

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة ابن خلدون - تيارت-

Université Ibn Khaldoun de TIARET

معهد علوم البيطرة

Institut des Sciences Vétérinaires

قسم الصحة الحيوانية

Département de santé animale



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de master complémentaire

Domine : sciences de la nature et la vie

Filière : sciences vétérinaire

Présenté par :

MECHTI MOHAMED HAMZA

ELHACHEMI MOHAMMED

Thème :

**Synchronisation des chaleurs et insémination artificielle**

**Chez les bovins dans la région de Tiaret**

Soutenu publiquement le : 08/12/2020

Jury :

grade :

Président : BENALLOU BOUABEDDELLAH

PROFESSEUR

Encadreur : AYAD MOHAMED AMINE

MAITRE DE CONFERENCE classe A

Examineur I : SAIM MOHAMED SAID

MAITRE DE CONFERENCE classe A

Examineur II : DERRAR SOFIANE

MAITRE DE CONFERENCE classe B

Année universitaire 2019/2020

## *Remerciements :*

*Grâce à Dieu le tout puissant qui nous a donné la force d'accomplir ce travail laborieux de nos études universitaire.*

*Avec nos profonds sentiments de respect et de reconnaissance, nous tente à présenter nos sincères remerciements à notre Encadreur **Dr Ayad Mohamed Amine** pour tous ses conseils et ses orientations pour la réalisation de ce travail.*

*Nos remerciements s'adressent aussi à exprimer nos profondes gratitudes au **Dr Azzí Omar** pour sa disponibilité et son aide précieuse*

*Quant à nos enseignants, nous exprimons notre éternelle reconnaissance pour leurs précieux enseignements.*

*A tout l'ensemble des étudiants (promotion 2015-2020), pour notre amitié.*

*Le grand merci à nos amis qui nous ont aidé : **Djeltí Houssameddín ,Djebloune Chakib Khalifa , kerouane Mohammed .Guerna Laid, Fellahí Seyf El islam et benkahla salah.***

## *Dédicace :*

*Je dédie cette thèse à :*

*A mes chers parents **Ameur** et **Ferg Dalila** pour tous leurs sacrifices, leurs amours, leurs tendresses, leurs soutiens et leurs prières tout au long de mes études.*

*A mes grands-parents **Mechta**, **Farg Benalia**, **ben Abderrahmane Fatiha** et **Nesala Cherifa** qui dieu ait pitié d'eux et **Ferg Braika** que dieu prolongé sa vie.*

*A toute la famille **Mechti** et **Ferg** pour leurs soutiens tout au long de mon parcours universitaire.*

*A mes chères sœurs **Fatiha** et **Sondos Elbatoul** pour leurs encouragements permanents et leurs soutiens moral.*

*A mes chers frères **Khair Eddine**, **Souhib**, **Benchoucha Laid**, **Abdelkader Taha**, **Abdellah Nazim** et mon petit poussin **Razan Djana**.*

*A personne qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui était toujours à mes coté et qui m'ont accompagnai durant mon chemin d'études supérieurs **Meskine Fatima**.*

*A mon binôme **Mohammed** et toute la famille **Elhachemi**.*

*A mes meilleurs amis **Lakhdari Rachid**, **Elhachemi Abdelhalim**, **Zaoui Mouafak**, **Bayeh Abdelhak**, **Miri Laradj**, **Nacer Med amine**, **Ben kahla Salah Eddine**,*

*et a toute le groupe « G07 »*

*Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.*

*Hamza*

## *Dédicace*

*C'est avec un immense honneur et une grande modestie que je dédie ce modeste travail à celui et celle qui m'ont donné la vie :*

*A Mon père ; Benali :*

*Pour tout ce qu'il fait pour moi pour que je suis aujourd'hui, je te demande en m'inclinant devant ta sacrifices et bonté, de bien vouloir trouver dans ces petits mots toute ma gratitude ainsi que mon profond dévouement ;*

*A Ma mère ; khelil Yamina ;*

*Pour toute sa tendresse, amour et affection qui ont été pour moi une lumière et un appui d'une valeur inestimable, je te prie mère de trouver ici le témoignage de mes sentiments les plus distingués et s'il y a quelqu'un au monde envers qui je dois beaucoup, ça serait toi mère et quoique je fasse jamais ne pourrai te revaloir ce qui tu m'as donné avec cœur et âme.*

*A mon frère Abdelkader et son épouse souhila.*

*A mes âmes sœurs Soraya, Aïcha et leur petits Ayoub et Khadija, Fatiha et leur petits Mohamed, achraf et Ritadj.*

*A ma belle-famille pour sa confiance, bonté et générosité.*

*A mon kinôme et mon inestimable frère Mechti Mohamed Hamza pour tous les bons moments qu'on a passé ensemble aux ISVT.*

*A mes amis Bounaama amine, Bekkari Kadda, Ben sari Mohammed, Bachir Benyekhlef, Sofiane Deffane, Hamchaoui hoiari et Nessakh brahim, merci d'avoir donné un sens au mot d'amitié et d'être toujours à mes côtés quand j'avais besoins de soutien moral.*

*Mohammed*

## RESUME :

La synchronisation des chaleurs permet de maîtriser et d'harmoniser les cycles sexuels des femelles, elle est pratiquée essentiellement dans les troupeaux bovins laitiers. Elle facilite l'insémination artificielle en se libérant des contraintes liées à la détection des chaleurs et aux déplacements. Elle se fait par plusieurs protocoles, dans notre travail on a utilisé le protocole PRID Delta plus Pgf2alpha et eCG et on a évalué la variation de la progestéronémie après le retrait du dispositif pour combiner entre la progestéronémie, les examens échographiques et le moment de l'insémination ; après 48h et 72h du retrait on a inséminé les vaches artificiellement par une semence fraîche. Ce protocole nous a donné des excellents résultats ; des chaleurs observées après 48h de retrait sur tous les femelles et un taux de gestation de 100%.

**Mots clés :** Bovin, Insémination artificielle, synchronisation des chaleurs, progestéronémie.

## ملخص :

مزامنة الشبق تسمح لنا بالتحكم و التنسيق بين الدورات الجنسية للإناث، تستعمل خاصة في قطعان الأبقار الحلوب. تسهل عملية التلقيح الاصطناعي وذلك بتحريرنا من المراقبة المستمرة لظاهرة الشبق . نستخدم فيها عدة برتوكولات ، في عملنا هذا استخدمنا برتوكول البروجستيرون و قيمنا التغيرات لنسبة البروجيستيرون في الدم بعد ازالة جهاز البروجيستيرون من المهبل للتنسيق بين نسبة البروجيستيرون في الدم و فحوصات الموجات فوق الصوتية (الإيكوغرافية) و زمن التلقيح بعد 48 ساعة من نزع الجهاز من داخل المهبل لقحنا الأبقار اصطناعيا بسائل منوي جديد. هذا البرتوكول قدم لنا نتائج جيدة ؛ شبق ملحوظ بعد 48 ساعة بعد الازالة لجميع الإناث ونسبة 100% من الحمل .

**الكلمات المفتاحية:** البقر، التلقيح الاصطناعي، الشبق، مزامنة الشبق ، نسبة البروجيستيرون في الدم.

## Summary:

Synchronization of heat makes it possible to control and harmonize the sexual cycles of females; it mainly practices in dairy cattle herds. It facilitates artificial insemination by freeing itself from the constraints linked to the detection of heat and movement .It is done by several protocols, in our work we used the progetagen protocol and we evaluated the variation of the progesteroneemia after the withdrawal of the of the progesterone device to combine between the progesteroneemia, the ultrasound examinations and the moment of insemination, after 48 hours of withdrawal, cow are inseminated artificially with a fresh semen. This protocol gives us excellent results; heat observed after 48 hours of withdrawal in all females and a pregnancy rate of 100%

**Keywords:** cattle, artificial insemination, synchronization of heat, progesteroneemia.

## Table des matières

RESUME : .....	4
Table des matières .....	5
Listes des tableaux .....	9
Liste des abréviations.....	10
Introduction : .....	12
PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION DANS L'ESPECE BOVINE : .....	14
<b>1. Le cycle sexuel dans l'espèce bovine : .....</b>	<b>14</b>
1.1. Le cycle œstral : .....	15
1.2. Le cycle ovarien : .....	15
1.2.1 Phase lutéale : .....	16
1.2.2 Phase folliculaire : .....	16
1.3. Le cycle du tractus génital : .....	22
<b>2. Régulation du cycle sexuel : .....</b>	<b>22</b>
2.1 Hormones intervenant dans la régulation du cycle : .....	23
2.1.1. La GnRH : .....	23
2.1.2. La FSH : .....	23
2.1.3. La LH : .....	23
2.1.4. Les œstrogènes : .....	23
2.1.5. L'inhibine : .....	24
2.1.6. La progestérone : .....	24
2.1.7. La prostaglandine F2 $\alpha$ : .....	24
2.2. Mécanismes hormonaux de régulation du cycle : .....	25
Chapitre II : .....	27
La synchronisation des chaleurs .....	27
<b>3. La synchronisation des chaleurs : .....</b>	<b>28</b>
3.1. Définition : .....	28
3.2. Méthodes d'induction des chaleurs : .....	28
3.2.1. Synchronisation à base de prostaglandines ou ses analogues : .....	28
3.2.2. Synchronisation à base de progestérone ou progestagènes : .....	29
3.2.3. Gonadotrophines et médicaments agissant sur leur libération : .....	30
a. GnRH et ses analogues : .....	30
b. Gonadotrophines : .....	32

➤ Gonadotrophines chorioniques : .....	33
3.2.4. Les œstrogènes : .....	34
4. Les protocoles de synchronisation : .....	35
4.1. Les protocoles à base de progestagènes : .....	35
4.1.1. PRID® Delta : .....	37
4.2. Les protocoles à base de PGF2α seule : .....	39
4.2.1 Protocoles à une seule injection : .....	39
4.2.2 Protocoles à deux injections : .....	40
4.3 L'ajout de GnRH/PGF2α/Œstrogène : .....	41
4.4 Les protocoles à base de PGF2α et de GnRH : .....	41
4.4.1 Ovsynch.....	42
Partie expérimentale .....	44
5. Objectif de l'étude : .....	45
6. Lieu et période du travail : .....	45
7. Matériel et méthodes : .....	45
a. Matériel : .....	45
b. Animaux : .....	46
8. Méthodes : .....	47
4.1 L'emplacement de PRID® DELTA : .....	48
4.2. L'insémination : .....	49
4.3. Prélèvements de sang : .....	50
Méthode de dosage : .....	52
9. Résultats et discussion : .....	53
5.1. Résultats de synchronisation : .....	53
5.1.1. Le moment des chaleurs: .....	53
5.1.2. manifestation des chaleurs:.....	54
5.3. Résultats de dosage de la progestéronémie : .....	54
6. Diagnostic de gestation.....	56
Conclusion : .....	58
Références bibliographiques .....	59

# Liste des figures

---

<b>Figure</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 1</b> : Comparaison des cycles œstral et ovarien de la vache (Mauffré et al., 2016).	<b>15</b>
<b>Figure 2</b> : Diagramme ovarien des étapes du développement folliculaire (Ball et Peters, 2008).	<b>17</b>
<b>Figure 3</b> : Evolution morphologique d'un follicule ovarien dans l'espèce bovine (Hanzen et al, 2000)	<b>18</b>
<b>Figure 4</b> : Croissance folliculaire terminale (Mauffré et al. 2016)	<b>20</b>
<b>Figure 5</b> : Evolution des concentrations plasmatiques en FSH, LH, œstradiol 17 $\beta$ (E2) et inhibine (INH) au cours d'une vague folliculaire(Mauffré et al., 2016)	<b>26</b>
<b>Figure 6</b> : Evolution de la concentration des hormones au cours du cycle de la vache (E2 : œstradiol 17 $\beta$ ; INH : inhibine ; P4 : progestérone) (Mauffré et al. 2016).	<b>26</b>
<b>Figure7</b> : PRID <sup>®</sup> DELTA (photo personnelle).	<b>45</b>
<b>Figure8</b> : ESTUMATE <sup>®</sup> (photo personnelle).	<b>45</b>
<b>Figure9</b> : FOLLIGON <sup>®</sup> (photo personnelle).	<b>46</b>
<b>Figure10</b> : tube héparine.	<b>46</b>
<b>Figure11</b> : applicateur de PRID <sup>®</sup> DELTA (photo personnelle)	<b>46</b>
<b>Figure 12</b> : vagin artificielle (photo personnelle)	<b>46</b>
<b>Figure 13</b> : matérielle d'insémination.	<b>46</b>
<b>Figure14</b> : vache N°1(14/21)	<b>47</b>
<b>Figure15</b> : vache N°2(60671).	<b>47</b>
<b>Figure16</b> : vache N°3(14/25).	<b>47</b>
<b>Figure 17</b> : protocole de synchronisation des chaleurs par PRID <sup>®</sup> DELTA et l'insémination artificielle chez les bovins. <b>Figure18</b> : le retrait de PRID <sup>®</sup> DELTA.	<b>48</b>
<b>Figure18</b> : le retrait de PRID <sup>®</sup> DELTA.	<b>49</b>
<b>Figure 19</b> : récolte de sperme.	<b>49</b>



<b>Figure 20</b> : insémination artificielle	<b>50</b>
<b>Figure21</b> : prélèvements de sang.	<b>50</b>
<b>Figure 22</b> : centrifugation des prélèvements sanguine.	<b>51</b>
<b>Figure23</b> : tubes des prélèvements et les eppendorf.	<b>51</b>
<b>Figure 24</b> : analyseur hormonale ROCHE Cobas® 6000.	<b>52</b>
<b>Figure 25</b> : Glaires cervicales.	<b>53</b>
<b>Figure26</b> : image échographique d'une coupe transversale d'un ovaire de vache avec plusieurs follicules.	<b>53</b>
<b>Figure 27</b> : courbe représentatif les variations de taux de progestéronémie après le retrait de PRID®DELTA.	<b>55</b>
<b>Figure 28</b> : vue échographique d'une coupe transversale d'un utérus avec une gestation gémellaire de 40 jours.	<b>56</b>
<b>Figure 29</b> : vue échographique d'une coupe transversale d'un ovaire d'une vache avec des corps jaunes gestatif 40 jour.	<b>57</b>

# Listes des tableaux

---

**Tableau N°1** : Identification des animaux de l'étude. **Page46**

**Tableau N°2** : variations de la progestéronémie (ng/ml) chez les vaches après la synchronisation. **Page54**

# Liste des abréviations

---

**FSH** : Hormone Folliculo-Stimulante

**LH** : Hormone lutéinisante

**PGF2 $\alpha$**  : Prostaglandine F2 alpha

**GMQ** : Gain Moyen Quotidien

**NPY** : Neuropeptide Y

**NEC** : Note d'Etat Corporel

**IVV** : Intervalle vêlage-vêlage

**AMM** : Autorisation de Mise sur le Marché

**CEE** : Communauté Economique Européenne

**LMR** : Limite Maximale de Résidus

**JBB** : Jeune Bovin de Boucherie

**FDA** : Food and Drug Administration

**MGA** : Acétate de Mélengestrol

**PMSG** : Pregnant Mare Serum Gonadotropin

**eCG** : equine Chorionic Gonadotropin

**hCG** : human Chorionic Gonadotropin

**IM** : Intra musculaire

**IV** : Intra veineuse

**SC** : Sous cutanée

**IA** ou **AI** : Insémination artificielle

**TAI** : Timed Artificial Insemination ou insémination artificielle programmée

**FTAI** : Fixed-Time Artificial Insemination ou insémination artificielle à temps fixe

**HAI** : Heat Artificial Insemination ou insémination artificielle sur chaleurs observées

**ECP** : Cypionate d'œstradiol

**EB** : Benzoate d'œstradiol

**E17- $\beta$**  : Œstradiol 17- $\beta$

**VLHP** : Vaches Laitières Hautes Productrices

**UI** : Unité Internationale

**PRID<sup>®</sup>** : Progesterone-Releasing Intravaginal Device

**CIDR<sup>®</sup>** : Controlled Internal Drug Release

**Tpm** : tour par minute

# Introduction :

---

Les éleveurs de bovins allaitants (au même titre que les éleveurs de bovins laitiers) s'ils veulent rentabiliser leurs exploitations ils doivent maîtriser au mieux la reproduction, d'une part en avançant les vêlages précocement dans la saison mais aussi en regroupant les vêlages sur une période aussi réduite que possible. Cependant chez les femelles allaitantes, l'existence d'un anoestrus post-partum accroît l'intervalle entre le vêlage et une nouvelle fécondation et provoque une grande dispersion des vêlages du fait de la variabilité d'apparition de la cyclicité.

Pour maîtriser cette variabilité de nombreux protocoles de synchronisation et d'induction de l'œstrus à base de molécules comme la progestérone, les œstrogènes ou les prostaglandines sont déjà couramment utilisés et permettent de regrouper les animaux en lots homogènes.

L'objectif de notre travail consiste à évaluer l'efficacité d'une méthode de synchronisation des chaleurs chez la vache allaitante associant la progestérone et les prostaglandines. Cette méthode qui a déjà fait ses preuves chez la vache laitière au travers des études de **GRIMARD** et **DELETANG (2002)** en Maroc ou de **CAVALIERI** et **HEPWOTH(2003)** en Etats-Unis, s'est révélée prometteuse chez la vache allaitante dans une étude de **Geary et al** réalisées en 1998.

Après avoir rappelé dans la partie bibliographique la physiologie du cycle de la vache, et les différents protocoles de maîtrises des cycles, nous nous attacherons à étudier les différents résultats déjà obtenus pour notre protocole avec la variation de la progestéronémie chez les femelles synchronisés du retrait du dispositif jusqu'aux 5 jours post retrait aussi bien chez la vache laitière que chez la vache allaitante.

Puis au travers de notre étude nous chercherons à confirmer ou à infirmer les bons résultats obtenus par **Geary et al. (1998)** sur les vaches allaitantes dans les conditions de l'élevage Algérienne. Nous vérifierons ainsi si elle est applicable sur le terrain aux vaches de race allaitante dans les conditions générales d'élevage.

# Chapitre I : Rappel physiologique

---

## PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION DANS L'ESPECE BOVINE :

L'activité sexuelle et la capacité de reproduction de la vache sont coordonnées par un ensemble de structures anatomiques qui communiquent entre elles par le biais de d'hormones. Parmi ces structures, on retrouve l'hypothalamus et l'hypophyse, les ovaires et l'utérus. Le bon fonctionnement de la fonction de reproduction repose sur l'intégrité anatomique, histologique et fonctionnelle de ces structures.

Ainsi, la connaissance de ces structures et la compréhension des mécanismes de régulation permettent d'optimiser les performances de reproduction et la maîtrise des cycles de la vache. Ces prérequis sont indispensables pour comprendre et mettre en place des traitements de synchronisation des chaleurs avec pour objectif, d'améliorer les performances de reproduction dans l'espèce bovine.

### **1. Le cycle sexuel dans l'espèce bovine :**

La vache est une espèce polyoestrienne, son activité sexuelle cyclique est continue tout au long de l'année. En effet, sa sexualité n'est pas saisonnée contrairement à ce qui s'observe chez d'autres espèces de mammifères. Toutefois, des facteurs tels que l'alimentation, la race, l'âge, les conditions d'élevage peuvent influencer l'activité sexuelle de la vache.

L'activité sexuelle débute à la puberté, qui intervient en moyenne à l'âge de 10 à 15 mois selon les races, lorsque l'animal atteint 50 % à 60 % de son poids adulte pour les races laitières contre 70 % pour les races allaitantes (**Grimard et al., 2017**). Dès lors la génisse va présenter de manière cyclique, dans des conditions d'élevages favorables, des modifications de son comportement appelées chaleurs (ou indifféremment œstrus). Ce stade du cycle est caractérisé par l'acceptation par la femelle de l'accouplement avec le mâle et correspond à la période à laquelle elle peut être fécondée. En cas de gestation, cette activité cyclique est interrompue.

Dans l'espèce bovine, un cycle sexuel dure en moyenne 21 jours (entre 19 et 23 jours) pour une femelle multipare et en moyenne 20 jours pour une génisse (**Savio et al., 1990**).

Au cours du cycle sexuel, des modifications interviennent à différents niveaux et affectent :

- le comportement,
- les ovaires,
- le tractus génital
- , - les concentrations hormonales

### 1.1. Le cycle œstral :

Le cycle œstral débute avec l'apparition de l'œstrus (**Figure 1**). Les chaleurs de la vache durent en moyenne 12 h et se caractérisent par des signes comportementaux primaires et secondaires. Les signes comportementaux secondaires (ou mineurs) sont sujets à d'importantes variations individuelles et sociales en relation avec le rang hiérarchique de l'animal. Ils sont en réalité non systématiques et beaucoup moins significatifs que l'acceptation du chevauchement, seul signe spécifique des chaleurs (**Hanzen, 2015**).



**Figure 1 :** Comparaison des cycles œstral et ovarien de la vache (**Mauffré et al., 2016**)

### 1.2. Le cycle ovarien :

L'ovulation définit le premier jour du cycle ovarien. Le cycle ovarien et le cycle œstral sont donc légèrement décalés puisque l'ovulation se produit après les chaleurs (**Figure 1**). Suite à l'ovulation, débute la phase lutéale correspondant à la période de maintien du corps jaune. Cette phase lutéale dure entre 15 et 19 jours et s'achève suite à la régression du corps jaune (lutéolyse). La phase comprise entre la lutéolyse et la prochaine ovulation, période de 3-4 jours, est appelée quant à elle : phase folliculaire.



Le cycle ovarien est donc une succession de phase lutéale et de phase folliculaire ponctué par une ovulation environ tous les 21 jours.

### **1.2.1 Phase lutéale :**

La phase lutéale débute immédiatement après l'ovulation. Suite à l'ovulation, la rupture du follicule dominant s'accompagne de modifications cytologiques et biochimiques du follicule ayant ovulé. Plus spécifiquement, les cellules de la thèque interne et les cellules de la granulosa se regroupent et se modifient pour donner un tissu homogène : le tissu lutéal ou corps jaune (**Ennuyer, 2000**). L'évolution de ce corps jaune peut être décomposée en trois périodes (**Fieni et al., 1995**) :

- une période de croissance de quatre à cinq jours, au cours de laquelle il est insensible aux prostaglandines,
- une période de maintien d'activité de huit à dix jours (il atteint alors un diamètre minimal de 20 mm en fin de croissance (**Mialot et al., 2001**),
- une période de lutéolyse (s'il n'y a pas eu de fécondation), sous influence de la prostaglandine F<sub>2</sub>α (PGF<sub>2</sub>α) produite par l'endomètre aux alentours du 16ème ou 17ème jour du cycle aboutissant à la formation d'un reliquat ovarien, le corps blanc (**Fieni et al., 1995**).

Le corps jaune produit essentiellement de la progestérone qui inhibe la libération de GnRH, donc la sécrétion de LH et le pic pré ovulatoire de LH.

Ainsi, lors de la lutéolyse, la régression du tissu lutéal va stopper la production de progestérone par le corps jaune et ainsi lever le blocage de l'ovulation (par le biais du rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus).

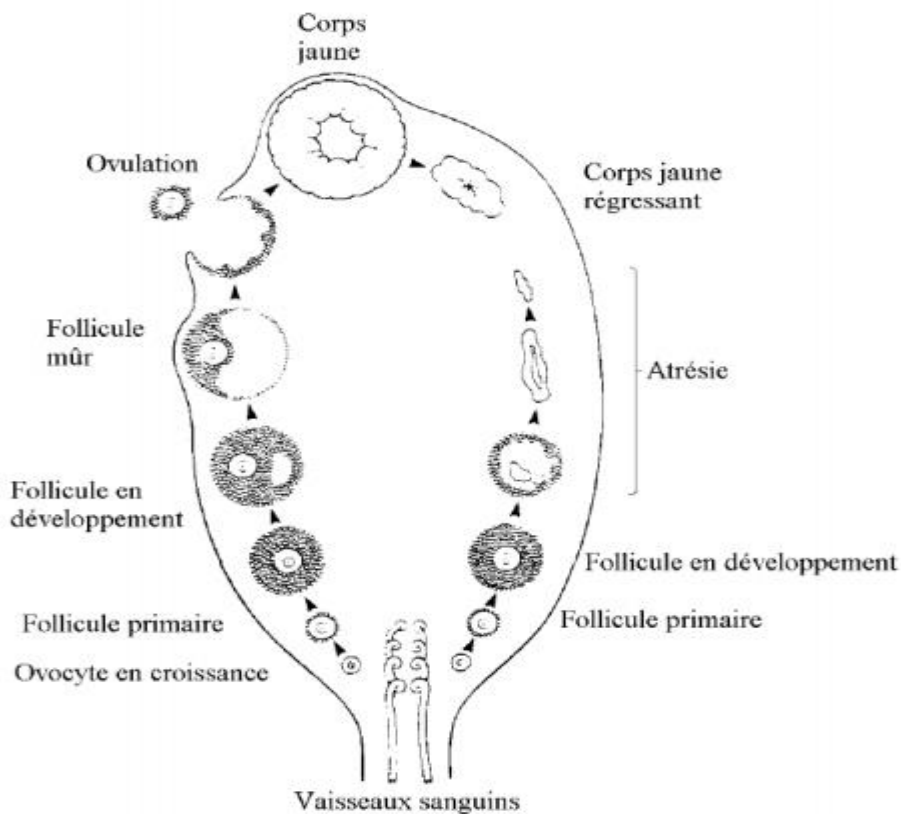
### **1.2.2 Phase folliculaire :**

A la naissance, la vache dispose d'un stock limité de follicules primordiaux constitué pendant la vie. A partir, de la puberté, ces follicules vont progressivement, et de façon continue tout au long de la vie de l'animal, sortir de cette réserve pour entreprendre une succession de transformations conduisant du follicule primordial au follicule pré-ovulatoire.

L'ensemble de ces différentes étapes constitue la folliculogénèse ou succession des étapes de développement des follicules (**Figure 2**).

La folliculogénèse se déroule en deux étapes : une phase non gonado-dépendante à croissance continue de plusieurs mois et une phase gonado-dépendante à caractère cyclique (vagues folliculaires).

Les follicules primordiaux sont le point de départ de la croissance folliculaire. Formés à partir de deux millions d'ovogonies, on obtient 235 000 follicules primordiaux qui constituent la réserve ovarienne. Cette dernière décline progressivement au cours de la vie de l'animal (**Hanzen, et al. 2000**).

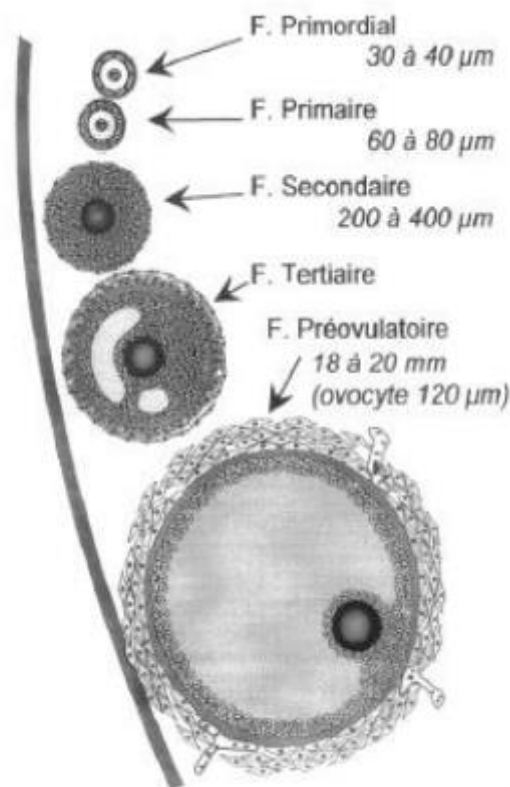


**Figure 2** : Diagramme ovarien des étapes du développement folliculaire (**Ball et Peters, 2008**).

- **Phase non gonado-dépendante :**

Il s'agit de la transformation du follicule primordial (30-40  $\mu\text{m}$  de diamètre) en follicule à antrum ou tertiaire (3-5 mm). Cette croissance va donner successivement des follicules primaires (60-80  $\mu\text{m}$ ), secondaires (0,2-0,4 mm) puis tertiaires (**Figure 3**) (**Ennuyer, 2000 ; Hanzen et al., 2000**).

A partir de la puberté, environ 80 follicules primordiaux quittent la réserve ovarienne chaque jour et débutent leur croissance. Cette croissance, indépendante des concentrations en gonadotrophines (FSH et en LH), est régulée par des facteurs de croissance locaux et dure plus de six mois. A l'issue de cette phase de croissance, les follicules tertiaires sont stockés en périphérie de l'ovaire, dans le stroma. Une étape importante intervient à cette période et concerne la synthèse de récepteurs à la LH sur les cellules de la thèque interne et des récepteurs à la FSH sur celles de la granulosa, récepteurs indispensables pour la suite de la croissance folliculaire (**Hanzen et al., 2000**).



**Figure 3** : Evolution morphologique d'un follicule ovarien dans l'espèce bovine (**Hanzen et al., 2000**).

- **Phase gonado-dépendante:**

Il s'agit de la période de croissance folliculaire pendant laquelle l'influence des gonadotrophines est primordiale. Cette croissance folliculaire terminale concerne les deux ovaires, qui se comportent comme une unité unique, avec des follicules se développant simultanément sur les deux ovaires. Au cours de cette phase, le follicule à antrum (3-5 mm) subit un ensemble de transformations sous l'influence de la FSH et de la LH qui le conduisent au stade pré-ovulatoire (20 mm) (**Figure 3**). Seul un follicule sur mille atteindra ce stade, les 99,9 % des follicules restants vont donc dégénérer : on parle d'atrésie folliculaire. (**Ennuyer, 2000 ; Hanzen et al., 2000 ; Mialot et al., 2003**)

Chez la vache, cette phase de croissance terminale s'effectue selon un schéma particulier appelé "vague folliculaire" (**Figure 4**) qui comporte trois phases : recrutement, sélection, dominance. Le cycle de la vache peut compter une à quatre vagues folliculaires, même si le plus souvent un cycle ne comporte que deux ou trois vagues. Le pourcentage de vaches à deux ou trois vagues diffère selon les études.

Ainsi, 75 % des vaches (race Prim'Holstein) ont deux vagues de croissances folliculaires (**Murphy et al., 1990**) ou trois (**Noseir, 2003**).

➤ **Recrutement :**

Le recrutement correspond à l'entrée dans la phase de croissance folliculaire terminale d'un petit groupe de follicules de plus de 3 mm de diamètre, de façon synchrone, sous l'effet d'une augmentation de la concentration en FSH. Chaque cohorte de follicules tertiaires comprend généralement chez la vache entre cinq et vingt follicules.

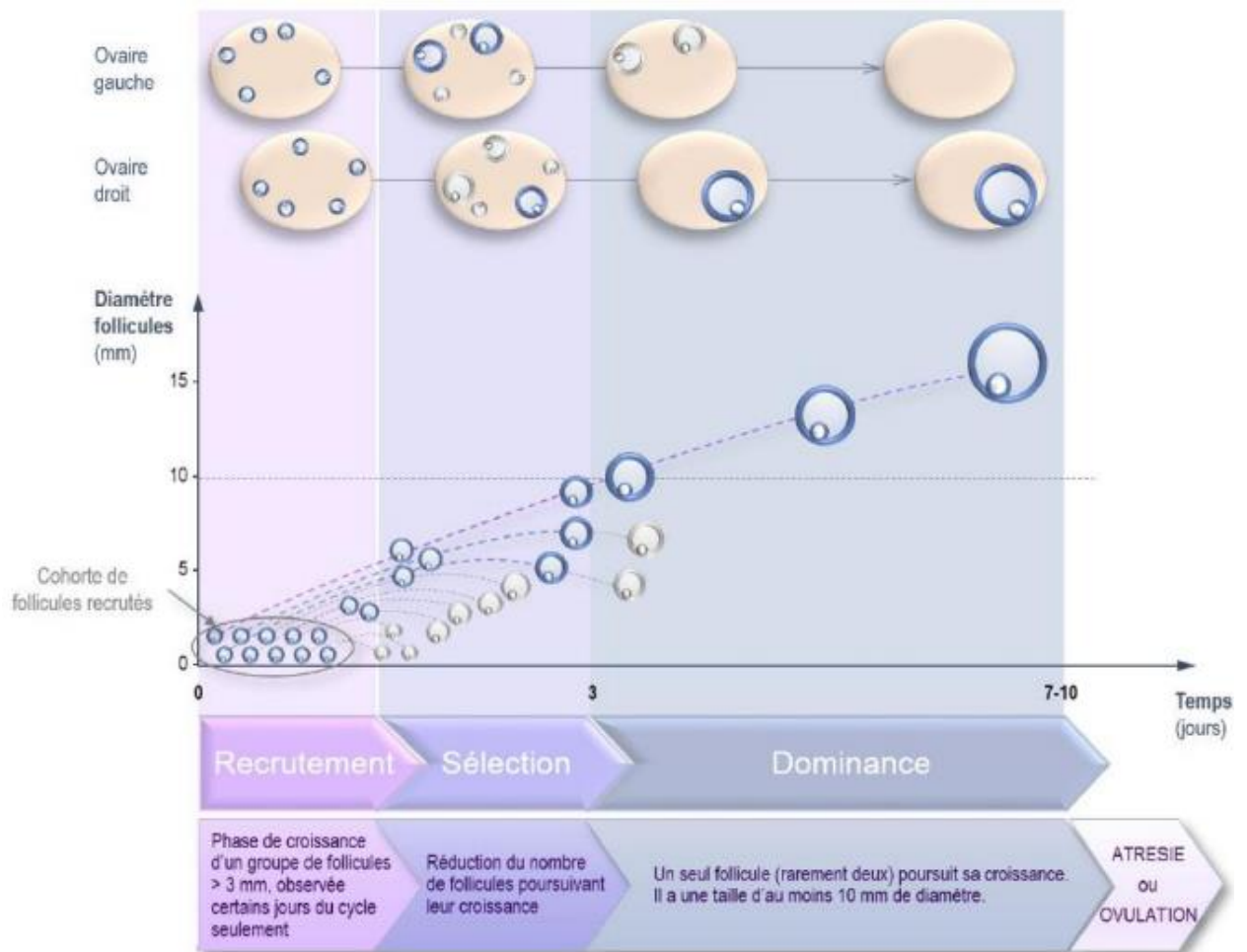


Figure 4 : Croissance folliculaire terminale (Mauffré et al., 2016).

### ➤ Sélection :

La sélection est la phase qui conduit à l'émergence d'un follicule plus développé que les autres, le follicule dominant, parallèlement à l'atrésie progressive de tous les autres follicules de la cohorte. Cette sélection repose sur les variations des taux circulants de FSH et de LH. En effet, à ce stade de la vague folliculaire, la FSH diminue et la LH augmente.

Ainsi, seul un follicule ayant des récepteurs à la LH (follicule le plus développé) peut poursuivre sa croissance, les autres follicules subissant l'atrésie en liaison avec la baisse du taux de FSH plasmatique. A cette étape, le follicule dominant atteint chez la vache la taille moyenne de 10 mm de diamètre.

➤ **Dominance :**

La dominance est la phase qui correspond à la maturation du follicule dominant issu de la phase de sélection. Cette phase présente une durée variable et explique la variabilité observée de la durée des vagues folliculaires.

Le devenir du follicule dominant dépend du stade du cycle et est fonction de la concentration en progestérone. En effet, en présence d'un corps jaune (phase lutéale), la progestérone produite exerce un rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire gonadotrope qui empêche l'apparition du pic de LH nécessaire à l'ovulation. De ce fait, dans la plupart des cas, le follicule dominant s'atrophie et on assiste à la succession de deux ou trois vagues folliculaires.

En fin de cycle (après 16 ou 17 jours) et suite à la lutéolyse, le corps jaune régresse et ne produit plus suffisamment de progestérone. Le rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadotrope associé à la progestéronémie élevée disparaît et autorise la survenue d'un pic de LH donnant lieu à l'ovulation du follicule dominant de la vague folliculaire en cours (deuxième ou troisième vague). A ce stade, ce follicule a atteint une taille moyenne de 16 mm de diamètre (**Mauffré et al, 2016**).

➤ **Succession des vagues folliculaires au cours d'un cycle :**

Une vague folliculaire dure en moyenne sept à dix jours. Dès qu'une vague se termine, une nouvelle vague débute immédiatement, quel que soit le devenir du follicule dominant (**Ennuyer, 2000**). Le nombre de vagues influence la durée du cycle : les cycles à trois vagues sont en moyenne plus longs que ceux à deux vagues (respectivement 22-23 jours et 19-20 jours). La durée de la première vague influence également le nombre de vagues par cycle : ainsi, une première vague courte (sept jours) est souvent associée à un cycle à trois vagues alors qu'une première vague de plus longue durée (dix jours) donne plus fréquemment lieu à un cycle à deux vagues (**Mauffré et al., 2016**).

### **1.3. Le cycle du tractus génital :**

On observe également des modifications des voies génitales qui interviennent également de façon cyclique, principalement sous l'action combinée des œstrogènes et de la progestérone.

Au cours d'un cycle, l'utérus va changer de consistance. Il est "souple" à "mou" pendant la majeure partie du cycle, et plus "ferme" et "tonique" au moment des chaleurs (contractions utérines provoquées par la concentration, à ce stade très élevée, en œstrogènes).

Les sécrétions cervicales sont constituées d'une phase liquide et d'une phase protéique et ont pour rôle d'obstruer le canal cervical. La phase protéique est composée de nombreuses protéines filamenteuses organisées en réseau et ce réseau protéique est modifié pendant la période péri-ovulatoire. En effet, il se relâche pour permettre le passage des spermatozoïdes vers les cornes utérines.

Pendant la phase folliculaire, l'augmentation de la concentration en œstrogènes stimule fortement la production des sécrétions utérines et cervicales et en modifie l'apparence. Ces sécrétions sont alors translucides, plus abondantes, et plus visqueuses autour des chaleurs.

La concentration élevée en œstrogènes est également responsable d'une congestion des voies génitales associée à une multiplication de petits vaisseaux capillaires. La réduction de la concentration en œstrogènes après l'ovulation est responsable de la rupture de ces vaisseaux et d'un saignement plus ou moins abondant, parfois visible 24-48 heures après l'ovulation.

### **2. Régulation du cycle sexuel :**

Les modifications structurelles et fonctionnelles des différentes structures anatomiques sont le résultat de l'évolution cyclique de la concentration de différentes hormones.

## **2.1 Hormones intervenant dans la régulation du cycle :**

### **2.1.1. La GnRH :**

La GnRH est une neuro-hormone synthétisée par l'hypothalamus. Son rôle est de stimuler de manière pulsatile l'antéhypophyse pour induire en réponse la libération de deux autres hormones : la FSH et la LH. La GnRH est elle-même sécrétée en réponse à des stimuli et est régulée, entre autres, par la progestérone et les œstrogènes.

Au plan thérapeutique, cette hormone est utilisée principalement pour induire un pic de LH chez des animaux réceptifs mais pour qui cette production est déficiente, avec pour conséquence l'ovulation du follicule dominant, s'il est présent.

### **2.1.2. La FSH :**

L'hormone folliculostimulante est une hormone gonadotrope synthétisée par l'antéhypophyse. Son rôle est de stimuler la croissance terminale des follicules réceptifs, c'est à dire les follicules possédant des récepteurs à la FSH. Elle va également stimuler par le biais des follicules à antrum, la production d'œstrogènes et d'inhibine.

### **2.1.3. La LH :**

L'hormone lutéinisante est également une hormone gonadotrope produite par l'antéhypophyse et, comme la FSH, qui est régulée par la GnRH. La LH peut agir soit sur le corps jaune en formation, soit sur le follicule dominant qui est le seul à posséder des récepteurs à la LH. Elle est sécrétée comme la GnRH de manière pulsatile.

De ce fait, elle va permettre de stimuler la maturation terminale du follicule dominant et par conséquent la production d'œstradiol mais également d'induire l'ovulation (suite à un pic de LH), de stimuler la formation d'un corps jaune et la production de progestérone par ce même corps jaune (action lutéotrope).

### **2.1.4. Les œstrogènes :**

Les œstrogènes sont des hormones stéroïdiennes produites par les follicules tertiaires (à antrum). Ces hormones sexuelles sont largement responsables des modifications comportementales observées lors de l'œstrus. Les œstrogènes interviennent également dans la régulation du cycle sexuel en exerçant, à faible concentration un



rétrocontrôle négatif sur l'antéhypophyse et l'hypothalamus empêchant la libération de FSH et de LH. A forte concentration, les œstrogènes vont avoir un rôle différent et vont exercer un rétrocontrôle fortement positif sur l'hypothalamus, et ainsi permettre la libération massive de GnRH à l'origine d'un pic de LH.

### **2.1.5. L'inhibine :**

L'inhibine est une hormone protéique produite comme les œstrogènes par les follicules tertiaires. La production d'inhibine est fonction du développement folliculaire : plus les follicules tertiaires se développent, plus la concentration en inhibine augmente.

Son rôle est d'inhiber spécifiquement la production de FSH en exerçant un rétrocontrôle négatif sur l'antéhypophyse (FSH spécifiquement).

### **2.1.6. La progestérone :**

La progestérone est une hormone stéroïdienne produite par le corps jaune. A concentration élevée, elle exerce un rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus en réduisant la fréquence des pulses de GnRH libérée par l'hypothalamus, ce qui entraîne à son tour la réduction des pulses de LH secrétée par l'hypophyse et empêche ainsi la formation du pic de LH responsable de l'ovulation. Les vagues folliculaires se succèdent avec atresie systématique du follicule dominant.

A l'inverse, suite à la lutéolyse, la production de progestérone diminue fortement. La chute de la progestéronémie s'accompagne alors de la levée du rétrocontrôle négatif exercé sur l'hypothalamus.

La fréquence des pics de GnRH augmente et indirectement celle des pic de LH aussi, autorisant l'apparition du pic de LH et l'ovulation du follicule dominant de la vague folliculaire en cours.

### **2.1.7. La prostaglandine F2 $\alpha$ :**

La prostaglandine F2 alpha (PGF2 $\alpha$ ) est une hormone (facteur humoral) produit par l'endomètre en fin de phase lutéale (entre le 16ème et le 19ème jour du cycle). Elle agit sur le corps jaune en provoquant sa régression (lutéolyse) à l'origine de la chute de la progestéronémie observée en fin de phase lutéale.

## 2.2. Mécanismes hormonaux de régulation du cycle :

Chaque vague folliculaire débute par l'augmentation de la concentration en FSH qui recrute les follicules tertiaires sensibles à la FSH, c'est à dire possédant des récepteurs à la FSH (follicules de plus de trois millimètres) (**Figure 5**).

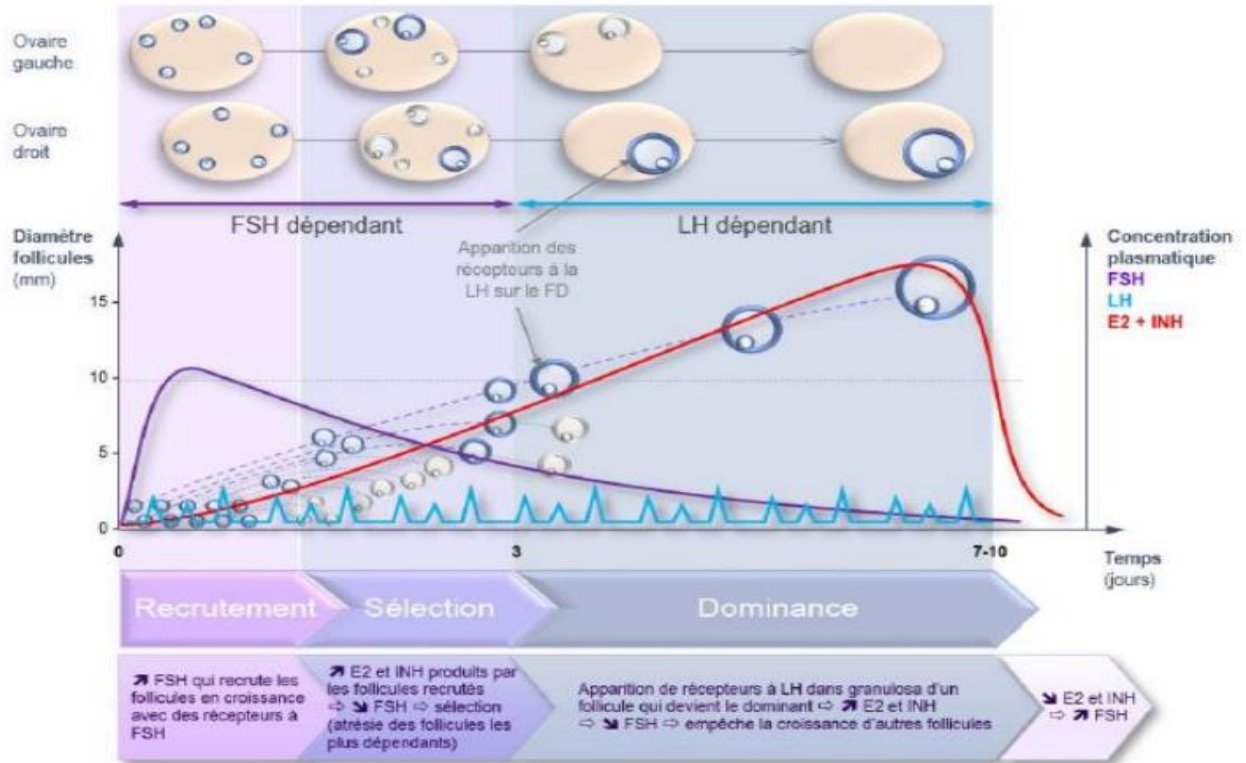
Les follicules recrutés produisent de l'œstradiol et de l'inhibine. Les concentrations de ces deux hormones augmentent progressivement tout au long de la vague folliculaire, en corrélation avec l'augmentation de taille des follicules qui les produisent. L'augmentation des concentrations en œstradiol et en inhibine, qui exercent un rétrocontrôle négatif sur le complexe hypothalamo-hypophysaire, induit une diminution de la FSH circulante. Une fois la concentration en FSH devenue insuffisante pour assurer le développement de tous les follicules recrutés, seul le follicule dominant subsiste. Le follicule dominant possède des récepteurs à LH, ce qui, contrairement aux autres follicules, lui permet de passer d'un statut FSH-dépendant à un statut LH-dépendant et poursuivre ainsi sa croissance et sa maturation grâce à la LH produite.

La chute de la concentration plasmatique en œstrogènes et en inhibine, associée à l'atrésie du follicule dominant ou à son ovulation, va permettre la levée du rétrocontrôle négatif sur l'hypophyse. Par conséquent, la concentration en FSH augmente à nouveau et une vague folliculaire est initiée.

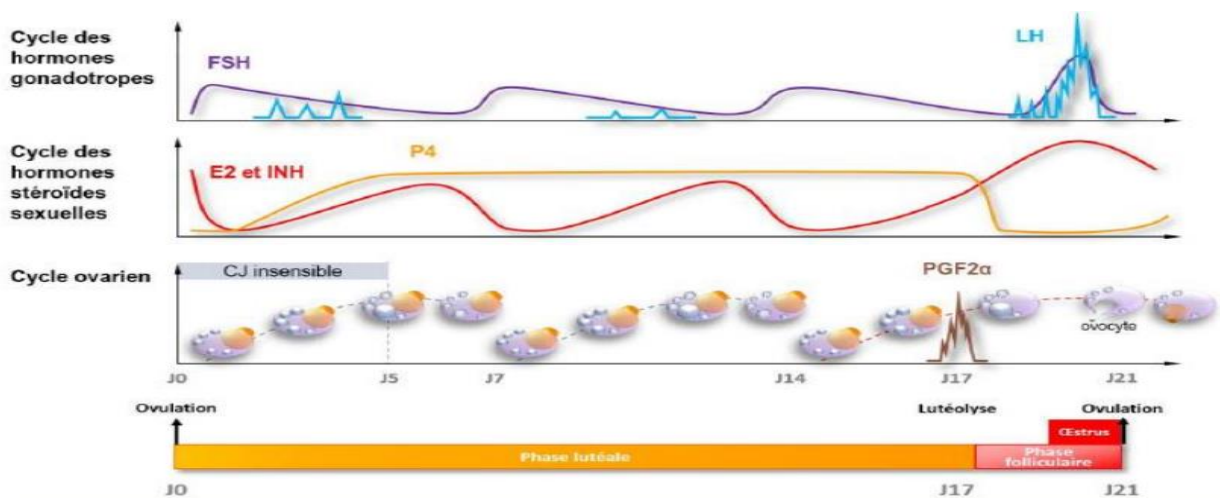
En phase lutéale, la concentration en progestérone augmente les cinq premiers jours avant de se stabiliser, puis se maintient à un taux élevé tant que le corps jaune reste fonctionnel (**Figure 6**). De ce fait, les follicules dominants ne peuvent ovuler et s'atrésient, laissant place à la vague folliculaire suivante.

En phase folliculaire, suite à la régression du corps jaune régresse sous l'action de la prostaglandine F2 $\alpha$  (sécrétée par l'endomètre), la concentration en progestérone diminue. Le rétrocontrôle négatif exercé par la progestérone sur l'hypothalamus est alors levé et permet à la vague folliculaire débutante d'aller jusqu'à l'ovulation. En effet, dans cette vague folliculaire, le follicule dominant sécrète de plus en plus d'œstradiol et d'inhibine. En l'absence du rétrocontrôle négatif lié à la progestérone, cette concentration plasmatique en œstradiol atteint un niveau très élevé, à l'origine dans ces conditions d'un rétrocontrôle

fortement positif sur l'hypothalamus. En réponse à cette forte stimulation, une libération massive de GnRH est observée et conduit à la formation d'un pic de LH pré-ovulatoire (et dans une moindre mesure à celle d'un pic de FSH).



**Figure 5 :** Evolution des concentrations plasmatiques en FSH, LH, œstradiol 17 β (E2) et inhibine (INH) au cours d'une vague folliculaire (Mauffré et al., 2016).



**Figure 6 :** Evolution de la concentration des hormones au cours du cycle de la vache (E2 : œstradiol 17β ; INH : inhibine ; P4 : progestérone) (Mauffré et al., 2016).

# Chapitre II :

# La synchronisation des chaleurs

---

### **3. La synchronisation des chaleurs :**

#### **3.1. Définition :**

La synchronisation des chaleurs est la méthode qui consiste à faire venir en chaleurs à un moment prédéterminé, un groupe d'animaux en bloquant le cycle œstral et en induisant l'œstrus (**Coyank et Atman, 2003**).

#### **3.2. Méthodes d'induction des chaleurs :**

Les différents protocoles hormonaux possèdent des modes d'action différents et font appel à différents principes actifs. Ces molécules, hormones ou facteurs humoraux, sont utilisées, isolément ou bien de manière combinée, en fonction de leur cible et de leur mécanisme d'action. Cette partie vise à référencer les molécules utilisées en médecine vétérinaire pour des applications liées à la reproduction avant de les envisager au sein même des protocoles.

##### **3.2.1. Synchronisation à base de prostaglandines ou ses analogues :**

Parmi les prostaglandines  $F2\alpha$ , on va distinguer la  $PGF2\alpha$  naturelle (dinoprost trométhamine) et ses analogues de synthèse (alfaprostol, cloprosténol, luprostiol, étiproston). Les  $PGF2\alpha$  ont essentiellement une action lutéolytique mais aussi une action utérotonique, dans une moindre mesure. En effet, elles agissent *in vitro* sur les fibres musculaires lisses de l'utérus (**Ennuyer, 2000**). Les  $PGF2\alpha$  vont entraîner la lyse du corps jaune présent et par conséquent entraîner la levée du rétrocontrôle négatif exercé par la progestérone sur l'axe gonadotrope. Le follicule dominant de la vague en cours va ainsi pouvoir évoluer jusqu'à l'ovulation. Le délai entre l'injection et l'ovulation est variable, il dépend du stade où se trouve le futur follicule dominant au moment de l'injection (**Ennuyer, 2000**). Cependant, l'action lutéolytique n'est observée qu'à partir du 5ème jour suivant la formation du corps jaune, délai nécessaire à la mise en place des récepteurs à la  $PGF2\alpha$  sur le corps jaune néoformé (**Grimard et al, 2003**).

L'utilisation des  $PGF2\alpha$ , dans le cadre de la reproduction, est indiquée pour :

- Le traitement du subœstrus (chaleurs peu/non exprimées ou non détectées, chez des vaches cyclées). L'administration de  $PGF2\alpha$  va permettre l'apparition de chaleurs en moyenne trois à sept jours plus tard (à condition qu'un corps jaune réceptif à la  $PGF2\alpha$  soit présent au moment de l'injection).

- La synchronisation de l'œstrus. Des protocoles à deux injections permettent la synchronisation des chaleurs chez les animaux cyclés, génisses et vaches.

Les PGF2  $\alpha$  sont également utilisées à d'autres fins que la maîtrise de l'œstrus. Elles peuvent être utilisées entre autre, en cas de pyromètre et d'endométrite purulente ou encore pour provoquer un avortement ou induire le part. Ces molécules sont métabolisées rapidement dans les poumons, le foie, les reins, et elles sont excrétées par voie rénale. La demi-vie de ces molécules est de l'ordre de quelques minutes. En médecine vétérinaire, on retrouve ces molécules dans les produits : DINOLYTIC<sup>®</sup>, ENZAPROST<sup>®</sup>, LUTALYSE<sup>®</sup> (Dinoprost), ALFABEDYL<sup>®</sup> (Alfaprostol), ESTRUMATE<sup>®</sup>, GENESTRAN<sup>®</sup>, REPROSTENOL<sup>®</sup>, UNIANDINE<sup>®</sup> (Cloprosténol), PROSOLVIN<sup>®</sup> (Luprostiol).

### **3.2.2. Synchronisation à base de progestérone ou progestagènes :**

Les progestagènes sont des dispositifs contenant de la progestérone d'origine naturelle ou des analogues d'origine synthétique. Tous ces progestagènes ont des propriétés communes. Ils ont une activité lutéomimétique, autrement dit, ils reproduisent l'activité d'un corps jaune en exerçant un rétrocontrôle négatif sur la libération de la GnRH, inhibant ainsi la sécrétion hypophysaire de FSH et LH. La concentration en progestérone naturelle chute et reste à un niveau faible suite à l'administration de progestagènes (**Barnes et al. 1981**). L'imprégnation en progestérone exogène bloque la manifestation des chaleurs et l'ovulation, empêchant le follicule dominant de la vague en cours d'ovuler. La levée de l'imprégnation va entraîner une reprise d'activité du cycle suite à l'effondrement de la concentration plasmatique en progestérone (ou de l'un de ses analogues). En effet, le rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire est levé, et la fréquence des pulses de LH va augmenter jusqu'à l'obtention du pic de LH (et de FSH) pré-ovulatoire.

Initialement, les progestagènes étaient utilisés sur de longues périodes (environ trois semaines). Le pourcentage de chaleurs induites était important et les chaleurs très bien synchronisées (**Larson et al, 2009**). Toutefois, la fertilité associée, était quant à elle faible. En effet, le follicule dominant ovulant à la fin du protocole de trois semaines était présent depuis longtemps et renfermait un ovocyte trop vieux et donc de mauvaise qualité (**Bo et al, 1995**). Les protocoles ont donc été revus et la durée de ces protocoles raccourcie (une à deux semaines) avec l'ajout d'œstrogènes.

Cette diminution a permis une optimisation de la fertilité, mais au détriment du taux de synchronisation des chaleurs (**Spitzer et al. 1978**).

Parmi les progestagènes vétérinaires contenant de la progestérone d'origine naturelle, figurent les dispositifs intra-vaginaux : CIDR<sup>®</sup>, PRID<sup>®</sup>, Cue-Mate<sup>®</sup> (progestérone). Tandis que pour les progestagènes à base de progestérone d'origine synthétique, seuls l'implant auriculaire sous-cutané, CRESTAR<sup>®</sup> (Norgestomet), et l'aliment médicamenteux, MGA<sup>®</sup> (acétate de mélangestrol) sont disponibles sur le marché.

### **3.2.3. Gonadotrophines et médicaments agissant sur leur libération :**

La stimulation des ovaires chez la femelle, repose essentiellement sur la gonadolibérine d'origine hypothalamique (GnRH) ou de ses analogues (buséreline, gonadoréline, léciréline) et sur les hormones gonadotropes (FSH et LH). D'autres gonadotrophines mais cette fois d'origine placentaire, peuvent aussi être utilisées en médecine vétérinaire : la PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotropine) ou ecG (équine Chorionic Gonadotropin) et l'hCG (human Chorionic Gonadotropin).

#### **a. GnRH et ses analogues :**

##### **➤ Gonadoréline :**

La gonadoréline (sous forme d'acétate) est un décapeptide de synthèse identique physiologiquement et chimiquement à la GnRH naturelle. Pour rappel, la GnRH est sécrétée de manière pulsatile et entraîne la stimulation de la sécrétion de FSH et LH. En pratique, la gonadoréline est utilisée chez la vache pour :

- L'induction de l'ovulation : l'injection de GnRH va provoquer une décharge brutale de LH, ce qui va induire la formation d'un pic pré-ovulatoire, et par la suite l'ovulation de tous les follicules sensibles à la LH. On évite ainsi la persistance du follicule dominant éventuellement présent en début de traitement (**Mee et al. 1993**). Chez la vache en œstrus, cela permet le plus souvent l'ovulation dans les 24 heures suivant l'injection, avec la lutéinisation du follicule ayant ovulé et l'initiation d'une nouvelle vague folliculaire. La GnRH va également stimuler la sécrétion de FSH et donc favoriser la croissance folliculaire.

- L'augmentation de la probabilité d'une gestation après une insémination : l'injection de GnRH (ou de hCG) permet d'améliorer la synthèse de progestérone endogène. La GnRH se lie aux récepteurs à la LH situés sur la membrane des petites cellules lutéales et induit la synthèse de progestérone par le corps jaune. L'augmentation de progestérone suite à l'injection de GnRH est essentiellement due à la formation d'un corps jaune accessoire. Cette augmentation de progestérone plasmatique améliore la survie des embryons, ce qui améliore les taux de gestations (**Santos et al, 2001**). Toutefois de nombreuses études ont

été réalisées avec la GnRH (ou de l'hCG), administrées à différents moments après l'insémination, en vue d'augmenter le taux de gestation (**Sterry et al, 2006 ; Szenci et al., 2006**). Les résultats divergents de ces expériences ne permettent pas de conclure formellement quant à l'efficacité d'un tel traitement.

- Le traitement des kystes folliculaires (provoque la lutéinisation des kystes). Après administration (intramusculaire ou intraveineuse), la gonadoréline est rapidement absorbée à partir du lieu d'injection. Elle possède une demi-vie plasmatique très courte (vingt minutes environ). Les augmentations de concentration de FSH et LH sont observées respectivement une demi-heure et deux heures après l'administration de la gonadoréline, ce qui témoigne d'une distribution rapide jusqu'à l'adénohypophyse. La substance active est ensuite rapidement métabolisée dans le foie en peptides inactifs et en acides aminés puis excrétée principalement par le rein bien qu'une proportion non négligeable soit aussi rejetée dans l'air expiré (**Chastant-Maillard et al., 2002**). La différence majeure entre la gonadoréline et les autres analogues de synthèse concerne l'amplitude du pic de LH induit. Cette amplitude est significativement inférieure lorsqu'il s'agit de la gonadoréline (**Merle, 2014**). Les spécialités vétérinaires actuellement sur le marché, qui contiennent de la gonadoréline sont : ACEGON<sup>®</sup>, CYSTORELINE<sup>®</sup>, FERTAGYL<sup>®</sup>, GONAVET<sup>®</sup> et OESTRACTON<sup>®</sup>.

➤ **Buséréline :**

La buséréline est un analogue de la GnRH, qui possède une affinité très forte pour les récepteurs hypophysaires. Chez la vache, son effet est plus durable et plus intense (cinquante fois plus active) comparativement aux molécules naturelles (**Chenault et al. 1990**). Le mécanisme d'action de la buséréline est identique à celui de la GnRH. Elle se concentre dans l'hypophyse, le rein et le foie, possède une demi-vie semblable à celle de la gonadoréline et est excrétée de façon similaire. 43 Les spécialités vétérinaires actuellement sur le marché, qui contiennent de la buséréline sont : BUSOL<sup>®</sup>, RECEPTAL<sup>®</sup> et VETERELINT<sup>®</sup>.

➤ **Léciréline :**

La léciréline est également un analogue de synthèse. Contrairement à la gonadoréline et à la buséréline (décapeptides), il s'agit d'un non peptide. La glycine en position six est remplacée par la leucine D-tertiaire et un éthylamide se trouve en position dix. Compte tenu de ces différences structurelles, la léciréline présente une persistance supérieure au niveau des récepteurs spécifiques hypophysaires. Son action est identique à la GnRH naturelle. Selon le RCP (Résumé des Caractéristiques du Produit) de la REPRORELIN<sup>®</sup>, la léciréline est rapidement absorbée et son action hormonale persiste plusieurs heures, grâce à une plus grande persistance de la liaison au site récepteur. Comme les autres analogues de la



GnRH, elle s'accumule surtout dans le foie, le rein et l'hypophyse. Elle est enfin métabolisée puis excrétée dans les urines. La spécialité vétérinaire contenant de la léciréline est : REPRORELIN<sup>®</sup>.

➤ **Fertiréline :**

La fertiréline constitue un des nombreux analogues de la GnRH. La fertiréline sous forme d'acétate, présente les mêmes intérêts (quatre à dix fois plus puissante que la gonadoréline) et les mêmes caractéristiques que les autres analogues. Quelques études et essais de protocole ont été réalisés avec cette molécule mais il n'existe pas de spécialité vétérinaire disponible sur le marché (**Hanzen, 2015b**).

**b. Gonadotrophines :**

➤ **Gonadotrophines hypophysaires :**

La FSH est principalement utilisée dans les protocoles de super-ovulation. Cependant, elle est également envisagée dans certains protocoles de synchronisation des chaleurs en association avec des progestagènes. L'administration de FSH (à faible dose) lors de l'émergence d'une vague folliculaire pourrait avoir un effet bénéfique sur le follicule ovulatoire et in fine sur la qualité de l'ovocyte. Bien que les follicules soient à ce moment-là du cycle, plus sensibles à la LH qu'à la FSH, ils possèdent tout de même des récepteurs à la FSH (c'est le cas des follicules dominants supérieurs à 10 mm) d'où l'effet observé (**Hampton et al, 2004**).

Par ailleurs, une administration de FSH et LH à des doses quatre fois plus faibles que celles utilisées pour obtenir une super-ovulation permettrait l'induction de l'ovulation et le soutien de la croissance folliculaire (**Friedman et al, 2010**). La demi-vie relativement courte de ces deux hormones ainsi que le coût relativement élevé des produits expliquent qu'en dehors des protocoles de super-ovulation ces molécules soient relativement peu utilisées.

Des spécialités utilisées en médecine vétérinaire contiennent des hormones d'origine porcine (pFSH et pLH), il s'agit de : PLUSET<sup>®</sup> et STIMUFOL<sup>®</sup>.

➤ **Gonadotrophines chorioniques :**

• **eCG (PMSG) :**

L'eCG (equine Chorionic Gonadotropin), anciennement PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotropin), provient du sérum de jument gravide. Elle possède une action similaire à la GnRH, avec d'une part une action de type FSH, qui soutient la croissance folliculaire et la production folliculaire d'œstrogènes et d'autre part une action de type LH favorisant l'ovulation (**Picard-Hagen et al, 2005**).

Au sein des protocoles de synchronisation, l'eCG est habituellement utilisée en fin de traitement, couplée aux progestagènes. L'utilisation d'eCG se justifie habituellement, chez des femelles non cyclées, en raison de la faible activité hypothalamo-hypophysaire. En stimulant la croissance folliculaire et la sécrétion d'œstrogènes, l'injection d'eCG va augmenter les chances d'obtenir une ovulation au moment souhaité. Toutefois, l'ajout d'eCG n'est pas indispensable dans le cas de femelles cyclées. L'utilisation au préalable de progestagènes est indispensable pour provoquer une ovulation en cas d'anœstrus. Ceci permet le développement de récepteurs à la LH et permet d'assurer une fonction lutéale normale après ovulation (**Picard-Hagen et al, 2005**).

Selon, le type d'animaux (génisses ou vaches), le statut physiologique (cyclé ou non cyclé), la race... les doses doivent être adaptées afin de ne pas provoquer d'ovulation multiple, associées à des gestations multiples. Les spécialités vétérinaires ayant pour principe actif l'eCG ou PMSG sont : FOLLIGON®, SYNCROSTIM®, CHRONO GEST® et SYNCRO-PART®.

• **hCG :**

L'hCG (human Chorionic Gonadotropin) est l'équivalent de l'eCG mais chez l'humain. Elle est produite pendant la grossesse et éliminée par voie urinaire. L'hCG se fixe sur les récepteurs à la LH et induit une ovulation 28 h après son injection (Monniaux et al., 2009). L'hCG possède une demi-vie de trente heures. L'hCG, comme l'eCG, a une activité comparable à la GnRH, et est ainsi utilisée surtout pour induire l'ovulation (activité de type LH). Toutefois, l'hCG agit directement sur les ovaires alors que la GnRH stimule l'antéhypophyse. Cette différence prend de l'importance dans les cas où la production de LH endogène pourrait être insuffisante (déficit énergétique, processus infectieux) (**Walsh et al, 2011**).

La spécialité vétérinaire contenant de l'hCG est : CHORULON®.

### 3.2.4. Les œstrogènes :

La demi-vie de ces molécules étant relativement brève, les œstrogènes ne s'accumulent pas dans l'organisme. Par conséquent, les œstrogènes ont été estérifiés sous forme de benzoate ou de valérate pour permettre d'allonger leur durée de vie et d'augmenter leur efficacité (**Vandewinkel, 2000**).

Les œstrogènes peuvent être utilisés pour leur action anti-lutéotrope sur le corps jaune. En phase de maturation ils vont induire la lutéolyse (**Grimard et al, 2003**). En phase de développement, ils vont prévenir la synthèse de progestérone endogène. Ainsi, ils peuvent être utilisés dans des protocoles à base de progestagènes pour permettre une reprise des pulses de LH encore plus efficace lors du retrait du progestagène (**Hanzen et Laurent, 1991**). Ce qui améliore la synchronisation, la fertilité à l'œstrus induit et permet de réduire la durée des traitements progestatifs.

Les œstrogènes ont également une action sur les vagues folliculaires, en inhibant la synthèse de FSH. La diminution de FSH, et de LH qui s'ensuit, provoque l'atrésie des follicules FSH-dépendants et du follicule dominant (si présent). Autrement dit, cela provoque l'arrêt de la vague folliculaire en cours (**Ennuyer, 2000**). L'émergence de la nouvelle vague sera possible lorsque la concentration en œstrogène diminuera (**Bo et al, 1995**). Les œstrogènes ont une efficacité réelle sur la synchronisation de la croissance folliculaire mais ne sont plus autorisés dans l'UE comme vu précédemment (**Diskin et al, 2002**).

Toutefois, hors UE, les protocoles utilisant des œstrogènes sont encore autorisés. Les molécules utilisées pour les protocoles sont : le cypionate d'œstradiol, le benzoate d'œstradiol et le valérate d'œstradiol.

#### 4. Les protocoles de synchronisation :

Si chez les ruminants il existe divers moyens permettant la maîtrise des cycles, en particulier des moyens zootechniques (effet troupeau, photopériodisme, présence du mâle, flushing), ces moyens possèdent une efficacité limitée dans l'espèce bovine. Par conséquent, chez la vache, la maîtrise de la reproduction repose essentiellement sur la mise en œuvre de protocoles hormonaux de synchronisation des chaleurs. Ces protocoles hormonaux, qui ont pour indications le traitement de l'anoestrus vrai, des anomalies de cyclicité ou la synchronisation des chaleurs d'un groupe de femelles pour les inséminer au même moment, permettent à l'éleveur d'augmenter le taux d'utilisation de l'insémination artificielle pour profiter de l'amélioration génétique (en élevage bovin viande notamment) de planifier ses vêlages et facilite ainsi son travail.

Il existe trois types de protocoles hormonaux, utilisés dans la maîtrise des cycles, qu'il est possible de classer de la manière suivante :

- Les protocoles à base de progestagènes
- Les protocoles à base de PGF2 $\alpha$  seule,
- Les protocoles à base de PGF2  $\alpha$  et de GnRH,

Il existe de très nombreuses variantes ou combinaisons de ces protocoles.

##### 4.1. Les protocoles à base de progestagènes :

Il existe plusieurs spécialités sur le marché, disponibles sous diverses formes galéniques :

- implant auriculaire sous-cutané (CRESTAR<sup>®</sup>, CRESTAR SO<sup>®</sup>) à base de norgestomet, analogue de la progestérone,
- dispositif intra-vaginal (CIDR<sup>®</sup>, PRID<sup>®</sup> Delta, Cue-Mate<sup>®</sup>) à base de progestérone naturelle,
- aliment médicamenteux (MGA<sup>®</sup>) à base d'acétate de mélangestrol.

##### ➤ **Mécanisme d'action :**

Les progestagènes sont des hormones stéroïdiennes possédant des propriétés comparables à celle de la progestérone. Quelle que soient les spécialités, le mécanisme d'action reste le même : il consiste à bloquer l'activité ovarienne via un rétrocontrôle négatif exercé sur l'axe hypothalamo-hypophysaire. La libération de progestérone ou de l'un de ses analogues permet d'inhiber la libération de

GnRH par l'hypothalamus et donc celle de LH par l'hypophyse, empêchant ainsi chaleurs et ovulation. Ces dispositifs sont qualifiés de corps jaunes artificiels, et leur action est comparable à celle de la progestérone endogène produite par un corps jaune naturel. Le retrait du dispositif, ou l'arrêt de l'alimentation pour le MGA<sup>®</sup>, permet la levée de l'inhibition, et s'accompagne d'un pic de LH, donnant lieu à l'ovulation du follicule dominant de la vague folliculaire en cours. Ces progestagènes peuvent être utilisés chez des femelles cyclées mais sont également indiqués pour les femelles non cyclées, car ils stimulent le développement de récepteurs à la LH sur les follicules, les rendant ainsi sensibles à la LH. Les chaleurs réapparaissent alors dans un délai de trois à cinq jours, chez 88 à 90 % des femelles ayant reçu une spirale vaginale et chez 76 à 98 % des femelles ayant reçu un implant sous-cutané **(Hanzen et Laurent, 1991)**.

Les différents protocoles utilisant des progestagènes sont souvent accompagnés d'injections de PGF2 $\alpha$ , de GnRH, d'œstrogènes, d'hCG ou eCG.

L'injection de PGF2 $\alpha$  survient généralement en fin de protocole, pour provoquer la lutéolyse d'un corps jaune éventuellement présent et ainsi permettre la chute de la progestéronémie au moment du retrait ou de l'arrêt du progestagène. Ce corps jaune peut, soit provenir d'une ovulation précédente dans le cas d'une femelle déjà cyclée, soit être le résultat d'une ovulation au début du protocole dans le cas d'une femelle non cyclée. En effet, chez les 77 femelles non cyclées, la progestéronémie est à un niveau trop faible et ne peut donc pas inhiber l'ovulation. Lorsque l'injection de PGF2 $\alpha$ , est réalisée dans les 24 à 48 heures avant ou au moment du retrait du dispositif, la synchronisation des chaleurs et la fertilité sont meilleures, comparativement aux protocoles sans PGF2 $\alpha$  (respectivement 98 % vs 63 % et 66 % vs 42 %) **(Hanzen et Laurent, 1991)**.

Une injection de GnRH peut aussi être réalisée au moment de la pose de l'implant dans le but d'éliminer un éventuel follicule dominant. En effet, comme vu précédemment, lorsque le follicule dominant est trop vieux (plus de neuf jours), il est de moins bonne qualité et par conséquent le taux de gestation s'en trouve dégradé **(Bo et al, 1995 ; Mihm et al., 1994 ; Austin et al., 1999)**.

L'injection de GnRH se justifie surtout pour des protocoles dont la durée de pose du progestagène est supérieure à huit jours. Elle a pour objectif de provoquer l'ovulation du follicule dominant éventuellement présent et de permettre le démarrage d'une nouvelle vague folliculaire.

Une administration de GnRH peut également être réalisée, 30 heures après le retrait du progestagène **(Troxel et al, 1993)**. Ceci améliore la fertilité à l'œstrus induit lorsqu'une seule insémination est réalisée 48 à 56 heures après retrait du progestatif **(Hanzen et Laurent, 1991)**.

L'injection d'eCG, permet d'induire l'ovulation, d'obtenir une meilleure synchronisation de l'œstrus et améliore la fertilité à l'œstrus induit, mais seulement chez les femelles non cyclées. En revanche, cette injection d'eCG n'est pas indispensable pour des femelles cyclées et n'est d'ailleurs pas souhaitée car cela augmente le risque de gémellité (**Grimard et al, 2003**).

L'utilisation des œstrogènes en début de traitement dans les protocoles à base de progestagènes, permet de prévenir la formation du corps jaune (s'il est en phase de développement) ou bien provoque sa régression (s'il est en phase de maturation). Les œstrogènes ont également une action sur les vagues folliculaires, en inhibant la synthèse de FSH. Autrement dit, l'administration initiale d'œstrogènes provoque l'arrêt de la vague folliculaire en cours (**Ennuyer, 2000**). L'émergence de la nouvelle vague folliculaire sera possible lorsque la concentration en œstrogène diminuera (4,3 jours en moyenne après le début du traitement), c'est un élément essentiel pour obtenir une bonne synchronisation de l'ovulation (**Bo et al, 1995**). Ces protocoles sont donc très bien indiqués pour synchroniser les femelles cyclées et non cyclées d'un même lot, situation fréquente en troupeau allaitant (**Grimard et al, 2003**).

Les protocoles à base de progestagènes peuvent être mis en œuvre sans l'utilisation des œstrogènes. Toutefois, la fertilité semble diminuée lorsque le protocole est initié après le 14ème jour du cycle œstral. Cette diminution de la fertilité serait associée à l'apparition d'un follicule dominant persistant sur 80 % des animaux (**Beal, 1996**). La parade qui est donc utilisée suite à l'interdiction des œstrogènes dans l'UE, consiste à remplacer l'injection d'œstrogènes initiale par une injection de GnRH. Les taux de gestation ne sont pas impactés par ce changement (**Picard-Hagen et al, 2008**).

#### **4.1.1. PRID® Delta :**

Le dispositif PRID® Delta est un dispositif intravaginal en forme de triangle. PRID® est l'acronyme de : Progesterone-Releasing Intravaginal Device. Autrement dit, c'est un dispositif intravaginal relarguant de la progestérone de manière contrôlée. Il s'agit d'un support inerte, mélange de polyamide associé à un élastomère (Ethyle Vinyle Acétate), imprégné de progestérone. Le dispositif est introduit dans le vagin à l'aide d'un applicateur spécifique. Il libère alors de la progestérone en continu et cette dernière passe dans la circulation sanguine à travers la muqueuse vaginale. Le dispositif est laissé en place pendant cinq à dix jours, en fonction du protocole choisi.

Encore une fois, ces protocoles peuvent être accompagnés d'injection de GnRH, PGF2α et d'eCG. Le retrait est effectué par traction sur la ficelle fixée au dispositif.

Le protocole standard proposé par le fabricant, préconise de laisser le dispositif en place sept à neuf jours, associé à une injection de PGF2 $\alpha$  24 heures avant le retrait du PRID<sup>®</sup> Delta. Une éventuelle injection d'eCG est ajoutée au moment du retrait, si la femelle est non cyclée avant le début du protocole. L'insémination est réalisée 56 heures après retrait ou sur chaleurs observées.

Une première étude avait pour objectif de comparer l'impact de la durée de protocole, sept ou neuf jours, sur les taux de gestation des races laitières et allaitantes. Le taux global de gestation était de 60,1 %, génisses et vaches confondues. De manière générale, le protocole de neuf jours donne de meilleurs taux que celui de sept jours (62,8 % vs 57,5 %). De plus, cette différence entre le protocole de neuf et celui de sept jours est plus marquée sur les génisses viande (respectivement 78,5 % vs 68,5 %) et sur les vaches laitières (respectivement 42,9 % vs 33,3 %). Finalement, la différence la plus importante entre ces deux protocoles concerne les femelles non cyclées (64,3 % vs 50,0 %). En conclusion, le protocole de neuf jours tend à améliorer la fertilité des animaux, plus particulièrement des animaux non cyclés (**Floch et al, 2008**).

Dans une étude de 2003, les auteurs comparent le protocole Ovsynch, à deux autres protocoles utilisant le dispositif PRID<sup>®</sup> Delta. Ces deux traitements nécessitent de laisser en place le PRID<sup>®</sup> Delta pendant neuf jours, avec une injection de PGF2 $\alpha$  48 heures avant retrait du support (J7). Pour l'un des deux protocoles, une injection de GnRH est ajoutée 36 heures après le retrait du progestagène. Enfin, dans les deux cas, l'IA est réalisée 56 heures après (**Murugavel et al, 2003**).

Dans cette étude, l'utilisation du PRID<sup>®</sup> Delta combinée au protocole Ovsynch permet d'améliorer les taux d'ovulation et de gestation, lorsque la progestéronémie en début de traitement est faible. Au contraire, lorsque la progestéronémie en début de traitement est déjà élevée, le protocole Ovsynch donne de meilleurs résultats que les protocoles appelés 9-day Ovsynch. L'administration de la deuxième GnRH donne un meilleur taux d'ovulation par rapport au traitement PRID<sup>®</sup> Delta, qui n'en comporte pas. En effet, la deuxième dose de GnRH améliore l'ovulation du follicule dominant en amplifiant le pic de LH pré-ovulatoire (**Murugavel et al, 2003**).

D'autres auteurs ont testé les protocoles PRID<sup>®</sup> Delta associés à Ovsynch. Parmi ces protocoles le dispositif PRID<sup>®</sup> Delta est laissé en place cinq ou sept jours, suivi d'une injection de PGF2 $\alpha$ , cette fois-ci au retrait du progestatif. Pour le protocole 5-day Ovsynch et pour l'un des deux protocoles 7-day Ovsynch, une seconde PGF2 $\alpha$  est réalisée 24 heures après la première. Enfin, pour l'ensemble des trois protocoles, une injection de GnRH est réalisée 56 heures après le retrait du PRID<sup>®</sup> Delta et l'insémination a lieu 16 heures après la GnRH, soit 72 heures après retrait du support.

#### 4.2. Les protocoles à base de PGF2 $\alpha$ seule :

La PGF2 $\alpha$  naturelle ou ses analogues de synthèse sont surtout utilisées sous la forme de solution injectable par voie intramusculaire (IM). Au sein des protocoles à base de PGF2 $\alpha$ , on différencie les protocoles à une injection unique, des protocoles à deux injections.

##### 4.2.1 Protocoles à une seule injection :

Le protocole avec une injection unique est utilisé chez des femelles présentant un corps jaune fonctionnel et sensible à la PGF2  $\alpha$ , autrement dit plus de cinq jours après l'ovulation. Les femelles viennent alors en chaleurs dans les deux à sept jours suivant l'injection et sont inséminées sur chaleurs observées.

##### ➤ **Mécanisme d'action :**

L'injection de PGF2  $\alpha$  (naturelle ou analogue) va provoquer la lyse anticipée du corps jaune fonctionnel en 24 heures, ce qui a pour conséquence de raccourcir artificiellement la durée de vie du corps jaune. La régression du corps jaune permet la diminution rapide de la progestéronémie, et donc la levée du rétrocontrôle négatif sur la libération pulsatile de GnRH, et donc de LH. La fréquence des pulses de LH augmente alors de façon similaire à ce qui est observé dans le cadre d'une lutéolyse naturelle (**Mauffré et al., 2016**). L'élévation de la fréquence des pulses de LH stimule la sécrétion d'œstradiol par un follicule sensible à la LH, grâce aux récepteurs à la LH présents dans la granulosa. La concentration en œstradiol augmente à son tour de manière très importante au point de provoquer le comportement de chaleurs ainsi que le pic ovulatoire de LH

Si l'injection de PGF2 $\alpha$  a lieu en présence d'un follicule dominant, l'apparition des chaleurs interviendra dans les deux jours suivant l'injection. Au contraire, si la lutéolyse a lieu en tout début de vague folliculaire, il faudra attendre l'apparition d'un nouveau follicule dominant, sensible à la LH ; l'apparition des chaleurs sera alors plus tardive (jusqu'à sept jours après injection). Cette variabilité d'apparition des chaleurs nécessite donc une insémination sur chaleurs observées (**Macmillan et Henderson, 1984**).



#### 4.2.2 Protocoles à deux injections :

il existe un protocole à deux injections pour les génisses et pour les vaches. Pour les génisses, les deux injections de PGF2 $\alpha$  sont espacées de 11 jours et l'IA peut être effectuée sur chaleurs observées ou à l'aveugle, 72 heures après la deuxième injection.

Pour les vaches, le protocole est assez similaire mais les injections de PGF2 $\alpha$  sont espacées de 14 jours et l'IA peut être également réalisée sur chaleurs observées ou à l'aveugle, 80 heures après la deuxième injection (**Mialot et al, 1999**). Une autre possibilité pour ce protocole consiste à réaliser deux inséminations à l'aveugle, 72 et 96 heures après la seconde injection de PGF2 $\alpha$ . Aussi bien pour le protocole des génisses que pour celui des vaches, l'insémination sur chaleurs observées est fortement recommandée car associée à de meilleurs taux de gestation que dans lors d'insémination à l'aveugle.

##### ➤ **Mécanisme d'action :**

La seconde injection de PGF2 $\alpha$  permet de réduire la variabilité observée dans l'apparition des chaleurs suite à une seule injection (chaleurs deux à sept jours après l'injection). Si la première injection a induit une lutéolyse, le corps jaune consécutif à l'ovulation qui aura suivi sera sensible à la PGF2 $\alpha$  à la 2ème injection. Si la première injection n'a pas induit la lutéolyse (corps jaune de moins de 5 jours), celle-ci pourra être induite par la 2ème injection. Ceci se traduit par des chaleurs davantage regroupées suite à la deuxième injection de PGF2 $\alpha$  (**Mialot et al, 1999**).

Comme dans le cas du protocole à une seule injection, l'ovulation a lieu dans les deux à sept jours suivant l'administration de PGF2 $\alpha$ . De plus, le corps jaune devient sensible à la PGF2 $\alpha$  seulement à partir du cinquième jour du cycle (**Grimard et al, 2003**). Il y a donc un délai de 12 jours maximum avant l'apparition d'un nouveau corps jaune sensible à la PGF2 $\alpha$ . Donc, le délai de 14 jours entre les deux injections, permet d'être sûr que la seconde injection sera réalisée en présence d'un corps jaune en phase de maturation, donc sensible à l'action de la PGF2 $\alpha$  et que la lutéolyse aura bien lieu. L'avantage de ce protocole est qu'il fonctionne également si la première injection a eu lieu en présence d'un corps jaune insensible à la PGF2 $\alpha$  (les cinq premiers jours de la phase lutéale). La première injection est donc sans effet, mais 14 jours plus tard, soit la lutéolyse est provoquée par la deuxième injection, soit elle a déjà été déclenchée par la PGF2 $\alpha$  endogène. Dans le cas du protocole pour les génisses, le délai est plus court (11 jours) car le cycle des génisses est un peu plus court (environ 20 jours), et les résultats sont meilleurs avec cet intervalle (**Mialot et al, 1999**).

### 4.3 L'ajout de GnRH/PGF2 $\alpha$ /Œstrogène :

D'autres essais ont permis d'évaluer l'efficacité de ce protocole seul, ou associé à de la GnRH, et/ou de la PGF2 $\alpha$ , et/ou des œstrogène.

Dans une étude menée par l'Université du Missouri, il a été montré que l'ajout de GnRH au jour trois, dans un protocole à deux injections de PGF2 $\alpha$  (J0 et J11) permet d'améliorer le pourcentage d'ovulation après la première injection. Les vaches ayant reçu la GnRH (J3) ont également tendance à avoir un follicule dominant plus grand et plus mature (16,5 +/- 0,5 mm) comparativement au protocole sans GnRH (15,0 +/- 0,7 mm) (**Borman et al, 2003**).

Une autre expérience de cette étude a consisté à ajouter du cypionate d'œstradiol (ECP), en fin de protocole PGP (à J11 avec la seconde PGF2 $\alpha$  ou seule à J12). A nouveau, l'ajout de GnRH a permis d'améliorer le pourcentage d'ovulation et l'ajout d'ECP (J11 ou J12) a permis d'améliorer l'expression des chaleurs (**Borman et al, 2003**).

Une autre étude sur les protocoles à deux injections de PGF2 $\alpha$ , réalisée sur des génisses allaitantes (Angus) par l'Université de la Saskatchewan, consistait à ajouter au protocole initial (PGF2 $\alpha$  à J0 et J14), soit des œstrogènes (benzoate d'œstradiol (EB) ou E17-  $\beta$ ), soit de la progestérone (P), soit de la GnRH, avec différentes combinaisons possibles (**Martínez et al, 2004**).

### 4.4 Les protocoles à base de PGF2 $\alpha$ et de GnRH :

La mauvaise détection des chaleurs constitue l'un des aspects les plus préjudiciables pour les performances de reproduction des vaches laitières. C'est pour cette raison que sont apparus des protocoles permettant de s'affranchir de cette détection de chaleur. Les protocoles associant de la GnRH et de la PGF2 $\alpha$  permettent de répondre à cette problématique, avec de très nombreuses combinaisons et variantes. Chez les vaches allaitantes, la monte naturelle domine. Les éleveurs ne sont pas habitués à détecter les chaleurs. L'utilisation de traitements de synchronisation avec IA à l'aveugle peut permettre d'améliorer l'utilisation de l'IA.

#### 4.4.1 Ovsynch

Le protocole Ovsynch est connu sous diverses appellations : "Ovsynch" en Amérique du nord, "GPG" en France (ou encore "7-2-1").

Le protocole est le suivant:

- ✓ GnRH à J0, PGF2 $\alpha$  à J7, GnRH à J9, IA à l'aveugle 16 à 24 heures plus tard (**Lamb et al, 2010**).

➤ **Mécanisme d'action :**

Dans les protocoles à base de PGF2 $\alpha$  seule, le délai d'apparition des chaleurs est variable (deux à sept jour suivant l'injection) car dépendant du stade de la vague folliculaire en cours. L'intérêt de la première injection de GnRH est d'augmenter la probabilité d'avoir un follicule dominant au moment de l'injection de PGF2 $\alpha$  sept jours plus tard.

La première injection de GnRH, correspondant à une forte dose, induit un pic de LH. Si au moment de l'injection, un follicule dominant est présent, celui-ci ovule et donne lieu à la formation d'un corps jaune secondaire. A la suite de l'ovulation, une nouvelle vague folliculaire émerge trois ou quatre jours plus tard et un follicule dominant sera donc présent sept jours après la première injection de GnRH (**Twagiramungu et al, 1992**). Lorsque le protocole Ovsynch est initié près du milieu de la vague folliculaire en cours, cela donnera des follicules ovulatoires plus petits mais un taux de gestation plus élevé (**Vasconcelos et al, 1999**).

L'injection de PGF2 $\alpha$ , sept jour après, va provoquer la lyse du corps jaune principal et du corps jaune secondaire s'il y en a un, et par conséquent provoquer la chute de la progestéronémie, et permettre l'ovulation du follicule dominant.

La seconde injection de GnRH, deux jours plus tard (soit neuf jours après la première), permet de préciser le moment de l'ovulation en renforçant le pic pré-ovulatoire de LH, ce qui permet d'inséminer une seule fois. Elle va induire l'ovulation du follicule dominant et éviter les ovulations trop tardives. Autrement dit, son rôle est de fixer la période d'ovulation pour permettre une insémination à l'aveugle. Les neuf jours séparant les deux injections de GnRH, laisse le temps pour qu'une nouvelle vague folliculaire émerge et qu'un nouveau follicule dominant arrive au stade pré-ovulatoire, moment où sa sensibilité et sa réceptivité à la LH sont les plus importantes (**Mauffré et al., 2016**). L'insémination artificielle est dans ce cas réalisée 16 à 24 heures après la dernière injection.

Toutefois, si la première injection de GnRH est réalisée en l'absence de follicule dominant, ou de follicules sensibles à la LH, il y a de grandes chances pour que la deuxième injection de GnRH soit également réalisée sans qu'il y ait de follicule dominant. De ce cas, l'insémination est alors inutile car l'ovulation n'aura pas lieu au bon moment.

# *Partie expérimentale*

### 5. Objectif de l'étude :

Les buts de cette étude sont :

- Vérifier le taux de réussite du protocole PRIDE®DELTA pour synchroniser les chaleurs chez les bovins.
- Déterminer le taux de progestérone dans le sang après le retrait de PRIDE®DELTA.
- Déterminer le temps exact pour l'insémination.

### 6. Lieu et période du travail :

Le travail a été réalisé durant la période allant du 05 janvier 2020 jusqu'au 27 février 2020 dans la ferme expérimentale de l'Université iben khaldon Tiaret.

### 7. Matériel et méthodes :

#### a. Matériel :

Les produits et matériel utilisés pour la synchronisation et le prélèvement sont :

- PRID® DELTA ( progestérone)
- ESTRUMATE® (PGF2 $\alpha$ )
- FOLLIGON®(PMSG)
- Applicateur du PRIDE®
- Tube hépariné vacutainer
- seringues
- vagin artificielle
- paillette
- pistolet de l'insémination artificielle
- gaine d'insémination



Figure7 : PRID® DELTA ( photo personnelle)



Figure8 : ESTUMATE® ( photo personnelle)



Figure9: FOLLIGON<sup>®</sup> ( photo personnelle)



Figure10: tube héparine



Figure11 : applicateur de PRID<sup>®</sup>DELTA( photo personnelle)



Figure 12 : vagin artificielle (photo personnelle)



Figure 13 : matérielle d'insémination (Photo personnelle)

**b. Animaux :**

L'étude a été réalisée sur 3 vaches (tableau N° 1)

Numéro d'ordre	Numéro d'identification	Age	Race
01 (figure 6)	14/21	3ans	croisé
02 (figure 7)	60671	4ans	Fleckvieh
03 (figure 8)	14/25	3ans	Fleckvieh

Tableau N°1 : Identification des animaux de l'étude



**Remarque :** Les vaches reçoivent une ration alimentaire à base de paille et de concentré.



**Figure14 :** vache N°1(14/21) (photo personnelle)



**Figure15 :** vache N°2(60671) (photo personnelle)



**Figure16 :** vache N°3(14/25) (photo personnelle)

### 8. Méthodes :

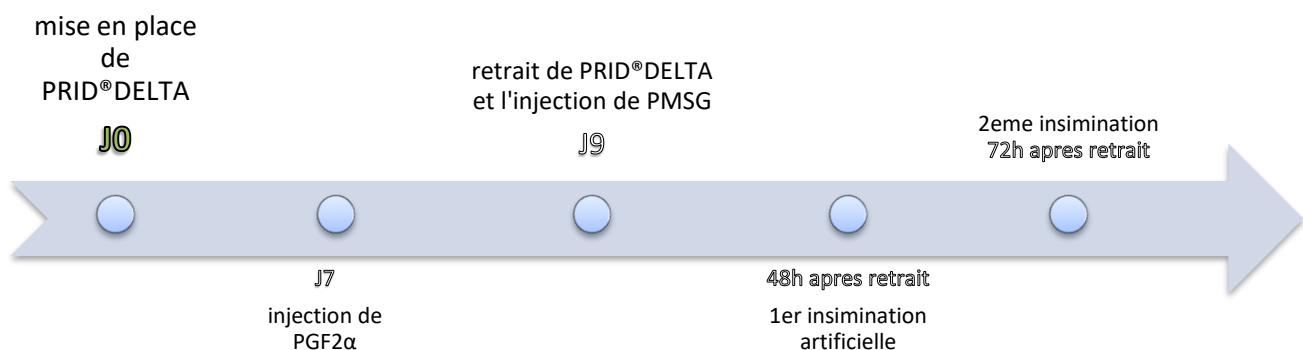
Après une anamnèse et un examen clinique détaillé, on a confirmé que les 3 vaches sont vides et en phase post-partum avec une involution utérine complète (60 jours post-partum) et un tractus génitale sans anomalie pathologique.



### 4.1 L'emplacement de PRID®DELTA :

Après avoir assuré une bonne contention des vaches, pour éviter tout mouvement brusque, pour l'emplacement de PRID® dans le vagin après avoir nettoyer la région périnéale ;

- Nous commençons la préparation de PRID®DELTA, les dispositifs intra-vaginaux peuvent perdre leur élasticité s'ils sont laissés trop longtemps dans l'applicateur.
- Nous ouvrons le sachet en aluminium et extraire le PRID®DELTA en utilisant des gants.
- Nous plions PRID®DELTA avant de l'introduire dans l'applicateur.
- Nous nous assurons que les deux cordelettes dépassent par la fente prévue à cet effet.
- Nous poussons le dispositif dans l'applicateur en le laissant dépasser de 2à3cm.
- Nous appliquons un lubrifiant à l'extérieur de l'applicateur pour faciliter la pose.
- Nous nettoyons la vulve puis introduisons l'applicateur dans le vagin en dirigeant l'extrémité de l'applicateur ver le plafond du vagin en respectant un angle de 40°.
- Pressez sur la poignée pour libérer PRID®DELTA puis sortez l'applicateur doucement.
- Le dispositif restera en place 9 jours selon le protocole utilisé.
- Une injection de 2 ml d'ESTUMATE ® (prostaglandine 2 alpha) doit être réalisé 48h avant le retrait du dispositif (7eme jour après la pose).
- Nous retirons le dispositif en tirant doucement sur la cordelette (figure10).
- En injecte une dose de 1000 UI de PMSG le jour du retrait.
- Nous pouvons alors inséminée les vaches 48h-72h après le retrait du dispositif.



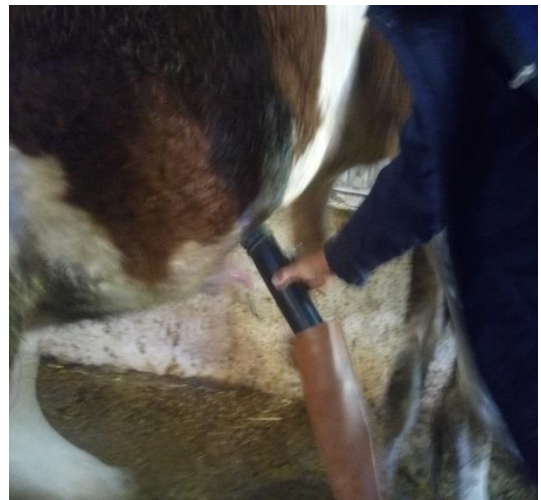
**Figure 17** : protocole de synchronisation des chaleurs par PRID®DELTA et l'insémination artificielle chez les bovins.



**Figure18** : le retrait de PRID®DELTA (photo personnelle).

#### **4.2. L'insémination :**

La 1<sup>er</sup> insémination a été réalisée 48 heures après le retrait de PRID®DELTA par une semence fraîche qu'on récoltée d'un taureau fleckvieh sur cite, puis on a ré-inséminer à 72h les vaches par la monte naturelle par le même taureau.



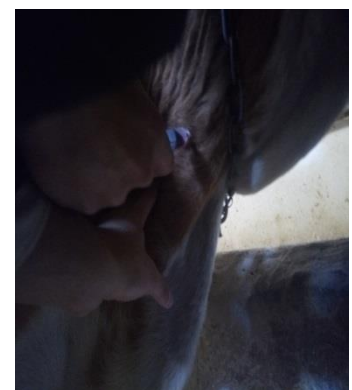
**Figure 19** : récolte de sperme (photo personnelle).



**Figure 20 : insémination artificielle (photo personnelle).**

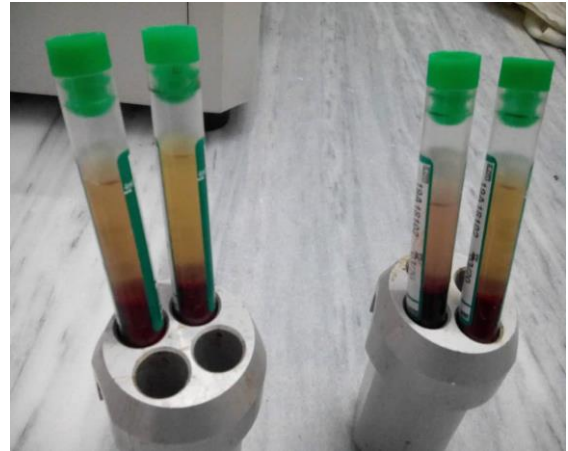
#### **4.3. Prélèvements de sang :**

Les prélèvements de sang (réalisés sur tube hépariné) en vue du dosage de la progestérone. Just après le prélèvement les tubes de sang ont été centrifugés a 4500 tpm et le surnageant à été transvasé dans des éppendorf et congelé à -20 jusqu'à analyse.

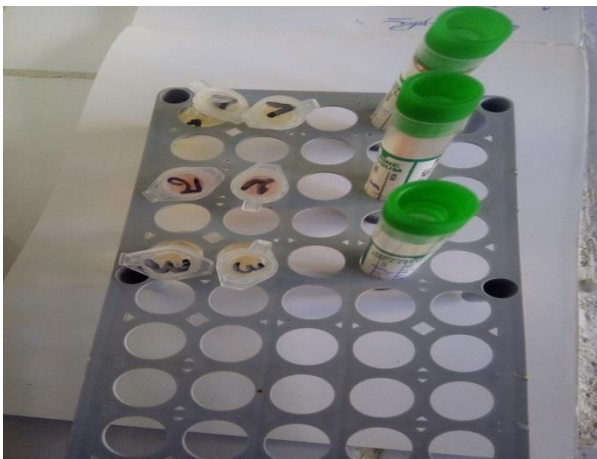


**Figure21: prélèvements de sang (photo personnelle).**





**Figure 22 :** centrifugation des prélèvements sanguine (photo personnelle).



**Figure23:** tubes des prélèvements et les eppendorf (photo personnelle).

Les prélèvements ont été envoyés au laboratoire privé MAACHI accompagnés d'une fiche de dosage comprenant les coordonnées de l'élevage, les numéros d'identification des vaches et le numéro de prise de sang.



**Figure 24** : analyseur hormonale ROCHE Cobas® 6000 (photo personnelle).

### **Méthode de dosage :**

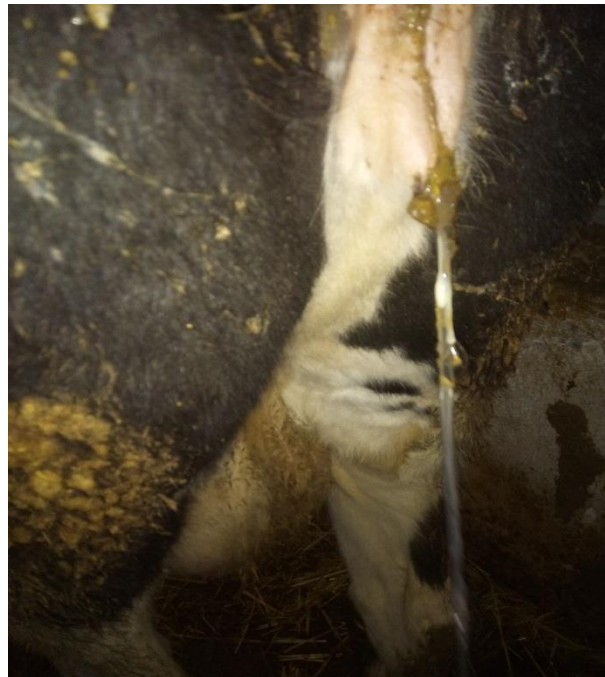
La progestérone est dosée par une technique immunologique avec un traceur marqué par un radio-isotope ou non. Aujourd'hui, les anticorps disponibles sont suffisamment spécifiques pour permettre le dosage direct dans l'aliquote sérique. De plus, beaucoup de ces immunodosages peuvent être effectués par les automates actuellement disponible.

**9. Résultats et discussion :**

**5.1. Résultats de synchronisation :**

**5.1.1. Le moment des chaleurs:**

La majorité des vaches qui ont été synchronisée présentant des Chaleurs après 24h à 48 h après la retrait de PRID®DELTA.



**Figure 25 : Glaires cervicales (photo personnelle).**



**Figure26 : image échographique d'une coupe transversale d'un ovaire de vache avec plusieurs follicules (photo personnelle).**

### 5.1.2. manifestation des chaleurs:

Parmi les différents signes de manifestation des chaleurs on a remarqué le chevauchement.

### 5.2. Taux de synchronisation après traitement

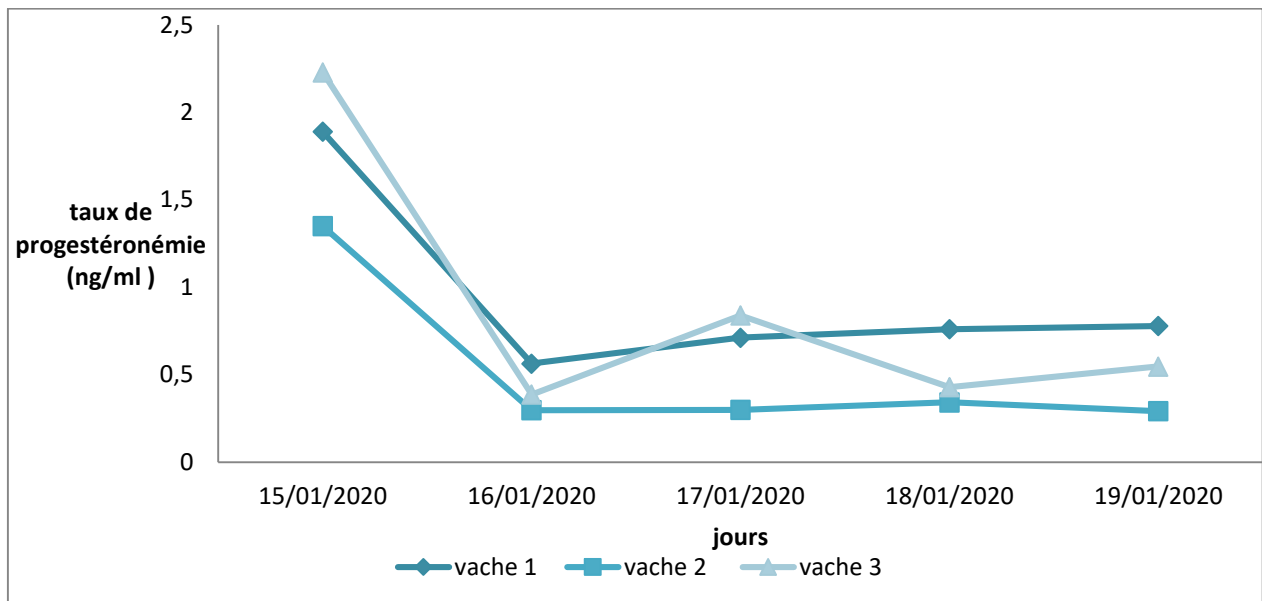
Le taux de synchronisation des chaleurs obtenu dans notre étude était de 100%, ce qui est supérieur à celui obtenu dans la plupart des études utilisant des progestagène (entre 61,4 et 92,8%) (**Stevenson.1995 ; Ryan et al .1995 ; Chevallier et al.1996 ; Humblot et Grimard.1996 ; kastelic et al.1999 ; Smith et Stevenson et al .2000 ; Xu et burton.2000**).Ce taux élevé peut être expliqué, en partie, par le bon taux de cyclicité avant traitement et par l'effet des hormones combinées (progestérone, PGF2alpha, et eCG) ainsi que la dose d'eCG, ces hormones ont montrés un effet synergique complémentaire dans notre étude. En effet, (**Xu et al. 2000**) ont obtenu un taux de synchronisation de 92,8% sur des vaches laitières qui étaient toutes cyclées avant le début du traitement de synchronisation (**Xu et burton.2000**).

Cependant, dans notre étude la confirmation de la manifestation des chaleurs été évaluer en plusieurs méthodes, par observation direct des signes d'œstrus, par échographie des voies génitales et des ovaires et par dosage de la progestérone ce qui nous a permis de voir une corrélation très étroite entre les différentes techniques utilisés pour l'évaluation.

### 5.3. Résultats de dosage de la progestéronémie :

vache	15.01.2020 Le jour de retrait	16.01.2020 24h après le retrait	17.01.2020 48h après le retrait	18.01.2020 72h après le retrait	19.01.2020 96h après le retrait
14/21	1.89	0.564	0.712	0.761	0.779
60671	1.35	0.297	0.299	0.342	0.292
14/25	2.23	0.387	0.839	0.429	0.547
moyen	1.823	0.416	0.616	0.510	0.539
écarte type	0.443	0.135	0.282	0.221	0.2435
max	2.23	0.564	0.839	0.761	0.779
min	1.35	0.297	0.299	0.342	0.292

**Tableau N°2:** variations de la progestéronémie (ng/ml) chez les vaches après la synchronisation.



**Figure 27:** courbe représentatif les variations de taux de progestéronémie après le retrait de PRID® DELTA.

Dans le présent travail le taux de progestérone sérique a pris un schéma caractéristique d'un bon Protocol de synchronisation avec des taux plus élevés le jours du retrait variant de 1,35 à 2,23 ng/ml chose qui est logique du fait de la présence de la source de progestérone exogène (PRID® DELTA) ; une fois le DELTA enlevé le taux de progestérone a chuté drastiquement juste après 24h en frôlant les valeurs de 0,56 et 0,29 ng/ml et cela est suite à l'injection de la Prostaglandine le 7 jours, le retrait du Delta le 9 jours suivi par la dose d'eCG le même jours qui ont contribuer à l'élimination des CJ existant et l'accélération de la croissance folliculaire, le taux de P4 restais en dessous de 1 ng/ml durant 3 jours post retrait ce qui explique la durés de chaleur qui est plus longue avec notre protocole et qui justifie l'utilisation d'une double insémination a 48 et 72h post retrait pour pouvoir couvrir une plus grande partie et avoir un taux de gestation élevé.



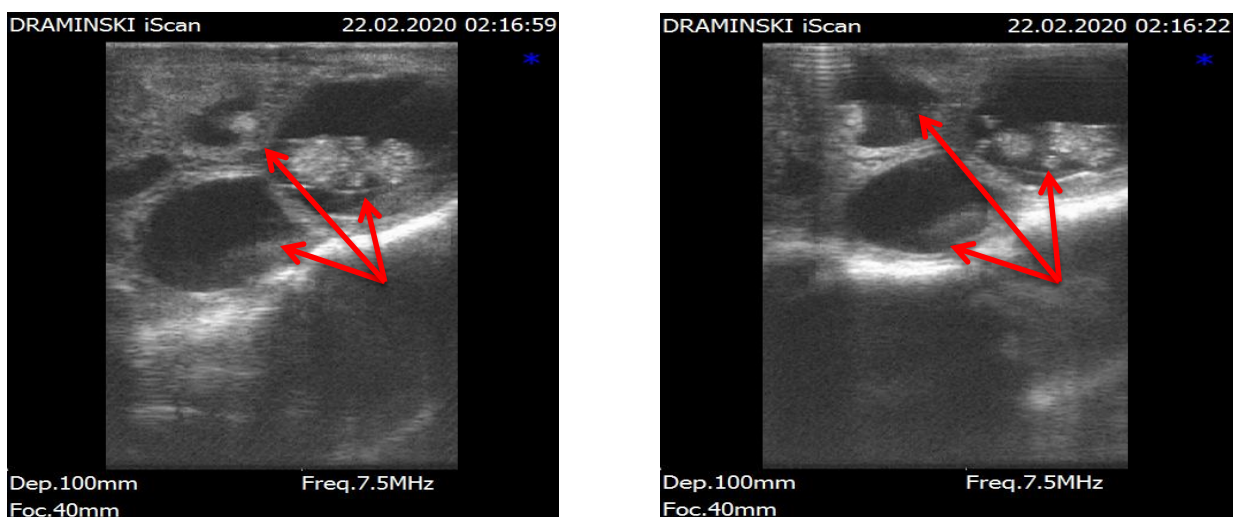
### 6. Diagnostic de gestation

Après 40 jours de l'insémination on a examiné les 3 vaches pour la confirmation de gestation.

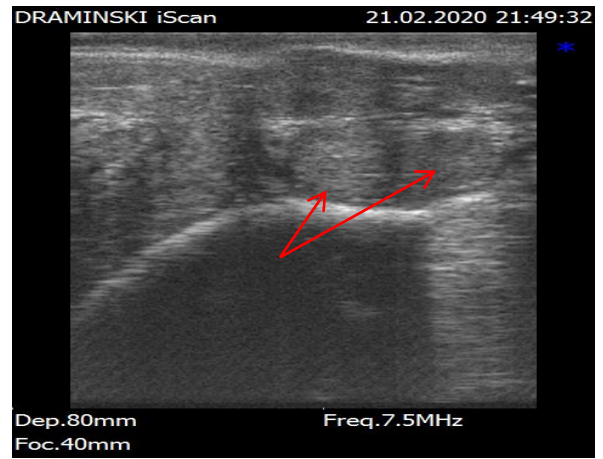
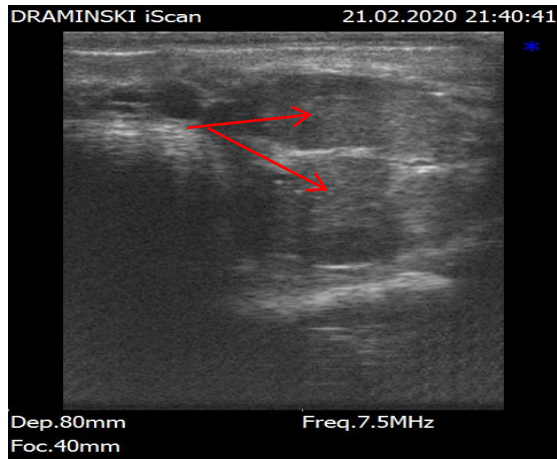
Après un examen échographique on a trouvé que les 3 vaches sont gestantes, et on assister chez 2 vaches (vache N°14/25 et la vache N°70671) une gestation gémellaire (**figure28 ; 29**).

Après suivi des vaches gestantes jusqu'à la mise bas on a confirmé que la vache N° 70671 a avorté d'un doublé (jumeaux) la vache N° 14/25 a été vendu gestante et la vache N° 14/21 a donnée naissance à un veau.

Le taux de gestation à l'œstrus induit : Dans notre étude, le taux de gestation à 40 jours était de 100%. Ce résultat est nettement supérieur au taux de gestation obtenus dans les différentes études utilisant des protocoles de synchronisation à base de progestérone ou de progéstagène sur des vaches laitières, qui varient de 39,0% à 65,4% (**Aguer.1981 ; Beal et al .1984 ; De Fontaubert et al. 1989 ; Rayan et al.1995 ; Mialot et al.1998 ; Beggs et al .2000; Xu et Burton.2000**) la gestation étant évalué soit par dosage de la PSPB (Pregnancy Specific Protein B) (**Mialot et al.1998**), soit par palpation transrectale entre 6 et 8 semaines (**Aguer.1981 ; Beal et al .1984 ; ; De Fontaubert et al. 1989 ; Xu et Burton.2000**), soit par échographie à 45 jours après IA (**Beggs et al .2000; Rayan et al.1995**). Cette différence est peut être due au nombre de femelles synchronisés dans notre expérimentation qui est de 03 vaches par rapport aux autres études dont les nombres est toujours important.



**Figure 28** : vue échographique d'une coupe transversale d'un utérus avec une gestation gémellaire de 40 jours (photo personnelle).



**Figure 29** : vue échographique d'une coupe transversale d'un ovaire d'une vache avec des corps jaunes gestatif 40 jours (photo personnelle).

## Conclusion :

---

Dans notre étude expérimentale nous concluons que le traitement de maîtrise des cycles dans l'espèce bovine par le protocole DELTA® (**progestirone+Pg $f2\alpha$ +eCG**) est le choix le plus approprié ; il nous a permis avant tout de synchroniser les chaleurs des vaches mais constitue aussi le traitement de choix pour répondre à des anomalies de cyclicité ou encore pour traiter les anoestrus postpartum.

Le taux de réussite du protocole DELTA® dans notre étude était de 100% ; le taux de progestéronémie le jour de l'insémination était compatible aux résultats des examens échographiques (observation des follicules ovulatoires d'un diamètre supérieur à 14mm et un taux de progestérone compris entre ) ; le taux de progestéronémie diminue directement après le retrait du dispositif (l'absence de CJ à cause de l'injection du Pg $f2\alpha$  ) et après insémination le taux de progestérone augmente chez ces vaches ce qui confirme une ovulation des follicules présents.

Le protocole a permis un taux de gestation égale à 100% diagnostiqué par écho et confirmé par la naissance de veaux et l'avortement d'une femelle d'un doublet.

# Références bibliographiques

---

- 1- RYAN DP, SNIJDERS S, YAAKUB H, O'FARRELL KJ. An evaluation of estrus synchronization programs in reproductive management of dairy herds. *J. Anim. Sci.*, 1995, 73, 3687-3695.
- 2- SMITH MW, STEVENSON JS. Fate of dominant follicle, embryonal survival, and pregnancy rates in dairy cattle treated with prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  and progestins in the absence or presence of a functional corpus luteum. *J. Anim. Sci.*, 1995, 73, 3743-3751.
- 3- BEAL WE, GOOD GA, PETERSON LA. Estrus synchronization and pregnancy rates in cyclic and noncyclic beef cows and heifers treated with synchro-mate B or norgestomet and alfaprostol. *Theriogenology*, 1984, 22, 59-66.
- 4- HUMBLOT P, GRIMARD B, RIBON O, KHIREDDINE B, DERVISHI V, THIBIER M. Sources of variation of post-partum cyclicity, ovulation and pregnancy rates in primiparous Charolais cows treated with norgestomet implants and PMSG. *Theriogenology*, 1996, 46, 1085-1096.
- 5- MIALOT JP, NOEL F, PUYALTO C, LAUMONIER G, SAUVEROCHE B. Traitement de l'anoestrus post-partum chez la vache laitière par le CIDR-E ou la prostaglandine F<sub>2</sub> $\alpha$ . *Bull. Group. Tech. Vét.*, 1998, 2, 29-38.
- 6- RYAN DP, SNIJDERS S, YAAKUB H, O'FARRELL KJ. An evaluation of estrus synchronization programs in reproductive management of dairy herds. *J. Anim. Sci.*, 1995, 73, 3687-3695.
- 7- STEVENSON JS, SMITH JF, HAWKINS DE. Reproductive outcomes for dairy heifers treated with combinations of prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$ , Norgestomet, and gonadotropinreleasing hormone. *J. Dairy Sci.*, 2000, 83, 2008-2015.
- 8-AGUER D. Les progestagènes dans la maîtrise des cycles sexuels chez les bovins. *Rec. Med. Vet.*, 1981, 157, 53-60.
- 9-Austin, E. J., M. Mihm, M. P. Ryan, D. H. Williams, et J. F. Roche. 1999. « Effect of Duration of Dominance of the Ovulatory Follicle on Onset of Estrus and Fertility in Heifers ». *Journal of Animal Science* 77 (8): 2219-26.
- 10-Ball, Peter J. H., et Andy R. Peters. 2008. *Reproduction in Cattle*. John Wiley & Sons.
- 11-BEGGS DS, HAMBLIN MC, WRAIGHT MD, MACMILLAN KL. Comparison of a whole herd synchrony programme using two prostaglandin injections given 14 days apart with a programme using oestradiol benzoate, progesterone and prostaglandin in seasonal calving dairy herds. In : *Proceedings of the World Buiatric Congress*, [CD Rom], 2000, Sidney, World Buiatric Society Ed.
- 12-Bo, G.A., G.P. Adams, M. Caccia, M. Martinez, R.A. Pierson, et R.J. Mapletoft. 1995. « Ovarian Follicular Wave Emergence after Treatment with Progestogen and Estradiol in Cattle ». *Animal Reproduction Science* 39 (3): 193-204.
- 13-Bonnes G., Descaude J., Drogoul C., Gadoud R., Le Loc'h A., Montmeas L., Robin G (1988) *Reproduction des mammifères d'élevage*. 1ère édition, Paris. 1988.

- 14-Borman, J. M., R. P. Radcliff, B. L. McCormack, F. N. Kojima, D. J. Patterson, K. L. Macmillan, et M. C. Lucy. 2003. « Synchronisation of oestrus in dairy cows using prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$ , gonadotrophin-releasing hormone, and oestradiol cypionate ». *Animal Reproduction Science* 76 (3–4): 163-76.
- 15-Bousquet D (1989) Endocrinologie du cycle sexuel. Journées scientifiques et professionnelles. Sommet de la Francophonie. EISMV : 2-11 mai 1989. Dakar.
- 16-Buffière M (1972) Contribution à l'étude de la synchronisation de l'oestrus chez la vache. Thèse doctorat vétérinaire, Lyon, n°72. 1972.
- 17-Chastant-Maillard, S, R Fournier, et D Remmy. 2005. « Actualités sur le cycle de la vache ». *Le Point vétérinaire* N°Spécial, Reproduction des ruminants : maîtrise des cycles et pathologie (36) : 10-15.
- 18-Chenault, J. R., D. D. Kratzer, R. A. Rzepkowski, et M. C. Goodwin. 1990. « LH and FSH Response of Holstein Heifers to Fertirelin Acetate, Gonadorelin and Buserelin ». *Theriogenology* 34 (1) : 81-98.
- 19-Christain D (1999) La production de bovin allaitant 1<sup>ère</sup> édition. France agricole. 1999, p : 115.
- 20-DE FONTAUBERT Y, COCHAUD J, TERQUI M. Synchronisation des chaleurs chez la vache laitière : bilan de l'utilisation du Synchro-Mate B pendant cinq années successives. *INRA Prod. Anim.*, 1989, 2, 317-323.
- 21-Decante F (1990) Le diagnostic de gestation par échographie en clientèle rurale bovine. *Bull. GTV.* 1990, p: 4, 45-51.
- 22-Diskin, M. G., E. J. Austin, et J. F. Roche. 2002. « Exogenous Hormonal Manipulation of Ovarian Activity in Cattle ». *Domestic Animal Endocrinology* 23 (1-2) : 211-28.
- 23-Ennuyer, Marc. 2000. « Les vagues folliculaires chez la vache: Applications pratiques à la maîtrise de la reproduction ». *Le Point vétérinaire : revue d'enseignement post-universitaire et de formation permanente* 31 (209) : 9-15.
- 24-Fieni, F, D Tainturier, J.F Bruyas, et I Battu. 1995. « Physiologie de l'activité ovarienne cyclique chez la vache ». - *Bull. Group. Tech. Vét.* (4) : 35-49.
- 25-Floch, S., F. Deletang, S. Freret, C. Ponsart, et D. Remmy. 2008. « Control of Oestrus with a Progesterone Intravaginal Device (Prid<sup>®</sup>) : Comparison of 2 Insertion Durations ».
- 26-Franco O.J., Drost M., Thatcher M.J., Shille V.M., Thatcher W.W (1987) Fetal survival in the cow after pregnancy diagnosis by palpation per rectum. *Theriogenology*.1987, p: 27, 4, 631-644.
- 26-Friedman, E., G. Glick, Y. Lavon, et Z. Roth. 2010. « Effects of Low-Dose Follicle-Stimulating Hormone Administration on Follicular Dynamics and Preovulatory Follicle Characteristics in Dairy Cows during the Summer ». *Domestic Animal Endocrinology* 39 (2) : 106-15.
- 27-Gil Z., Szarek J., Kural J (1997) Detection of silent oestrus in dairy cows by milk temperature measurement. *Anim. Sci.* 1997, p: 65, 25-29.
- 28-Giroud O (2007) Détection des chaleurs des vaches laitières par vidéosurveillance : évaluation de méthodes d'utilisation. Mémoire de fin d'études, ISARA, Lyon. 2007, p : 73.
- 29-Grimard, B, J Agabriel, G Chambon, A Chanvallon, S Chastant, F Constant, et J.P Mialot. 2017. « Particularités de la reproduction des vaches allaitantes de races françaises ». *INRA Prod. Anim.* 30 (2) : 125-138.

- 30-Grimard, B, P Humblot, A.A Ponter, S Chastant, F Constant, et J.P Mialot. 2003. « Efficacité des traitements de synchronisation des chaleurs chez les bovins ». *INRA Prod. Anim.* 16 (3) : 211-27.
- 31-Gwazdauskas F.C., Lineweaver J.A., Gillard M.L (1983) Environmental and Management Factors Affecting Estrous Activity in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 1983, p: 66, 1510-1514.
- 32-Hampton, J. H., J. F. Bader, W. R. Lamberson, M. F. Smith, R. S. Youngquist, et H. A. Garverick. 2004. « Gonadotropin Requirements for Dominant Follicle Selection in GnRH Agonist-Treated Cows ». *Reproduction (Cambridge, England)* 127 (6) : 695-703.
- 33-Hanzen CH 2004 : Aspects cliniques et thérapeutiques des infections utérines chez le ruminant 2eme doctorat.
- 34-Hanzen, C, O Lourtie, et PV Drion. 2000. « Le développement folliculaire chez la vache I-Aspects morphologiques et cinétiques ». *Ann Med Vet*, no 144 : 223-35.
- 35-Hanzen, Christian, et Yves Laurent. 1991. « Applications des progestagènes au traitement de l'anoestrus fonctionnel dans l'espèce bovine. » *Annales de Médecine Vétérinaire* 135 : 547-57.
- 36-Hanzen, Christian. 2015b. « Pathologies: L'infertilité dans l'espèce bovine: un syndrome ». <http://orbi.ulg.be/handle/2268/70578>.
- 37-Hanzen, Christian. 2015b. « Pathologies: L'infertilité dans l'espèce bovine: un syndrome ». <http://orbi.ulg.be/handle/2268/70578>.
- 38-HanzenCh (2009) Cours La détection de l'oestrus chez les ruminants. Faculté de médecine vétérinaire, Université de liège. 2009, p : 5, 6, 11.
- 39-HanzenCh (2010) Cours d'inséminations artificielles chez les ruminants. Faculté de médecine vétérinaire, Université de liège. 2010, p : 4, 5, 6.
- 40-Harwood E.D., Jensen E.L., Wieckert D.A., Clayton M.K (1991) Milk yield variation concurrent with conception. *J. Dairy Sci.* 1991, p: 74, 2172-2179.
- 41-Haskouri H (2001) Gestion de la reproduction chez la vache : insémination artificielle et détection de c-haleur. institut agronomique et vétérinaire Hassan2. 2001.
- 42-Kastelic J.P (2001) Computerized Heat Detection. *Advances in Dairy Technology.* 2001, p: 13, 393-402.
- 43-KASTELIC JP, OLSON WO, MARTINEZ M, COOK RB, MAPLETOFT RJ. Synchronization of estrus in beef cattle with norgestomet and estradiol valerate. *Can. Vet. J.*, 1999, 40, 173-178.
- 44-Lopez H., Bunch TD., Shipka MP (2002) Estrogen concentrations in milk at oestrus and ovulation in dairy cows. *Animal Reproduction Science.* 2002, p: 72, 37-46.
- 45-Macmillan, K. L., et H. V. Henderson. 1984. « Analyses of the variation in the interval from an injection of prostaglandin F2 $\alpha$  to oestrus as a method of studying patterns of follicle development during dioestrus in dairy cows ». *Animal Reproduction Science* 6 (4) : 245-54.
- 46-Martínez, M. F., J. P. Kastelic, et R. J. Mapletoft. 2004. « The Use of Estradiol and/or GnRH in a Two-Dose PGF Protocol for Breeding Management of Beef Heifers ». *Theriogenology* 62 (1-2) : 363-72.
- 47-Mauffré, Vincent, Fabienne Constant, et Laurent Tiret. 2016. « Cycle sexuel de la vache ». *Reproduction animale.*
- 48-Mechekour (2001) Détecteurs de chevauchement. Le paysan Tarnais. *Journal hebdomadaire agricole et rural.* 2001, p : 12, 13.

- 49-Merle, Delphine. 2014. « Comparaison de la réponse en termes de sécrétion de LH à la gonadoréline, à la buséréline et à la léciréline chez des génisses Prim'Holstein ». <http://oatao.univ-toulouse.fr/12193/>.
- 50-Mialot, J. P., F. Constant, P. Dezaux, B. Grimard, F. Deletang, et A. A. Ponter. 2003. « Estrus Synchronization in - Beef Cows: Comparison between GnRH+PGF2alpha+GnRH and PRID+PGF2alpha+eCG ». *Theriogenology* 60 (2) : 319-30.
- 51-Mialot, JP, F Constant, S Chastant-Maillard, AA Ponter, et B Grimard. 2001. « La croissance folliculaire ovarienne chez les bovins : nouveautés et applications ». *Journées Européennes de la Société Française de -Buiatrie, Paris*, 163-68.
- 52-Mihm, M., A. Baguisi, M. P. Boland, et J. F. Roche. 1994. « Association between the Duration of Dominance of the Ovulatory Follicle and Pregnancy Rate in Beef Heifers ». *Journal of Reproduction and Fertility* 102 (1) : 123-30.
- 53-Murphy, M. G., M. P. Boland, et J. F. Roche. 1990. « Pattern of Follicular Growth and Resumption of Ovarian Activity in Post-Partum Beef Suckler Cows ». *Journal of Reproduction and Fertility* 90 (2) : 523-33.
- 54-Murugavel, K., J. L. Yániz, P. Santolaria, M. López-Béjar, et F. López-Gatius. 2003. « Luteal Activity at the Onset of a Timed Insemination Protocol Affects Reproductive Outcome in Early Postpartum Dairy Cows ». *Theriogenology* 60 (3) : 583-93.
- 55-Nebel R.L (2003) Components of a Successful Heat Detection Program. *Advances in dairy Technology*. 2003, p: 15, 191-203.
- 56-Noseir, Wael MB. 2003. « Ovarian follicular activity and hormonal profile during estrous cycle in cows: the - development of 2 versus 3 waves ». *Reproductive biology and endocrinology : RB&E* 1 (juin) : 50.
- 57-Picard-Hagen, N, M Saint-Blancat, C Gipoulou, C Ponsart, M Ennuyer, J Defachelles, et L DesCôteaux. 2008. « Comment utiliser les programmes de synchronisation de la reproduction en France chez les vaches laitières ». *Le Nouveau Praticien Vétérinaire* 2 (10) : 21-25.
- 57-Picard-Hagen, N, X Berthelot, et P Humblot. 2005. « Le point sur les protocoles actuels de synchronisation chez la vache ». *Le Point vétérinaire : revue d'enseignement post-universitaire et de formation permanente* 36 (N° Spécial Reproduction des ruminants : maîtrise des cycles et pathologie) : 32-36.
- 58-Ponsart C., Freret S., Humblot P., Charbonnier G., DuboisP (2006) 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*. 2006, p : 120, 33-36.
- 59-Reef VB (1998) *Equine Diagnostic Ultrasound*. W.B. Saunders, USA. 1998, p: 560.
- 60-Rorie R.W., Bilby T.R., Lester T.D (2002) Application of electronic estrus detection technologies to reproductive management of cattle. *Theriogenology*. 2002, p: 57, 137-148.
- 61-Saint-Dizier M (2005) La détection des chaleurs chez la vache. *Point vét.* n°36. 2005, p : 22-27.
- 62-Saumande J (2000) La détection électronique des chevauchements pour la détection des vaches en chaleur : possibilités et limites. *Rev. Méd. Vét.* 2000, p: 151, 1011-1020.
- 63-Savio, J. D., M. P. Boland, et J. F. Roche. 1990. « Development of Dominant Follicles and Length of Ovarian Cycles in Post-Partum Dairy Cows ». *Journal of Reproduction and Fertility* 88 (2) : 581-91.
- 64-Soltner D (1993) *La reproduction des animaux d'élevage*, 2eme édition, Coll. Sciences et techniques agricoles. 1993, p : 131.

- 65-Spitzer, J. C., G. D. Niswender, G. E. Seidel, et J. N. Wiltbank. 1978. « Fertilization and Blood Levels of Progesterone and LH in Beef Heifers on a Restricted Energy Diet ». *Journal of Animal Science* 46 (4) : 1071-77.
- 66-Sterry, R. A., M. L. Welle, et P. M. Fricke. 2006. « Treatment with Gonadotropin-Releasing Hormone after First Timed Artificial Insemination Improves Fertility in Noncycling Lactating Dairy Cows ». *Journal of Dairy Science* 89 (11) : 4237-45.
- 67-Szenci, Ottó, Edit Takács, José Sulon, Noelita Melo de Sousa, et Jean-Francois Beckers. 2006. « Evaluation of GnRH Treatment 12 Days after AI in the Reproductive Performance of Dairy Cows ». *Theriogenology* 66 (8) : 1811-15.
- 68-Thibier M., Chapagaonkar K., Joshi A., Karbade V., Recca A (1983) Use of a heat detection paste on dairy cattle in France. *Vet. Rec.* 1983, p: 113, 128-130.
- 69-Twagiramungu, H., L. A. Guilbault, J. Proulx, et J. J. Dufour. 1992. « Synchronization of Estrus and Fertility in Beef Cattle with Two Injections of Buserelin and Prostaglandin ». *Theriogenology* 38 (6) : 1131-44.
- 70-Vaissair J.P(1977) Sexualité et reproduction des mammifères domestiques et de laboratoire Edition: maloin (S.A), 1977.
- 71-Van eerdenburg F.J.C.M., Karthaus D., Taverne M.A.M., MerlcsE I., SzencO (2005) The Relationship between EstrousBehavioral Score and Time of Ovulation in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 2002, p: 85, 1150-1156.
- 72-Vandewinkel. 2000. « Contribution à l'étude des traitements de maîtrise des cycles chez la vache allaitante en région centre)ouest: facteurs de variation du taux de cyclicité avant traitement, tu taux d'ovulation et de la f0ertilité à l'oestrus induit ». Ecole Vétérinaire d'Alfort.
- 73-Vasconcelos, J.L.M., D.T.G. Jardina, O.G. Sá Filho, F.L. Aragon, et M.B. Veras. 2011. « Comparison of Progesterone-Based Protocols with Gonadotropin-Releasing Hormone or Estradiol Benzoate for Timed Artificial Insemination or Embryo Transfer in Lactating Dairy Cows ». *Theriogenology* 75 (6) : 1153-60.
- 74-Walsh, S. W., E. J. Williams, et A. C. O. Evans. 2011. « A Review of the Causes of Poor Fertility in High Milk Producing Dairy Cows ». *Animal Reproduction Science* 123 (3-4) : 127-38.
- 75-XU ZZ, BURTON LJ. Estrus synchronization of lactating dairy cows with GnRH, progesterone, and prostaglandin F2 $\alpha$ . *J. Dairy Sci.*, 2000, 83, 471-476