisés. Les podomètres sont constitués d'une coque en plastique s'attachant au membre de l'animal et contenant une bascule au mercure qui enregistre les mouvements (AT-TARAS et SPAHR, 2001). Le site d'attache du podomètre (membre antérieur ou postérieur) n'a pas d'effet sur la mesure de l'activité (LIU et SPAHR, 1993).

Les données recueillies sont ensuite transmises à une unité centrale et l'analyse des informations permet de déterminer si la vache est en chaleur en fonction de valeurs de référence préétablies. Les différences d'activité entre les vaches sont importantes au sein d'un troupeau et l'analyse des informations est meilleure si ces valeurs de référence sont spécifiques de chaque vache et non prises pour l'ensemble du troupeau (KASTELIC, 2001). Des observations non publiées par LEWIS ont montré qu'un dispositif contenant un capteur piézoélectrique implanté chirurgicalement dans la région périnéale peut détecter les pas effectués par une vache (SENGER, 1994). Le développement d'un podomètre implantable est donc possible.

L'analyse des données du podomètre peut être réalisée selon 2 technologies (AT-TARAS et SPAHR, 2001) :

• Selon la technologie IAR : un ratio est calculé entre l'activité du jour et une activité moyenne (par exemple les activités de la veille et de l'avant-veille). Lorsque ce ratio dépasse un seuil défini, l'animal est considéré en chaleur.

Ce ratio peut ainsi être calculé comme suit :  $IAR = (2 \times D0) / (D-1 + D-2)$ Où D0 est l'activité moyenne pour les x dernières heures.

- ✓ **D-1** est l'activité movenne des x heures correspondantes de la veille.
- ✓ **D-2** est l'activité moyenne des x heures correspondantes de l'avant-veille.
- Selon la technologie IAC : le décompte du nombre de pas est enregistré et comparé à un seuil calculé pour chaque vache avec des normes différentes selon les études. Lorsque le décompte dépasse le seuil, l'animal est considéré en chaleur.

De nombreuses études ont été conduites afin dévaluer l'efficacité des podomètres dans la détection des chaleurs.

Une première étude a porté sur la technologie IAR (LIU et SPAHR, 1993). Elle avait pour but de définir un seuil convenable pour le ratio ainsi qu'une durée d'activité pendant laquelle ce dernier devait être calculé (tableau 14).

	Durée	2h		4h		>4h	
Seuils <sup>c</sup>		Nombre <sup>b</sup>	Pour- centage <sup>a</sup>	Nombre	Pour- centage	Nombre	Pour- centage
1,5	Détection	60	90,1%	57	86,4%	53	80,3%
	Faux-pos	95	100%	66	69,5%	47	49,5%
1,75	Détection	52	78,8%	49	74,2%	46	69,7%
	Faux-pos	37	38,9%	24	25,3%	13	13,7%
2	Détection	45	68,2%	40	60,6%	37	56,1%
	Faux-pos	15	15,8%	8	8,4%	6	6,3%

- a : Les pourcentages ont été calculés par rapport aux 66 périodes ovulatoires attendues et aux
- 95 faux-positifs présents lors de l'utilisation du seuil de 1,5 pendant 2 heures d'activité.
- b : Nombre de périodes ovulatoires détectées.
- c : Seuils utilisés pour la technologie IAR.

Tableau 14: Détection des chaleurs et faux positifs en fonction des seuils et durées d'activité utilisés dans le calcul du ratio (d'après LIU et SPAHR, 1993)

Les études ont ensuite portées sur la comparaison des 2 technologies (IAR et IAC). Dans une étude publiée en 2001, l'iac a été plus précise que l'iar pour détecter la période exacte de l'œstrus (LIU et SPAHR, 2001).

Elle a en effet détecté l'œstrus 2,6 heures plus tôt que l'iar, et a défini une période d'augmentation de l'activité plus courte qui correspondait à la période d'acceptation du chevauchement. De plus, l'iac a permis de la détection de 82,6% de 46 œstrus non provoqués et 90,6% de 53 œstrus provoqués, contre respectivement 87% et 79,2% pour l'iar. Ces résultats ont été confirmés par une étude réalisée sur 49 vaches laitières (ROELOFS et al, 2005), où différents seuils d'analyse ont été testés pour les 2 technologies. En ce qui concerne la technologie IAR, les 2 seuils étudiés ont permis la détection de 51% et 52% des chaleurs avec un pourcentage respectif de faux positifs de 40% et 14%. Les 3 seuils les plus élevés utilisés dans la technologie IAC (le premier était un seuil très bas) ont permis de détecter respectivement 87%, 83% et 79% des chaleurs avec 16%, 6% et 5% de faux positifs. On peut remarquer que les taux de détection sont relativement proches entre les podomètres et les détecteurs électroniques de chevauchement type heatwatch® (de l'ordre de 80%) (LIU et SPAHR, 2001).

#### 2.4-Les animaux détecteurs :

Les animaux détecteurs sont des animaux présents dans le troupeau dont le but est de détecter puis marquer les animaux en chaleur. Plusieurs types d'animaux sont utilisés (GIROUD, 2007):

- Des génisses.
- Des vaches androgénisées (vaches aux quelles on a injecté des androgènes responsables de l'apparition des comportements sexuels mâles).
- Des vaches nymphomanes (vaches présentant un taux d'œstrogènes élevé, dû fréquemment à un kyste folliculaire).
- Des taureaux vasectomisés, épididymectomisés ou avec déviation du pénis. L'utilisation d'un taureau est plus risquée pour l'éleveur, d'une part à cause de son agressivité naturelle et d'autre part car le risque de fécondation n'est pas nul si seule une déviation du pénis a été réalisée.

Pour marquer les vaches en œstrus, plusieurs systèmes existent :

- Le système le plus classique est un licol marqueur avec tampon encreur. Lors d'un chevauchement, une marque est déposée sur la croupe de l'animal chevauché.
- Un autre système a récemment été développé. Il s'agit d'un transpondeur placé sur les femelles et contenant des données d'identification pouvant être lues par un lecteur placé sur l'animal détecteur (BOCQUIER, 2004).

Son principe de fonctionnement est simple : lors d'un chevauchement, la puce électronique transmet un signal radio au lecteur qui enregistre le numéro de la femelle chevauchée ainsi que l'heure du chevauchement. Les données sont alors transmises à une unité centrale où elles sont analysées.

Ces puces électroniques appelées aussi RFID peuvent être injectées sous la peau, placées dans des boucles auriculaires ou dans des bolus ruminaux. Selon l'inra, le support le mieux adapté semble être le bolus ruminal. Le lecteur pourrait alors être placé entre les membres antérieurs du mâle pour une bonne lecture.

### 2.5-La mesure de la résistance électrique vaginale :

Comme vu précédemment, l'un des signes classiques de l'æstrus est une vulve humide et enflée (SENGER, 1994). Ceci est dû à des changements dans l'hydratation du mucus et du tractus vaginal sous l'effet des æstrogènes (SAUMANDE, 2000).

Il en résulte des modifications de la résistance électrique des tissus et des sécrétions de l'appareil génital. Ainsi la résistance électrique des sécrétions vaginales est très élevée lors de la phase lutéale puis diminue lors de la phase folliculaire pour atteindre un minimum lors de l'œstrus (SENGER, 1994) et plus précisément lors du pic pré-ovulatoire de LH (RORIE et al, 2002).

Une étude a été réalisée en 1988 sur un troupeau de 8 vaches laitières à l'aide d'électrodes bipolaires implantées chirurgicalement dans la muqueuse vulvaire (LEWIS et al, 1988; SAUMANDE, 2000).

Ces électrodes de 35 mm de long et 15 mm de diamètre transmettaient des données sur l'identification de la vache et la résistance électrique des tissus vulvaires à un ordinateur toutes les 20 minutes. Les résultats obtenus ont montré que le dispositif était biologiquement inerte, fiable électroniquement et permettait de détecter 90,6% des œstrus (29 œstrus détectés pour 32 œstrus attendus) avec une exactitude de 80%. Les modifications de la résistance électrique peuvent également être mesurées et suivies à l'aide d'électrode insérées dans la lumière du vagin (SENGER 1994; RORIE et al, 2002; SAINT-DIZIER2005).

Depuis 1998, une sonde appelée Ovatec<sup>®</sup> est commercialisée en France (figure 13).



Figure 13 : Sonde Ovatec® (SAINT-DIZIER, 2005)

Les mesures de résistances doivent être réalisées 2 fois par jour et débuter quelques jours avant le début présumé de l'œstrus ce qui représente un investissement en temps et un risque inflammatoire pour la muqueuse vaginale. Une résistance de 55 ohms a été proposée par le fabricant comme valeur seuil pour l'insémination. Mais il a été montré que la résistance des secrétions vaginales varie au cours des cycles successifs chez un même individu en particulier en fonction de l'involution utérine (ce qui pourrait permettre d'en réaliser le suivi). La résistance varie aussi en fonction des individus, de la position de la sonde dans le vagin, des infections vaginales et des réactions de l'animal lors de la lecture. Une valeur seuil unique semble donc inutile et doit être adaptée au cas par cas.

Testée sur 80 vaches laitières par **l'inra**, la sonde Ovatec<sup>®</sup> a permis d'atteindre un taux de réussite de 51% en première IA ce qui est équivalent à une détection visuelle des chaleurs **(SAINT-DIZIER, 2005)**. Ce système n'est donc pas à conseiller aux éleveurs dans sa forme actuelle.

#### 2.6-Les autres outils :

## 2.6.1-Mesure des variations de température autour de l'œstrus (SAUMANDE, 2000) :

Des variations péri-œstrales de la température corporelle des vaches ont été décrites. Quelques jours avant le début des chaleurs, une baisse de la température est observée avant que ne survienne un pic (augmentation de 0,3 à 1°C) généralement concomitant du début des acceptations de chevauchement. Comme ce pic peut être de courte durée, il est nécessaire d'assurer un suivi régulier des variations de température qui peut être réalisé par :

- Un système implanté dans le vagin : il a permis de détecter 17 œstrus sur 21 avec 3 faux positifs lors d'une étude réalisée sur des vaches laitières.
  - Un système implanté dans l'oreille : les essais n'ont pas donné de résultats probants.
- Le dispositif cowtemp<sup>®</sup> placé à vie dans le réseau de l'animal : Ce système enregistre la température de l'animal toutes les 30 minutes et est en cours d'évaluation.

#### 2.6.2-Les informations recueillies pendant la traite (SAUMANDE, 2000):

- Variation de la quantité de lait produit : comme vu précédemment, une vache produit moins de lait en période d'œstrus. Toutefois, la conclusion de la plupart des études qui se rapportent à ce critère est que cette baisse de production laitière ne permet pas une identification fiable d'un animal en chaleur. En effet, les mammites subcliniques peuvent potentiellement induire une baisse de production équivalente et sont relativement fréquentes .Une variation de la quantité de lait produit peut toutefois servir d'indice et attirer l'attention de l'éleveur.
- Elévation de la température du lait : au moment de l'œstrus, une augmentation de la température du lait (0,2-0,4°C) est observée dans 35 à 75% des cas. Mais pour un taux de détection de 50%, l'exactitude est seulement de 55% ce qui montre les limites de cette approche.
- Modification de la conductivité du lait : aucune donnée chiffrée n'existe sur cette méthode qui est pourtant avancée par les fournisseurs de matériel de traite.

#### 2.6.3-Détection des odeurs particulières présentes pendant l'æstrus :

Lors de l'œstrus, des odeurs particulières présentes dans le tractus urogénital et l'urine peuvent être détectées. 4 bergers Allemands et 2 Retrievers du labrador ont ainsi été entrainés à reconnaitre ces odeurs (KIDDY et al, 1978).

Ils ont alors fait l'objet de 3 séries de tests :

- Reconnaissance des odeurs des fluides issus du tractus urogénital. Pour ce faire des échantillons de fluides ont été prélevés grâce à des cotons plongés dans le vagin de vaches en période d'æstrus et de di-æstrus. Une paire d'échantillons, l'un recueilli en période d'æstrus et l'autre en période de di-æstrus, a alors été présentée aux chiens selon 5 modalités (la sensibilité est entre parenthèses) :
- ✓ Présentation répétitive de paires d'échantillons issus de la même vache (80,7%).
- ✓ Présentation en laboratoire de paires d'échantillons issus de 3 vaches différentes, les 2 échantillons présentés simultanément provenant de la même vache (68,1%).
- ✓ Même présentation que précédemment mais dans les environs d'une ferme et non dans un laboratoire (79,5%).
- ✓ Présentation de paires d'échantillons issus de 5 vaches différentes, les 2 échantillons présentés simultanément provenant de la même vache (80,7%).
- ✓ Présentation de paires d'échantillons issus de 5 vaches différentes, les 2 échantillons présentés simultanément pouvant provenir de la même vache ou de 2 vaches différentes (80,9%).
  - Reconnaissance des odeurs présentes dans l'urine à partir de cotons imbibés d'urine issue de vaches en période d'œstrus et de di-œstrus. Le taux global de détection correcte a été de 77,9%.
  - Détection de l'œstrus par examination directe des vaches. Seuls 4 chiens ont été utilisés lors de cette dernière série de tests (les 2 autres ne voulaient pas approcher les vaches).Le taux global de détection correcte a été de 87,3%.

#### 2.6.4- Dosage de la concentration en progestérone dans le lait (NEBEL, 1988) :

Des nombreux tests rapides de dosage de la progestérone dans le lait sont actuellement disponibles (Accufirm<sup>®</sup>, RPT<sup>®</sup>, B.E.S.T. <sup>®</sup>, Calf check<sup>®</sup>...). L'utilisation de ces tests peut avoir 2 intérêts dans la détection de l'æstrus :

- Identifier les erreurs lors de la détection des chaleurs : une utilisation importante des tests rapides est la vérification de la concentration en progestérone dans le lait de vaches ayant présenté des signes d'æstrus. En effet, bien qu'une concentration basse en progestérone dans le lait ne permette pas d'affirmer à elle seule qu'une vache est en chaleurs, une concentration haute permet de l'infirmer.
- La prédiction de l'œstrus : Plusieurs études ont été réalisées afin d'évaluer la possibilité de prévoir l'œstrus grâce à des tests rapides.

Dans une première étude, 2 groupes de 82 vaches ont été formés : un groupe était inséminé 2 jours après la chute de concentration en progestérone caractéristique de la lutéolyse (groupe 1), et l'autre groupe était inséminé après une détection classique des chaleurs (groupe 2). 80 vaches dans le groupe 1 et 58 dans le groupe 2 ont pu être inséminées pendant les 30 jours de

test. Le pourcentage de vaches présentant une concentration élevée en progestérone 24 jours après l'insémination était similaire dans les 2 groupes (64% dans le groupe 1 contre 67% dans le groupe 2).

Une seconde étude a montré que des dosages réalisés à J18, J20, J22, et J24 du cycle pouvaient prédire l'œstrus avec un haut degré de certitude. Des dosages réalisés à J19, J21 et J23 étaient aussi envisageables.

Enfin, dans une dernière étude, des dosages de progestérone dans le lait ont été réalisés une fois par semaine sur toutes les vaches vides d'un troupeau pouvant être inséminées. Les vaches qui présentaient une concentration élevée en progestérone ont alors reçu une injection de PGF2α suivie de 2 inséminations à 72 et 96 heures. Les vaches qui présentaient une concentration basse ont fait l'objet d'un nouveau dosage la semaine suivante et ont subi le même traitement si la concentration était devenue élevée. Cette méthode a permis d'obtenir un taux de gestation semblable à celui obtenu grâce à la détection des chaleurs tout en s'affranchissant du travail que nécessite cette dernière.

# 3- Simplifier la détection par la synchronisation des chaleurs (CHASTANT-MAILLARD et al, 2005) :

La synchronisation des chaleurs permet de simplifier voire de s'affranchir de la détection des chaleurs. Il existe plusieurs protocoles dont le choix se fait en fonction de la qualité de détection des chaleurs dans l'élevage et de l'état physiologique de la vache : cyclée ou non cyclée (une vache est dite cyclée lorsqu'elle a déjà ovulé et qu'il y a donc présence d'un corps jaune).

#### 3.1-Synchronisation des chaleurs par des prostaglandines :

Ce protocole consiste en l'injection de deux PGF2 $\alpha$  de 11 à 14 jours d'intervalle. La PGF2 $\alpha$  provoque la lyse d'un éventuel corps jaune en 24 heures si celui-ci est sensible, c'est-à-dire s'il est âgé de plus de 5 jours. Cette lutéolyse permet au follicule dominant de terminer sa croissance jusqu'à l'ovulation. Ce protocole n'est donc applicable que chez les femelles cyclées dans la mesure où il y a nécessité d'avoir la présence d'un corps jaune. La surveillance des chaleurs s'effectue après la deuxième injection de prostaglandine. En effet, quel que soit le moment du cycle de la première injection, il y a présence d'un corps jaune sensible lors de la deuxième injection :

• Si la première injection est faite alors qu'un corps jaune sensible est présent, il y a ovulation dans une période plus ou moins longue suivant l'injection. La durée de 11 à 14 jours entre les 2 injections permet donc au corps jaune issu de l'ovulation de se former puis de sortir de la période réfractaire à la PGF2α et donc d'être sensible lors de la deuxième injection. Les premières chaleurs observées après la première injection de PGF2α ne sont pas intéressantes dans ce cas, car ces chaleurs ne se produisent pas chez tous les animaux et ne permettent donc pas de synchroniser leurs chaleurs.

• Si la première injection est faite en l'absence de corps jaune (période autour de l'ovulation) ou lorsque le corps jaune est insensible à la PGF2α, aucune ovulation ne se produit. La durée de 11 à 14 jours entre les 2 injections permet alors la mise en place du corps jaune et/ou sa sortie de la période réfractaire à la PGF2α. La deuxième injection a donc bien lieu alors qu'un corps jaune sensible est présent.

Le délai d'apparition des chaleurs dépend du stade de la vague folliculaire au moment de l'administration de la  $PGF2\alpha$ :

- Si la vague arrive à la fin de son évolution, ce délai est court, de l'ordre de 2 ou 3 jours.
- Si la vague démarre son évolution, ce délai est plus long, de l'ordre de 6 à 7 jours. Les chaleurs apparaissent donc dans un délai de 2 à 5 jours après l'injection de PGF2α. Si l'insémination est tout de même faite en aveugle et non sur chaleurs observées, il est nécessaire de réaliser 2 inséminations artificielles à 72 et 96 heures après la deuxième injection de PGF2α.

## 3.2-Synchronisation des chaleurs par les progestagènes :

Les progestagènes sont des molécules à activité progestéronique c'est-à-dire qu'ils ont la propriété de bloquer la sécrétion de LH. Cette propriété est utilisée afin d'inhiber le pic ovulatoire de LH et donc d'empêcher l'ovulation du follicule dominant jusqu'au retrait des progestagènes. Ce protocole est applicable chez les femelles cyclées et non cyclées, la présence d'un corps jaune préexistant n'étant pas requise. Il ne nécessite par ailleurs par de surveillance des chaleurs avant l'insémination.

Depuis la 14 octobre 2006, l'utilisation des œstrogènes associés aux progestagènes est interdite en France en reproduction bovine. Les œstrogènes avaient pour but de bloquer la sécrétion de FSH et ainsi de provoquer la dégénérescence de la vague folliculaire en cours lors de la pose du dispositif. Le cycle était ainsi mieux maitrisé car l'émergence d'un nouveau vague 4 jour après la mise en place des progestagènes permettait de connaître la durée de la nouvelle vague lors de l'ovulation. Sans les œstrogènes, le follicule présent lors de la pose des progestagènes n'est plus conduit à l'atrésie. Il continue donc sa croissance jusqu'à ce que celle-ci devienne dépendante de la LH. Si le taux de LH n'est pas suffisamment inhibé lorsque le follicule devient dominant, celui-ci peut persister jusqu'à devenir un vieux follicule de plus de dix jours. L'ovocyte issu de ce follicule est donc de mauvaise qualité (reprise trop précoce de la méiose provoquant des anomalies chromosomiques) et le développement embryonnaire s'en trouve compromis. Cette issue n'est cependant possible que dans le cas d'une vache non cyclée, car un corps jaune présent ne permet pas la persistance d'un follicule dominant. Il existe deux types de dispositifs permettant l'utilisation des progestagènes : des implants que l'on place en position sous-cutanée dans l'oreille et des spirales vaginales. Les 2 protocoles étant presque identiques, seul le protocole lié à l'implant sera exposé dans ce mémoire.

Cet implant est commercialisé sous le nom de Crestar **SO**<sup>®</sup> (**SO** pour sans œstrogènes). Le protocole peut être divisé en 3 étapes :

- A J0, l'implant est placé en position sous-cutanée dans l'oreille de l'animal. Comme vu précédemment, l'absence d'estrogènes ne permet plus la régression de la vague en cours lors de la pose de l'implant. Une injection de buséréline (analogue de la gnrh) est donc réalisée afin de provoquer l'ovulation et la lutéinisation de tout follicule dont la taille est supérieure à 10 mm. La persistance d'un follicule est ainsi évitée ce qui permet la mise en place d'une nouvelle vague folliculaire synchrone pour toutes les vaches traitées. Par ailleurs, le corps jaune issu de l'ovulation sécrète de la progestérone dont l'effet inhibiteur sur la sécrétion de LH s'ajoute à celui du progestagène.
- L'implant est ensuite laissé entre 9 et 11 jours dans l'oreille de l'animal et une injection de PGF2α est réalisés 48 heures avant son retrait. Cette injection a pour but de provoquer la lyse d'un éventuel corps jaune préexistant ainsi que celle du corps jaune « secondaire » issu de l'ovulation du follicule présent à J0. La durée de pose de l'implant de doit pas être raccourcie à moins de 9 jours afin d'éviter de réaliser l'injection de prostaglandine alors que le corps jaune secondaire n'est pas encore sensible.
- Le retrait de l'implant s'effectue entre J9 et J11 et, le jour du retrait, une injection d'ecg est réalisée. Cette molécule a une action de type FSH et LH et favorise la fin de la maturation folliculaire. L'absence d'inhibition due aux progestagènes et à un ou plusieurs corps jaunes permet le pic de LH et donc l'ovulation.

L'insémination est réalisée en aveugle 48 heures après le retrait.

## 3.3-Synchronisation des chaleurs par le protocole gnrh-Prostaglandine F2 alpha-GnRH ou protocole GPG :

Le protocole GPG est une application des vagues folliculaires. Il s'agit en effet d'un protocole permettant de provoquer la venue d'une nouvelle vague folliculaire puis de l'ovulation à des moments choisis. Il ne nécessite donc pas de surveillance des chaleurs avant l'insémination. La vache doit toutefois être cyclée. Le protocole GPG peut être divisé en trois étapes :

- A J0, une première injection de gnrh (ou d'un analogue telle la buséréline) provoque l'ovulation et la lutéinisation de tout follicule dont la taille est supérieure à 10 mm. Il y a ainsi formation d'un corps jaune secondaire issu de l'ovulation et émergence d'une nouvelle vague folliculaire environ 48 heures après l'injection.
- A J7, une injection de PGF2α lyse le corps jaune secondaire ainsi qu'un éventuel corps jaune principal préexistant. Il y a donc chute de l'inhibition de LH. Cette injection de prostaglandine ne doit pas être faite avant le 7<sup>ème</sup> jour afin que le corps jaune secondaire soit sensible.
- A J9, une seconde injection de gnrh ou d'analogue permet d'imposer l'ovulation au follicule dominant de la vague nouvellement déclenchée. Le follicule dominant est âgé de 7 jours ce qui semble être favorable à une bonne fertilité. L'insémination peut ensuite être faite

en aveugle 12 à 18 heures après la deuxième injection ce qui impose de faire celle-ci le soir (passage de l'inséminateur dans la journée du lendemain).

Le protocole GPG comporte toutefois une limite : un follicule dominant doit nécessairement être présent lors de la première injection de gnrh ce qui n'est le cas que sur 70% de la durée d'un cycle. Dans les 30% restants, l'absence de follicule dominant empêche l'émergence d'un nouvelle vague folliculaire et le protocole GPG est inefficace. Ceci est en particulier le cas entre J1 et J4 et entre J13 et J15 (J0 étant le jour de l'ovulation).

# 4- Le dosage de la progestérone :

# 4.1-Choix du type de prélèvement :

2 types de prélèvements sont utilisés :

- Des prélèvements sanguins (THIMONIER, 2000): Il existe actuellement des kits permettant l'estimation du taux de progestérone directement dans les élevages, que ce soit à partir de sang, de plasma et de sérum. Toutefois, la réalisation d'une prise de sang, tant à la veine coccygienne qu'à la veine jugulaire, n'est pas un acte aussi bien maitrisé par les éleveurs que la réalisation d'un prélèvement de lait. Par ailleurs, si les concentrations de progestérone ne semblent pas varier dans le plasma ou le sérum, il n'en est pas de même dans du sang complet maintenu à température ambiante ou même à 4°C. L'envoi éventuel des prélèvements sanguins à un laboratoire nécessite donc au préalable une centrifugation ou l'ajout d'acide de sodium ce qui limite d'autant leur usage dans les exploitations.
- Des prélèvements de lait (GINTHER et al, 1976) : Ce type de prélèvement est facilement réalisable dans les élevages laitiers au cours de la traite. Il existe une forte corrélation entre la concentration en progestérone dans le lait et la progestéronémie bien que la première soit toujours supérieure à la seconde. Le taux de progestérone dans le lait est donc un bon indicateur de l'activité lutéale. Il existe toutefois de nombreux facteurs influençant la concentration de progestérone dans le lait qu'il est important de prendre en compte.

### 4.2-Facteurs influençant la concentration de progestérone dans le lait :

• La conservation : selon une étude réalisée sur 22 vaches gravides, la concentration en progestérone dans le lait n'est pas affectée (p > 0,1) par le délai de conservation, la température de conservation et l'ajout d'un conservateur (PENNINGTON et al, 1981). Toutefois, certains échantillons de lait conservés 5 ou 10 jours sans conservateur ont coagulé et ceux dont les phases solides et liquides n'ont pu être remélangées par agitation et chauffage n'ont pas pu être testés. L'ajout d'un conservateur est donc conseillé lors d'une conservation longue.

• La méthode de prélèvement : Selon la même étude, la méthode de prélèvement a un effet significatif (p<0,01) sur la concentration en progestérone dans le lait (PENNINGTON et al, 1981).

La concentration est significativement plus grande dans le lait de traite totale que dans le lait issu des premiers jets. Ceci est à rapporter en partie au taux butyreux des échantillons. Il existe en effet une corrélation significative entre le taux butyreux et la concentration en progestérone dans le lait (GINTHER et al, 1976; PENNINGTON et al, 1981).

Or le taux butyreux est significativement plus élevé dans le lait de traite totale que dans celui issu des premiers jets. Ainsi, lorsqu'on ramène la concentration de progestérone en ng/g de gras et non en ng/ml de lait, la différence de concentration entre le lait de traite totale et le lait des premiers jets n'est plus significative.

• L'heure de prélèvement : Selon plusieurs études, l'heure du prélèvement a une grande influence sur la concentration de progestérone dans le lait. Toutefois, les résultats de ces études ne sont pas en accord les uns avec les autres.

Dans une première étude réalisée sur 22 vaches gravides, la concentration en progestérone dans le lait a été trouvée significativement plus élevée (p<0,01) dans le lait de traite du soir que dans le lait de traite du matin (PENNINGTON et al, 1981). Cette différence n'a pas pu être expliquée à partir des taux butyreux différents des échantillons.

Dans une deuxième étude réalisée sur 10 vaches laitières de races différentes, des prélèvements de lait ont été effectués à différents moments de la journée : juste avant et après la traite du matin, puis 3 heures, 6 heures, 9 heures et 12 heures après la traite du matin (ce dernier prélèvement s'effectuant donc juste avant la traite du soir) (GINTHER et al, 1976). Encore une fois, l'heure du prélèvement a eu un effet significatif (p<0,005) sur les concentrations de progestérone. La concentration en progestérone était ainsi significativement plus basse dans le lait prélevé juste avant la traite du matin que dans celui prélevé juste après (8,0 ng/ml contre 23,2 ng/ml, p<0,05) puis diminuait progressivement entre le lait post-traite du matin et le lait prétraite du soir (la régression linéaire négative est significative avec p<0,005). Mais contrairement à la première étude, il n'existait pas de différence significative entre le lait de traite du matin et le lait de traite du soir.

Ces résultats permettent cependant de mettre en évidence la nécessité de se tenir à l'heure de prélèvement initialement prévue dans le protocole d'une étude.

• Les transformations du lait : Comme vu précédemment, il existe une corrélation significative entre le taux butyreux et la concentration en progestérone dans le lait (Ginther et al, 1976; PENNINGTON et al, 1981).

Or le taux butyreux varie d'un produit laitier à l'autre (de 0,01% pour le lait écrémé à 80% pour le beurre). La concentration en progestérone varie donc d'un produit laitier à un autre. Pour les mêmes raisons, il est très important de bien homogénéiser un échantillon de lait entier ou de lait demi-écrémé avant un dosage (GINTHER et al, 1976).

Enfin, bien qu'aucune étude ne se soit intéressée au sujet, la pasteurisation ne semble pas avoir d'influence sur la concentration en progestérone (GINTHER et al, 1976).

• La race : Les études sur l'influence de la race montrent des résultats contradictoires. Dans une étude réalisée en 1976, la race n'a aucune influence sur les concentrations en progestérone (GINTHER et al, 1976) tandis qu'une étude plus récente montre une concentration en progestérone significativement plus élevée (p<0,05) dans le lait des vaches Jersiaises que dans le lait des vaches Brunes des Alpes, Guernesey et Holstein (PENNINGTON et al, 1981).

#### 4.3-Les méthodes de dosage :

Il existe 3 méthodes de dosage de la progestérone :

- La méthode radio-immunologique (GINTHER et al, 1976; PENNINGTON et al, 1981).
  - La méthode chromatographique (GINTHER et al, 1976).
  - La méthode immuno-enzymatique (NEBEL, 1988).

La méthode immuno-enzymatique ayant été la méthode utilisée lors de l'expérimentation réalisée au centre d'élevage de Poissy, elle sera prise comme exemple pour la suite. La méthode immuno-enzymatique est une méthode ELISA (NEBEL, 1988). Elle peut être réalisée à partir de sang, de plasma, de sérum ou de laits (34) et présents de nombreux avantages par rapport à la méthode radio-immunologique : faible coût, plus grande accessibilité et innocuité des réactifs employés (NEBEL, 1988). De plus lorsqu'elle est réalisée directement à la ferme, elle ne nécessite pas de préparation particulière des échantillons et évite les délais de réponse (2 à 10 jours) inhérents aux dosages réalisés en laboratoire.

La corrélation entre la méthode radio-immunologique, considérée comme méthode de référence, et la méthode ELISA a été évaluée (**NEBEL**, **1988**) :

- Lorsque les 2 méthodes sont réalisées en laboratoire, cette corrélation est de 0,90 à 0,93.
- Lorsque la méthode ELISA est réalisée en ferme et la méthode radio-immunologique réalisée en laboratoire, la corrélation est de 0,79.

Les tests ELISA sont utilisés pour déterminer si la concentration en progestérone est « haute » ou « basse » plus que pour donner une valeur précise de cette concentration (NEBEL, 1988). Ils utilisent le principe de l'adsorption compétitive de la progestérone sur un anticorps spécifique de celle-ci (NEBEL, 1988). Ces anticorps sont préfixés sur un support permettant de recevoir l'échantillon à analyser. Une fois l'échantillon versé, la progestérone se lie aux anticorps. Dans la plupart des tests, on ajoute alors un couple progestérone-enzyme qui se lie aussi aux anticorps et entre donc en compétition avec la progestérone issue de l'échantillon. Après une courte incubation (1 à 15 minutes selon les tests), le support est vidé, rincé puis un substrat de l'enzyme est ajouté. La concentration en couple progestérone-enzyme étant dépendante de la concentration en progestérone de l'échantillon, la dégradation du substrat est inversement proportionnelle à cette dernière. La dernière étape consiste en l'adjonction d'un

chromogène qui en réagissant avec le substrat modifié produit une réaction colorée. La réaction colorée est évaluée après 1 à 5 minutes d'incubation selon les tests.

La quantité de substrat étant inversement proportionnelle à la concentration de l'échantillon en progestérone, la coloration l'est aussi. Ainsi, une concentration élevée en progestérone (vache gravide ou en phase lutéale) produira une coloration faible tandis qu'une concentration faible en progestérone (vache en période d'œstrus) produira une coloration intense. La figure 14 résume le principe général d'un test rapide utilisant la méthode immuno-enzymatique.

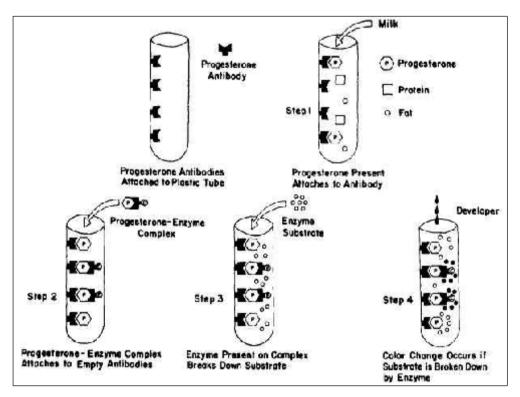


Figure 14: Principe général d'un test rapide permettant d'évaluer la concentration en progestérone d'un échantillon de lait par la méthode immuno-enzymatique (NEBEL, 1988).

**N.B**: quelle que soit l'espèce, la fertilité après l'œstrus induit est identique, voire supérieure à celle obtenue après un œstrus naturel. Il faut cependant que soient respectées des règles simples quant à l'utilisation des males pour la saillie (saillies contrôlées ou reproduction libre, ratio males/ femelles) ou quant à la qualité (voire à la quantité) des spermatozoïdes lors d'inséminations artificielle. **(THIBAULT et LEVASSEUR, 1991).** 

# **Chapitre III**

L'insémination artificielle

#### I- Généralités sur l'insémination artificielle :

### 1-Introduction:

L'IA est technique de reproduction consistant à recueillir le sperme chez le male et à l'introduire dans les vois génitales de la femelle, sans qu'il y ait accouplement. Le sperme recueilli peut être utilisé immédiatement ou après une plus ou moins longue période de conservation sous forme réfrigérée ou congelée. (MARICHATOU, 2004). La technique de l'insémination artificielle est basée sur le principe biologique qui ne modifie ni l'intégrité génétique ni le patrimoine génétique des gamètes avant et après fécondation dans le tractus génital femelle. (THIBIER, 1999).

### 2-Les avantages et les inconvénients :

Les avantages de l'insémination artificielle sont les suivants:

- Permet de choisir des taureaux qui ont fait preuve d'amélioration des traits qui sont Désirables dans une population de vaches laitières;
- Elimine le coût et le danger associé avec le maintien d'un taureau dans l'exploitation;
- Minimise le risque d'obtenir des génisses avec des traits indésirables;
- Permet de tester les taureaux à un jeune âge;
- Minimise le risque de transmission de maladies sexuelles;
- Permet un gain génétique cumulatif au fil des générations. La valeur génétique des vaches augmente dû à la sélection intensive (spécialement des taureaux) d'une génération à l'autre;
- Requiert un grand degré de coopération entre les éleveurs, le technicien d'insémination, les centres d'insémination et les associations d'élevages. (WATTIAUX, 2009).

Les inconvénients sont du même ordre que les avantages. Nécessite une bonne technicité dans les centres d'insémination artificielle ; une quelconque erreur lors de la préparation de la semence, peut avoir des répercussions importantes sur le cheptel Les éleveurs doivent avoir une bonne expérience pour détecter les vaches en chaleurs.

L'insémination artificielle des vaches non observées en chaleurs entraîne non seulement une infertilité mais peut causer une endométrite et l'avortement si la vache est gestante.

La présence d'agents infectieux non détruits par les antibiotiques ajoutés à la semence (sperme congelé contenant le virus IBR/IPV) peut être à l'origine de pathologies. (HANZEN, 2004)

# 3-Historique:

Sans remonte aux arabes qui l'auraient pratiqué sur leurs chevaux, c'est Spallanzani qui, en 1779 créa la méthode en fécondant artificiellement une chienne et qui en soupçonna l'immense portée scientifique en écrivant : « Je ne puis détourner mon esprit plein d'admiration et d'étonnement de l'avenir qui attend ce que j'ai découvert ici ».ce à quoi son ami bonnet lui répondit en considérant le point de vue philosophique et l'aspect humain du problème : « je ne sais si ce que vous venez de découvrir n'aura pas quelque jour dans l'espèce humain des application auxquelles nous ne songeons point et dont les suites ne seront pas légères ».cette techniques fut appliquée quelques années plus tard chez la femme par Hunter (1799) puis le vétérinaire Repiquet l'utilisa pour l'espèce chevaline dans sa clientèle(1885).(CRAPELET,1993).

En 1890, REPJQUET insémine la jument en France. A la même époque HOFFAN faisait la première insémination en Allemagne.

En 1902 SAND au Danemark indique que l'importante caractéristique de cette technique est l'emploi économique d'un reproducteur de valeur.

En 1912 IVANOV insémine 39 juments et obtient 31 gestations en URSS puis étend la méthode aux ovins et aux bovins.

En 1936 au Danemark, SORENSEN crée la première coopérative d'i.A et 1700 vaches avaient été inséminées la première année avec un taux de fécondité de 51%.

En 1952 POLGE et ROWSON ont été à l'origine de la congélation du sperme de taureau, ce qui permet le stockage de la semence à long terme.

En France, Les premiers agneaux conçus par I.A naquirent en 1944 à la Bergerie Nationale de Rambouillet. La première insémination en ferme fut réalisée sur une vache normande en 1946 par CASSOU.

En Afrique, ANDERSON fait des expérimentations d'i.A au Kenya en 1935. En 1944, MANDOW fait des essais d'i.A avec la semence fraîche de race Montbéliard sur le zébu Foulbé ou Gaudaï au Cameroun.

En Algérie, la technique d'insémination artificielle n'est pas totalement inconnue en Algérie puisque les premières expériences dans ce domaine en débuté dés 1947. (MAHATENE, 1987).

Avec la synchronisation des chaleurs, l'i.A a pris, en Europe et en Amérique du Nord, une importance capitale dans l'élevage. Comme exemple, en France au cours de l'année 1985, 6 300 000 vaches ont été inséminées et 40 à 50 millions de doses nouvelles mises en stock.

(PAREZ et DUPLAN, 1987)

# **4-LEGISLATION ET REGLEMENTATION:**

C'est la loi du 15 mai 1946(parue au journal official du 16 mai 1946) qui réglemente l'insémination artificielle ; elle est appliquée grâce aux dispositions suivantes :

- Décret du 27 mars 1948(parue au journal officiel du 2 avril 1948);
- Arrêté du 27 aout 1948(parue au journal officiel du 16 septembre 1948) ; circulaire ministérielle du 7 juin 1949.

L'autorisation d'ouverture d'un centre est subordonnée à l'observation de principales règles concernant le personnel, l'installation, les reproducteurs.

Le personnel doit être techniquement capable, l'installation matérielle décente doit permettre une application correcte de la méthode et l'isolement des animaux. Le choix des reproducteurs doit obéir à des principes généraux : descendance contrôlées, absence de maladies générales ou génitales, absences de maladies héréditaire, et à des principes particuliers à chaque région ; les exigences seront progressivement croissantes avec le progrès zootechnique. (CRAPELET, 1952).

#### II-La semence:

Dans l'espèce bovine, l'éjaculation est concomitante de la poussée violant (coup de rein) qui introduit le pénis extériorisé dans le vagin de la femelle. Pour un taureau normal, le temps qui s épare le premier contact du gland du pénis avec les parois du vagin et l'éjaculation varie d'une fraction de seconde à 2 secondes. L'éjaculation est induite par la température vulvo-vaginale, et la pression sur le pénis. C'est pourquoi, la collecte de la semence utilisée en centre d'insémination artificielle est réalisée avec un vagin artificiel qui reproduit les sensations physiologiques du contact avec le vagin de la vache (température et pression). (CAROLE et CABANNES, 2008).

### 1-Entrainement des mâles :

Males dont la semence n'a jamais été collectée, cette opération nécessite un certain nombre d'heures de travail et beaucoup de patience. Il est très important que ce soit la personne chargée des futures collectes qui fasse ce travail. (BARIL et al, 1993).

# 2-La récolte du sperme :

La récolte du sperme est l'étape initiale dans sa préparation. Il s'agit d'obtenir à partir des taureaux choisis, du sperme pur, non souillé et cela d'une façon régulière pendant plusieurs années. Deux méthodes sont couramment utilisées : la récolte au vagin artificiel et l'électro éjaculation.

# 2.1-La récolte au vagin artificiel :

Cette méthode a été mise au point en 1914 par AMANTEA sur le chien, améliorée pour le taureau en 1930 par KAMAROU-NAGAEN et la fixation du modèle de vagin actuellement utilisé par WALTON en 1940. (PAREZ et DUPLAN, 1987).

### 2.1.1-Description du vagin artificiel :

C'est un appareil en caoutchouc à double parois constitué par :

- Un manchon cylindrique extérieur rigide.
- Un manchon intérieur souple dont les extrémités sont recourbées sur le manchon extérieur, formant ainsi une chambre annulaire que l'on peut remplir d'eau à 40° à 42°C (DERIVAUX, 1971) par un orifice situé sur le manchon extérieur.

Un réceptacle en caoutchouc: le cône est fixé à l'une des extrémités et terminé par un tube collecteur gradué. Le réceptacle et le tube sont recouverts par une enveloppe isotherme pour éviter un choc thermique du sperme.

Les dimensions du vagin artificiel sont adaptées aux dimensions du pénis du taureau selon son âge. Généralement la longueur est de 30 à 40 cm el le diamètre intérieur de 7 cm pour un taureau adulte. (**DERIVAUX**, 1971).

Le vagin artificiel est plus ou moins rempli d'eau à 41° à 42°C pour obtenir une pression adaptée. A la bonne pression, l'orifice libre du vagin artificiel en position horizontale simule une fente vulvaire. Les conditions sensorielles de la vulve et du vagin naturel sont fournies par l'orifice lubrifié à la vaseline neutre et par la paroi chaude. (PAREZ et DUPLAN, 1987).

#### 2.1.2-La récolte :

L'excitation sexuelle en vue d'un prélèvement de sperme au vagin artificiel se fait avec une vache en chaleurs ou non, un autre taureau ou avec un mannequin. Le sol ne doit pas être glissant ni pulvérulent. Il doit être désinfectable.

La région abdominale et prépuptiale du taureau doit être nettoyée avant le début des opérations.

L'opérateur se place à droite du taureau, sa main gauche tient le fourreau et de sa main droite, il présente l'extrémité ouverte du vagin artificiel vers le pénis suivant un angle de 45°. Lors du cabrer, l'opérateur oriente le pénis dans le vagin artificiel dont le contact entraîne un réflexe d'intromission par un coup de rein. L'éjaculation intervient juste après. L'opérateur redresse immédiatement le vagin artificiel pour que le sperme s'écoule dans le tube collecteur. La collecte du sperme peut se faire à fréquence de deux ou trois récoltes de deux éjaculations

La collecte du sperme peut se faire à fréquence de deux ou trois récoltes de deux éjaculations par semaine.

# 2.2-l'électro éjaculation :

C'est une méthode de récolte par stimulation électrique de la zone lombo-sacrée médullaire. Elle a été effectuée pour la première fois chez le cobaye en 1922 par BATTELI, puis chez le bélier en 1935 par GUNN. Le matériel de récolte actuellement utilisé pour l'électro éjaculation du taureau, l'électrode bipolaire unique a été mis eu point en 1944 par LAPAUD et CASSOU. (PAREZ et DUPLAN, 1987).

Le taureau est contentionné, le fourreau et le rectum nettoyés avant de placer l'électrode. Selon PAREZ. (PAREZ et DUPLAN, 1987).

L'application d'un courant alternatif d'intensité progressive de 200 ma à quelques ampères et sous 30 volts avec un rythme de 5 à 10 secondes permet d'obtenir l'éjaculation en 3 à 5 minutes. La première fraction liquide n'étant que du liquide accessoire à éliminer. Derivaux (DERIVAUX, 1971) propose 15 à 30 excitations préliminaires de 100 ma qui permettront la sécrétion accessoire indésirable. Puis un courant de 800 à 1 500 ma et sous une tension de 5 à 6 volts pendant 5 à 6 secondes permettra une éjaculation à chaque excitation. Le sperme récolté a la même qualité que celui obtenu par le vagin artificiel mais la méthode ne permet qu'un prélèvement par semaine pour éviter tout effet négatif sur la production de semence ou sur le caractère du taureau.

L'électro éjaculation doit être considérée comme une méthode d'exception qui permet l'obtention du sperme chez un animal qui refuse le vagin artificiel qui présente des lésions articulaires ou une perte de libido. (PAREZ et DUPLAN, 1987; DERIVAUX, 1971) Une autre méthode qui permet de récolter le sperme est le massage des vésicules séminales mais elle n'est pas utilisée.

### 3-l'examen du sperme :

L'objectif de cet examen est de déterminer si l'éjaculat recueilli peut être utilisé on non dans la préparation de la semence et donner le taux de dilution pour le premier cas. L'examen doit se faire juste après le prélèvement et à une température comprise entre 35 et 37°C. Les détériorations mécaniques ainsi que les pollutions du sperme doivent être évitées.

#### 3.1-Examen macroscopique:

C'est un examen visuel qui permet de déterminer le volume, la couleur et la consistance du sperme recueilli. Le volume varie en fonction de l'animal entre 0,5 et 14 ml avec une moyenne de 4 ml chez le taureau. Le sperme normal a une couleur blanchâtre. Des couleurs anormales peuvent être observées; par exemple le sperme est rose en cas de la présence du sang et il est grisâtre lors de la présence du pus. Quand à la consistance, elle est fonction de la concentration en spermatozoïdes. Néanmoins, la présence de grumeaux ou de filaments glaireux indique un sperme pathologique.

# 3.2-Examen microscopique:

Il permet d'apprécier la motilité, la concentration et la morphologie des spermatozoïdes. L'appréciation de la motilité se fait au microscope à platine thermo statée qui permet d'évaluer le mouvement de masse, la formation de vagues et leur importance : motilité massale. Après dilution au 1/10 on peut apprécier la motilité individuelle. Un sperme n'est utilisable que si 60% au moins des spermatozoïdes sont mobiles mais il est à noter également que des éjaculats très mobiles peuvent ne pas féconder ou se congeler.

La concentration en spermatozoïdes est déterminée par numération cellulaire à l'aide d'un hématimètre de THOMAS. (**DJIBRINE**, 1987)

Elle varie entre 0,2 10<sup>9</sup> et 2 10<sup>9</sup> spermatozoïdes par millilitre avec une moyenne de 10<sup>9</sup> spermatozoïdes par millilitre. Les éjaculats présentant moins de 0,7 10<sup>3</sup> spermatozoïdes par millilitre ne sont pas utilisables. L'appréciation de la concentration peut se faire également par la densité optique à l'aide d'un néphélométrie.

L'étude de la morphologie se fait par coloration. La technique le plus utilisée est la coloration à la nigrosine-éosine ou coloration vitale qui permet en plus de déterminer le pourcentage de spermatozoïdes vivants ou morts. En effet avec cette technique, les spermatozoïdes anormaux sont comptabilisés et ne sont retenus pour l'i.A que les spermes ayant moins de 20-25% de spermatozoïdes anormaux et plus de 60% de spermatozoïdes vivants. (PAREZ et DUPLAN, 1987).

### 3.3-l'examen biochimique:

Il porte sur le ph du sperme frais et sur l'activité métabolique des spermatozoïdes. L'étude de cette dernière comprend l'épreuve à la réductase et le test à la catalase qui n'est plus utilisé. (DJIBRINE, 1987)

#### **3.3.1-Le PH**:

Un sperme normal est acide et son ph varie entre 6,5 et 6,8. (**DERIVAUX, 1971**) Un ph alcalin indique une semence pathologique ou de mauvaise qualité.

#### 3.3.2-l'épreuve à la réductase :

Il consiste à déterminer le temps mis par un échantillon de spermatozoïdes pour décolorer une certaine quantité de bleu de méthylène. Plus ce temps est long plus la qualité de sperme est réduite. Ainsi on considère que pour un temps de réduction de trois minutes, le nombre de spermatozoïdes vivants est au moins égale à un million. (DJIBRINE, 1987)

#### 3.4-La pathologie du sperme :

Un sperme souillé peut être responsable de la transmission de certaines maladies chez la femelle inséminée. La contamination peut provenir de l'appareil génital du taureau, des manipulations du sperme pour la préparation de la semence ou de l'inséminateur. Les germes les plus fréquemment rencontrés sont:

- Les bactéries: Brucella bovis, Mycobacterium tuberculosis et paratuberculosis, Corynebacterium pyogènes, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylocoques, Streptocoques, Campylobacter.
- Les virus: aphteux, Blue tong, IBR/IPL, Diarrhée bovine.
- Les parasites: Trichomonas fétus.

On trouve des fois également des mycoplasmes et des moisissures.

La présence de ces germes entraîne le plus souvent la modification des caractères du sperme qui conduit à son rejet au moment des examens.

# 4-la dilution de sperme :

# 4.1-Intérêt de la dilution :

La dilution a pour objectif d'augmenter le volume de l'éjaculat afin qu'un plus grand nombre de femelles puissent en bénéficie. En effet un éjaculat normal contient plusieurs milliards de spermatozoïdes. Pourtant un seul suffit pour féconder l'ovule.

Les préparations servant à cette dilution doivent protéger les spermatozoïdes pour qu'ils ne soient pas détruits au cours des manifestations ultérieures. C'est pour cela que le glycérol est utilisé pour protéger les spermatozoïdes contre les effets de la congélation. Les antibiotiques aussi y sont ajoutés pour limiter le d'développement d'éventuelles bactéries présentes dans le sperme.

Enfin le conditionnement en doses individuelles permet une manipulation facile de la semence sans dégradation des spermatozoïdes.

#### 4.2-Les milieux de dilution :

Un bon milieu de dilution doit répondre à un certain nombre de critère (PAREZ et DUPLAN, 1987):

- La non toxicité pour les spermatozoïdes : pression osmotique ; équilibre électrolytique, pouvoir tampon.
- Apport énergétique pour les spermatozoïdes.
- Pourvoir protecteur à l'égal des variations de l'environnement: température, lumière.

- Facilité de préparation, clarté permettant l'observation des spermatozoïdes à faible prix de revient.
- Limitation du développement microbien.
- Prix de revient acceptable.

### 4.2.1-Les différents types de dilueur (Figure 15) :

Plusieurs variétés de dilueurs ont été proposées mais deux sont plus utilisés actuellement :

- Le dilueur à base de lait de vache (LAICIPHOS ND) préparé à partir du lait en poudre, additionné de 100% de jaune d'œuf et d'antibiotiques.
- Le dilueur à base d'une solution de citrate de sodium 2,9% additionné de jaune d'œuf à 25% dans l'eau bi- distillée.

Les antibiotiques les plus souvent employés sont les sulfamides 0,3%, la pénicilline 500 à 1000 unités par millilitre, la streptomycine 1 milligramme par millilitre (PAREZ et DUPLAN, 1987) mais d'autres antibiotiques sont proposés par plusieurs auteurs (COFFAUX et THIBIER, 1989)

Ces antibiotiques à des proportions proposées ne présentent aucun danger pour les spermatozoïdes. Ces milieux ainsi préparés permettent une conservation satisfaisante du pouvoir fécondant des spermatozoïdes à +5°C pendant 2 ou 3 jours.

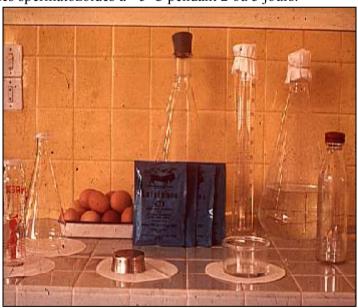


Figure 15: les différents types de dilueurs.

#### 4.2.2-Le taux de dilution :

Le taux de dilution dépend fortement de la qualité du sperme, sachant qu'une dose fécondante doit avoir au minium 10 à 12 millions de spermatozoïde. Il faudra donc considérer les éléments suivants pour déterminer le volume de dilueur à ajouter au sperme.

- Le volume de sperme récolté.
- La concentration du sperme.
- La proportion de spermatozoïdes vivants dans le sperme.
- La proportion de spermatozoïdes qui seront altérés par les manipulations techniques.

# 5-La conservation de la semence :

### 5.1-La conservation de la semence fraiche :

Nous avons vu qu'il était possible de conserver la semence dans les dilueurs décrits pendant 3 jours à une température de +5°c. Mais dans le cas où la refrigérat.ion ou la cryogénie font défaut, il est possible de recourir à d'autres méthodes. En effet, (PAREZ et DUPLAN, 1987).rapporte que l'eau de Coco à raison de 150 ml par litre de solution à 2% de citrate de sodium, additionnée de 5% de jaune d'œuf et de sulfamide associée à la mycostatine assure une conservation à la température ambiante 16-17°C pendant 4 à 5 jours.

Toutefois, les résultats ne sont pas du tout bons si la semence est laissée aux fortes variations

#### 5.2- La conservation du sperme congelé :

journalières de température connues dans les pays tropicaux.

La conservation du sperme se fait à -79°C sur la glace carbonique ou à 196°C dans de l'azote liquide (**Figure 15**). Cette dernière méthode est de loin le plus utilisée. Cela a été rendu possible par la mise en évidence de l'action cryoprotectrice de certains produits notamment le glycérol. La semence devant subir la congélation est préparée en deux phases. La première dilution se fait avec les mêmes dilueurs que pour la conservation à +5°C mais à la moitié du taux final choisi. La semence est réfrigérée à +5°C puis dans la deuxième phase, le dilueur est ajouté à volume égal à celui de la première phase. Mais ce deuxième dilueur de composition identique au premier contient en plus 14% de glycérol soit un taux final de 7%. (**PAGOT**, 1985)

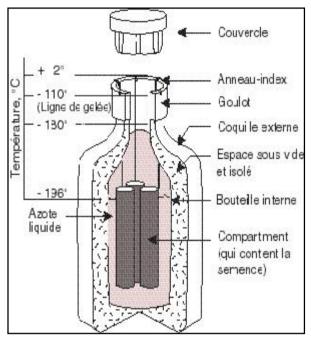


Figure 16 : le congélateur de stockage de semences.

Avant la congélation la semence dûment conditionné est mise au repos toujours à +5°C pendant 2 à3 heures c'est l'équilibration. Les paillettes sont ensuite congelées en deux temps. D'abord entre -70°C et -100°C dans la vapeur d'azote pendant 9 minutes, puis elles sont plongées dans l'azote liquide à -196°C.

Deux à trois jours après la congélation en procède à une vérification de la qualité des doses congelées. Après elles sont stockées dans des récipients cryogéniques adaptés. Ce stockage peut durer jusqu'à 20 ans en assurant un remplissage régulier d'azote liquide.

Le sperme conservé dans ces conditions peut être utilisé longtemps après sa production et sa diffusion est facile.

#### **6-Le conditionnement :**

La semence est conditionnée dans des paillettes plastiques, jetables comprenant une dose individuelle. Cette paillette dite française a été mise au point par CASSOU en 1947. Elle mesure 133 mm de long mais le volume est variable: 1ml pour la paillette grosse, 0,5ml pour la paillette moyenne et 0,25ml pour la paillette fine. Les deux extrémités sont bouchées par de la poudre d'alcool polyvinylique qui devient gélatineux et étanche au contact de l'eau. Les paillettes portent des impressions permettant l'identification du taureau, du centre de production de la semence et de la date de production.

# III- l'insémination artificielle proprement dite :

### 1-La technique de l'insémination artificielle :

- Nettoyer et désinfecter la vulve ;
- Maintenir le col par transrectale ;
- Passer le col en douceur : un passage forcer peut provoquer un petit saignement et le sang est un spermicide ;
- Eviter tout stress à l'animal (contention, insémination, séparations des ces congénères). (HUGRON et al, 2005).

Le but de l'i.A est d'avoir une fécondation. D'où la nécessité de bien maîtriser les méthodes, de savoir le moment précis et le lieu de dépôt de la semence pour optimiser les chances de cette fécondation

# 1.1-Le moment de l'insémination artificielle :

Des qu'une femelle reconnue en haleur, elle était retirée du troupeau et mise dans un isoloir en attendant d'être inséminée 12 heures après le début des chaleurs. (DIOP, 1993).

Le moment de l'insémination est fonction des paramètres suivants :

- Le moment de l'ovulation (10-12heures environ après la fin de la chaleur) ;
- La durée de fécondabilité de l'ovule (environ 5-8 heures) ;
- Le temps de remonte des spermatozoïdes au tiers supérieur de l'oviducte (quelque minute) et la capacitation (2-8 heures);
- La durée de fécondabilité des spermatozoïdes en insémination artificielle (environ 20-24 heures).

Si ces divers paramètres concordent entre eux, il peut y avoir possibilité de fécondation et les résultats du taux de réussite montrent qu'idéalement, l'insémination doit se faire entre 12 et 18 heures après le début des chaleurs et qu'elle est satisfaisante entre six et 24 heures après le début des chaleurs (**Figure 17**). Il ne faut pas inséminer dans les six premières heures des chaleurs.

Un des problèmes est que le moment de l'insémination peut varier (ovulation précoceovulation tardive) de même que le pouvoir fécondant des spermatozoïdes. Une solution partielle serait une insémination de sécurité dans les cas de chaleurs prolonge, mais il est certain que des inséminations systématiques ne sont pas justifier par les avantages techniques et économiques.

En pratique usuelle, une vache en chaleur le matin est inséminée le soir ou le lendemain matin ; une vache vue en chaleur l'après midi est inséminée le lendemain dans la matinée. On peut dépendant retenir qu'une chaleur bien apparent est souvent une chaleur de courte durée et souvent une chaleur de durée et qu'une chaleur silencieuse est plus souvent

prolongée. Le bon choix du moment de l'insémination dépend surtout de la détection et de l'enregistrement de l'observation.

Apres décongélation, les spermatozoïdes conservent leur capacité de féconder mais longtemps que les spermatozoïdes qui n'ont pas été congelés. En effet, la semence fraiche conserve habituellement sa capacité de féconder pour environ 48 heures tandis que la semence qui été congelée la conserve pour 20 à24 heures après insémination. Etant donné que l'ovulation à lieu entre 10 et 12 heures après la fin de l'œstrus chez la vache, on préconise donc une insémination vers la fin de la période des chaleurs. (LACERT, 2003).

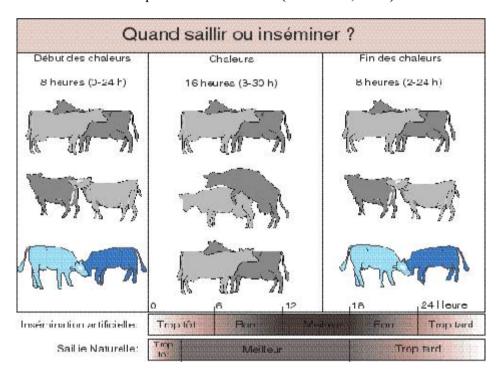


Figure 17: moment idéal par apport aux phases des chaleurs de la vache

#### 1.2-Le lieu de dépôt de la semence :

La méthode la plus utilisée est l'insémination intra-utérine : le sperme est déposé dans l'utérus ou au niveau de la jonction utero-cervical. (HAWK, 1987) indique que quelques temps après l'insémination intra-utérine, une partie du sperme est drainée vers le vagin par le mucus cervical. (Figure 18).

Le dépôt du sperme au niveau des cornes ne donne pas plus de résultats: 49,3% de conception contre 48,1 et 39,4% respectivement pour l'insémination intra-utérine et l'insémination cervicale selon WILLIAMS et Coll. (WILLIAMS, 1988) MC KENNA et Coll. (MCKENNA et al, 1990) ont trouvé 70,8% de non retour en chaleurs pour l'insémination dans les cornes utérines contre 69,5% pour l'insémination intra-utérine. Par contre le dépôt du sperme dans les cornes présente beaucoup plus de risques de traumatisme et d'infection de l'utérus.

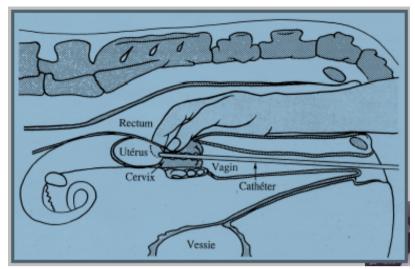


Figure 17 : Le lieu de dépôt de la semence

# 1.3-Les instruments :

La pratique de l'i.A nécessite un instrument essentiel : le pistolet d'insémination, le plus couramment utilisé est le pistolet dit de CASSOU. Il permet la mise en place du sperme conditionné en paillette. Après la décongélation dans l'eau à 34°C pendant 35 secondes, la dose est introduite dans le pistolet. L'extrémité fermée au laboratoire dirigée vers le haut est sectionnée et le tout est recouvert d'une gaine plastique pour la protection sanitaire. L'inséminateur doit disposer également d'une pince brucelie pour prélever les paillettes, des gants et de lubrifiants pour le palper rectal.

#### 1.4-Les méthodes d'insémination :

Plusieurs méthodes d'insémination existent. La plus simple et la plus utilisée est le cathétérisme du col avec sa contention par voie rectale. D'autres méthodes non pratiquées à nos jours faisaient intervenir le speculum ou le vaginoscope sans contention du col ou sa contention par voie vaginale.

Par la méthode recto-vaginale l'inséminateur introduit la main dans le rectum de la vache et immobilise le col. Avec d'autre main il introduit le pistolet dans le canal cervical jusqu'au lieu de dépôt de la semence, il pousse le piston du pistolet pour déposer la semence puis retire le pistolet et la main.

#### 2- Facteurs de variations de la réussite de l'insémination artificielle :

Puisque les deux individus de couple intervient dans les différentes étapes de la reproduction ; la réussite de l'insémination est dépendante de deux caractères distincte : la fertilité de la femelle d'une part. Les fécondance du males d'autre part .les facteurs de variations de la réussite de l'insémination peuvent être spécifique du male (âge, qualité de la semence), de la femelle (âge, carrière...) ou communs aux de deux sexes (année, saison).de plus, si l'insémination est artificielle, il s'ajoute liée à ce type d'insémination (inséminateur, mode de fabrication des paillettes....). (DAVID, 2008).

# 2.1 Les Facteurs variation environnementaux de la réussite de l'insémination liée au male :

Dans le cadre de l'insémination artificielle, un male insémine de nombreuses femelles. La fécondance des males constitue donc un point critique dans la réussite d'un schéma de sélection. On peut rechercher une évaluation de la fécondance male au niveau de l'éjaculat ou de l'individu.

# 2.1.1-la qualité de la semence (éjaculat) :

Le processus de reproduction étant complexe, l'évaluation de la fécondance du sperme n'est pas aisée. Un bon éjaculat correspond à beaucoup de spermatozoïdes aptes à effectuer la fécondance, ce qui implique qu'ils sont aptes a rejoindre rapidement le lieu de rencontre des gamètes, qu'ils ont une membrane cytoplasmique et un acrosome intact pour la reconnaissance et la pénétration de l'ovocyte et enfin qu'ils possèdent un matérielle nucléaire intact la création de l'embryon.

Il existe une multitude de tests de laboratoire cherchant à évaluer la capacité des spermatozoïdes à effectuer ces différentes étapes (**DAVID**, **2008**). Trois types d'examens sont mis en œuvre: les examens macroscopiques, microscopiques et biochimiques (comme ci-audessus). Ils permettront d'écarter les spermes de qualité insuffisante ou pathologiques.

# 2.2 Les facteurs de variations environnementaux de la réussite de l'insémination liée à la femelle :

La majeure partie de la réussite de l'insémination porte uniquement sur l'étude de la fertilité des femelles vraisemblablement parce que les événements reproducteurs de la femelle influence plus la réussissent de l'insémination que ceux du male. (DAVID, 2008).

#### 2.2.1-Carrière de la femelle :

Dans déférentes espèces, il a été montre que la probabilité de réussite de l'insémination diminue avec la parieté et/ou l'âge de la femelle. L'intervalle de temps de la mis bas précédent et l'insémination est également un facteur de variation important de la fertilité de femelle dans différentes espèces car ils correspondent au temps nécessaire au repos de l'appareille génitale femelle et à la reconstituant des réserves corporelles. Plus cet intervalle est long, plus la probabilité de réussite de l'insémination est élevée. (DAVID, 2008).

### 2.2.2-La production laitière :

De nombreux auteurs ont mis en évidence, principalement en bovin, une relation phénotypique négative entre la production laitière et la réussite de l'insémination .cette corrélation peut être la combinaison entre la liaison génétique négative qui existe entre ces deux caractères et un effet de balance énergétique moins bonne au moment de l'insémination pour les facteurs producteurs de lait. (DAVID, 2008).

#### 2.2.3-Le poids, l'indice de condition corporelle :

La relation entre la condition corporelle de la femelle et sa fertilité à été principalement étudier en bovin.les résultats concernant la relation entre l'indice de condition corporelle au moment de l'i A et la réussite de cette dernière sont variables ou fonction des études. Il n'existe pas de relation significative entre ces variables et une relation positive. Cette relation peut être en partie explique par réussite de l'ia.

En revanche, il existe un consensus sur la relation entre les variations de conditions corporelles et la réussite de l'insémination artificielle, il existe une relation entre la perte de poids depuis la mis bas précédente et la réussite de l'ia. (**DAVID**, **2008**).

#### **IV-Conclusion:**

Dans les troupeaux bovins laitiers l'intervalle entre vêlage successifs (V/V) est le critère technico-économique le plus interissant.il est étroitement lie à l'intervalle vêlage- fécondation (V/IF) dont la valeur dépend de l'intervalle vêlage-1<sup>re</sup> IA (V/I1) et l'intervalle IA-1<sup>er</sup> IA fécondante (I1/IF).

Les objectifs à atteindre en matière de reproduction dans les troupeaux laitiers sont à apprécier en fonction du niveau de production :

#### 1-En matière de fécondité :

- V/IF moyen <à110jours.
- Pourcentage de vaches avec insémination fécondante à plus de 90 jours, inferieur à 20%.

# 2-En matière de fertilité :

- Taux de réussite en première insémination supérieur à 50%.
- Pourcentage de vaches nécessitant 3 IA et plus inferieur à 20%.
- Nombre total de l'ia/Nombre d'ia fécondantes, inferieur à 1,6.
   Les nombreux facteurs responsables des difficultés de reproduction sont lies à la conduite de la reproduction, à l'état sanitaire des animaux et à l'alimentation.
   En matière de conduite de la reproduction, l'obtention d'une bonne fécondité nécessite :
- Un délai de mise à la reproduction comprise entre 40 et 70 jours après le vêlage.
- Une bonne détection des chaleurs.
- Une bonne maitrise du moment de l'insémination par rapport aux chaleurs. Sur le plan sanitaire, les métrites constituent une cause importante de la difficulté de reproduction. Les conséquences des erreurs d'alimentation dépendent du stade physiologique de la vache au moment ou elles se produisent. Le rôle de l'alimentation est prépondérant entre le vêlage et l'insémination, donc en début de lactation, particulièrement chez les fortes productrices.
  - Dans les troupeaux bovins allaitants, le nombre de veaux sevrés par vache et est le critère économiquement le plus important. Deux critères plus analytiques permettent de caractériser l'efficacité de la reproduction dans un troupeau :
- Le taux de gestation, qui mesure la fertilité, est égal au rapport du nombre de femelles pleines sur le nombre de femelles mises à la reproduction. L'objectif est d'atteindre 90%. Mais il est surtout nécessaire que l'éleveur obtienne un nombre suffisant de veaux sevrés, correspondant à la viabilité économique de son troupeau.
   L'intervalle moyen entre vêlages, qui mesure la fécondité obtenue à partir de toutes les femelles ne mettant pas deux années consécutives. L'objectif est de ne pas dépasser 368 jours. (BOTELLIER et al, 2005).

# Liste des références :

- ALLRICH R.D. (1994) Symposium: Estrus, New Device, and Monitoring. J. Dairy Sci., 77, 2738-2744
- AT-TARAS E.E. ET SPAHR S.L. (2001) Détection and Characterization of Estrus in Dairy Cattle with an Electronic Heat mount Detector and an Electronic Activity Tag. J. Dairy Sci., 84, 792-798
- **BALL P.J.H. et PETERS A.R. (2004)** Reproduction in Cattle Third Edition Blackwell Publishing, Oxford, 242 p.
- BOCQUIER F. (2004) Détecteur électronique de chevauchements INRA, Page consulté le 8 août 2008
- BRITT J.H., SCOTT R.G., ARMSTRONG J.D. et WHITACRE M.D. (1986) Determinants of Estrous Behavior in Lactating Holstein Cows. J. Dairy Sci., 69, 2195-2202
- CHASTANT-MAILLARD S., FOURNIER R. Et REMMY D. (2005) Les vagues folliculaires : Actualités sur le cycle de la vache. Point Véto., 36 (N° Spécial), 10-15
- **COFFAUX. M., THIBIER. K**. Effet de l'emploi d'une association de quatre antibiotiques sur la qualité apres congélation de la semence de taureau dilué dans le LAICIPHOS-200. El. & Ins, 1989, 230 : 11-16.
- **DERIVAUX.** J. Reproduction chez les animaux domestiques : le male : Insémination artificielle. Ed. Devoueux, Liege, 1971.
- **DIJKHUIZEN T.J. et VAN EERDENBURG F.J. (1997)** Behavioural signs of estrus during pregnancy in lactating dairy cows. Vet. Q., 19, 194-196
- **DISENHAUS C., KERBRAT S. Et PHILIPOT J.M. (2003)** Entre fureur et pudeur: actualités sur l'expression de l'œstrus chez la vache laitière Journées Bovines Nantaises, Nantes, 9 octobre 2003, 94-101
- **DISKIN M.G. et SREENAN J.M. (2000)** Expression and detection of estrus in cattle. Reprod. Nutr. Dev., 40, 481-491
- **DJIBRINE, M**. Bilan de l'Insémination artificielle dans l'espece bovine au Cameroun. Th. Med. Vet Dakar, 1987 ; 12 '
- DRANSFIELD M.B.G., NEBEL R.L., PEARSON R.E. ET WARNICK L.D. (1998) Timing of Insemination for Dairy Cows Identified in Estrus by Radiotelemetric Estrus Detection System. J. Dairy Sci., 81, 1874-1882
- GINTHER O.J., NUTI L.C., GARCIA M.C., WENTWORTH B.C. et TYLER W.J. (1976) Factors affecting progesterone concentration in cow's milk and dairy products. J. Anim. Sci., 42, 155-159

- **GIROUD O. (2007)** Détection des chaleurs des vaches laitières par vidéosurveillance : évaluation de méthodes d'utilisation Mémoire de fin d'études, ISARA, Lyon, 73 p.
- GWAZDAUSKAS F.C., LINEWEAVER J.A. ET mcgilliard M.L. (1983)
  Environmental and Management Factors Affecting Estrous Activity in Dairy Cattle.
  J. Dairy Sci., 66, 1510-1514
- **HAWK, H. W**. Transport and fat of spermatozoa after insemination of cattle. J. Dainy. Sci. 1987, 70(7) 1487-503
- HERES L., DIELEMAN S.J. ET VAN EERDENBURG F.J. (2000) Validation of a new method of visual estrus detection on the farm. Vet. Q., 22, 50-55
- **KASTELIC J.P. (2001)** Computerized Heat Detection. Advnces in Dairy Technology, 13, 393-402
- **KERBRAT S. Et DISENHAUS C. (2004)** A proposition for an n updated behavioural caracterisation of the estrus period in dairy cows. Appl. Anim. Behav. Sci., 87, 223-238
- KIDDY C.A, MITCHEL D.S, BOLT D.J ET HAWK H.W (1978) Detection of Estrus-Related Odors in Cows by Trained Dogs. Biol. Reprod., 19, 389-395
- **KIDDY C.A.** (1977) Variation in Physical Activity as an Indication of Estrus in Dairy Cows. J. Dairy Sci., 60, 235-243
- LANE A.J.P. ET WATHES D.C. (1998) An Electronic Nose to Detect Changes in Perineal Odors Associated with Estrus in the Cow. J. Dairy Sci., 81, 2145-2150
- LEHRER A.R., LEWIS G.S. ET AIZINBUD E. (1992) Oestrus detection in cattle: recent developments. Anim. Reprod. Sci., 28, 355-361
- LEWIS G.S., AIZINBUD E., LEHER A.R. ET BROCKWAY B.P. (1988) A telemetry system for detecting dairy cows in estrus. J. Anim. Sci., 66 (Suppl. 1), 442
- LIU X. Et SPAHR S.L. (1993) Automated Electronic Activity Measurement for detection of Estrus in Dairy Cattle. J. Dairy Sci., 76, 2906-2912
- LYIMO Z.C., NIELEN M., OUWELTJES W., KRUIP T.A.M. ET VAN EERDENBURG F.J.C.M. (2000) Relationship among estradiol, cortisol and intensity of estrous behavior in dairy cattle. Theriogenology, 53, 1783-1795
- MCKENNA, T; LENZ, R. W; FENTON. S.E; AX t RL Bon retour rates of dairy cattle following uterine body or carnual insemination. J. Dainy. Sei, 1990, '13(1): 1'779-93.
- **NEBEL R.L.** (1988) Symposium: cowside tests. On-Farm Milk Progesterone Tests. J. Dairy Sci., 71, 1682-1690
- **NEBEL R.L.** (2003) Components of a Successful Heat Detection Program. Advances in dairy Technology, 15, 191-203
- NEBEL R.L. ET MCGILLIARD M.L. (1993b) Interactions of high milk yield and reproductive performance in dairy cows. J. Dairy Sci., 76, 3257-3268
- **ORIHUELA A. (2000)** Some factors affecting the behavioural manifestation of estrus in cattle: a review. Appl. Anim. Behav. Sci., 70, 1-16

- PAGOT, J. L'élevage en pays tropicaux G.P Maisonneuve et Larose et ACCT, Paris, 1985.
- PAREZ, M; DUPLAN, J.M. L'insémination artificielle bovine. ITEB/UNCEIA, Paris. 1987
  - PENNINGTON J.A., ALBRIGHT J.L. ET DIEKMAN M.A. (1985) Sexual Activity of Holstein Cows: Seasonal Effects. J. Dairy Sci., 68, 3023-3030
  - PENNINGTON J.A., SPAHR S.L. ET LODGE J.R. (1981) Influences on Progesterone Concentration in Bovine Milk. J. Dairy Sci., 64, 259-266
  - PERALTA O.A., PEARSON R.E. ET NEBEL R.L. (2005) Comparison of three estrus detection systems during summer in a large commercial dairy herd. Anim. Reprod. Sci., 87, 59-72
  - PIGGOTT S.M., FITKIN D.R., STEFFEN A.J. ET TIMMS L.L. (1996) Evaluation of accuracy and characterization of estrus activity as monitored by an electronic pressure sensing system for estrus detection in dairy cows and heifers.

     J. Anim. Sci., 74
     (Suppl.1), 70
  - PONSART C., FRERET S., CHARBONNIER G., GIROUD O., DUBOIS P. Et HUMBLOT P. (2006b) Description des signes de chaleurs et modalités de détection entre le vêlage et la première insémination chez la vache laitière Renc. Rech. Ruminants, 13, 273-276
  - PONSART C., FRERET S., HUMBLOT P., CHARBONNIER G. Et DUBOIS P. (2006a) 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 Animale, 120, 33-36
  - ROELOFS J.B., VAN EERDENBURG F.J.C.M., SOEDE N.M. et KEMP B. (2005a) Various behavioral signs of estrus and their relationship with ovulation in dairy cattle. Theriogenology, 63, 1366-1377
  - ROELOFS J.B., VAN EERDENBURG F.J.C.M., SOEDE N.M. et KEMP B. (2005b) Pedometer readings for estrous detection and as predictor for time of ovulation in dairy cattle. Theriogenology, 64, 1690-1703
  - RORIE R.W., BILBY T.R. ET LESTER T.D. (2002) Application of electronic estrus detection technologies to reproductive management of cattle. Theriogenology, 57, 137-148
  - **SAINT-DIZIER M. (2005)** La détection des chaleurs chez la vache. Point vét. 36 (Numéro spécial), 22-27
  - **SAUMANDE J. (2000)** La détection électronique des chevauchements pour la détection des vaches en chaleur : possibilités et limites. Rev. Méd. Vét., 151, 1011-1020
  - **SAUMANDE J. (2001)** Faut-il reconsidérer le moment souhaitable de l'insémination au cours de l'œstrus chez les bovins? Une revue de données de la littérature. Rev. Méd. Vét., 152, 755-764

- **SENGER P.L. (1994)** The Estrus Detection Problem: New Concept, Technologies, and Possibilities. J. Dairy Sci., 77, 2745-2753
- SILVA (de) A.W.M.V., ANDERSON G.W., GWAZDAUSKAS F.C., mcgilliard M.L. ET LINEWEAVER J.A. (1981) Interrelationships with Estrous Behavior and Conception in Dairy Cattle. J. Dairy Sci., 64, 2409-2418
- THIBIER M., CHAPALGAONKAR K., JOSHI A., KARBADE V. Et RECCA A. (1983) Use of a heat detection paste on dairy cattle in France. Vét. Rec., 113, 128-130
- **THIMONIER J. (2000)** Détermination de l'état physiologique des femelles par analyse des niveaux de progestérone. INRA Prod. Anim., 13, 177-183
- TIMMS L.L., PIGGOTT S.M. et FITKIN D.R. (1997) Evaluation of an electronic mount pressure sensing system for estrus detection in dairy cows and heifers. J. Dairy Sci., 80 (suppl. 1), 179
- VAILES L.D. et BRITT J.H. (1990) Influence of footing surface on mounting and other sexual behaviors of estrual Holstein Cows. J. Anim. Sci., 68, 2333-2339
- VAN EERDENBURG F.J.C.M, LOEFFLER H.S.H et VAN VLIET J.H (1996)

  Detection of estrus in dairy cows: a new approach of an old problem.

  Vet. Q.,
  18, 52-54
- VAN EERDENBURG F.J.C.M., KARTHAUS D., TAVERNE M.A.M., MERLCS I. ET SZENCL O. (2002) The Relationship between Estrous Behavioral Score and Time of Ovulation in Dairy Cattle. J. Dairy Sci., 85, 1150-1156
- WALKER W.L., NEBEL R.L. ET mcgilliard M.L. (1996) Time of Ovulation Relative to Mounting Activity in Dairy Cattle. J. Dairy Sci., 79, 1555-1561
- WILLIAMS. B.L; GWAZDAVSKAS. F.C; WHTTIER, W, D; PEARSONRE; NEBEL, R.L. Impact of site o:f deposit1on and environnemental factors that influence reproduction of dairy cattle. J. Dainy. Sei, 1988, 71(8)
- WLLLIAMSON N.B., MORRLS R.S., BLOOD D.C. ET CANNON C.M. (1972)
   A Study of Estrous Behaviour and Oestrus Detection Methods in a Large Commercial Dairy Herd: The Relative Efficiency of Methods of Oestrus Detection.

   Vet. Rec., 91, 50-58
- XU Z.Z., mcknight D.J., VISHWANATH R., PITT C.J. ET BURTON L.J. (1998) Estrus Detection Using Radiotelemetry or Visual Observation and Tail Painting for Dairy Cows on Pasture. J. Dairy Sci., 81, 2890-2896
- YOSHIDA C. et NAKAO T. (2005) Some Characteristics of Primary and Secondary Estrous Signs in High-producing Dairy Cows. Reprod. Domest. Anim., 40, 150-155