



524THV-1

Université de SAAD DAHLEB-BLIDA
Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et Biologiques
Département des Sciences Vétérinaires

Projet de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de docteur en médecine vétérinaire

THÈME

**Caractéristiques des chaleurs chez
les vaches superovulées**

Présenté par :

Chafik BEN HADJ AMAR

&

Zakaria HENNI DJELLOUL

Devant le jury composé de :

ADEL.D

MAT à l'université de BLIDA

Promoteur

CHERGUI N.

MAT à l'université de BLIDA

Présidente du jury

BOUKENAOUI N.

MAT à l'université de BLIDA

Examinatrice

2010-2011

REMERCIEMENTS :

Nous remercions DIEU de nous avoir donné la santé et la volonté, pour accomplir ce modeste travail, qui nous a permis de mettre en application le savoir acquis au sein de l'université.

A MONSIEUR ADEL DJALAL pour son aide sa disponibilité et sa patience tout au long de la réalisation de ce travail merci pour nous avoir fait l'honneur de proposer et encadrer ce travail.

*Au membre du jury: Chergui. N.
Bou Kenouji. N.
Sincères remerciements*

A nos collègues pour leur aide et leur soutien

A tous nos maîtres et maîtresses de la première année de l'école fondamentale à la cinquième année de faculté.

A toutes les personnes de près comme de loin qui ont contribué à l'élaboration de ce travail.

Merci.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A Mes très chers parents à qui je dois tout, je profite de les remercier pour leur encouragement, leur aide, le soutien qu'ils m'ont apporté et le sacrifice qu'ils ont fait pour moi, que Dieu les protège et les entoure de sa bénédiction ;

A Mes chers frères : TAREK , FOUAD, LYESS, MEROUAN et leurs femmes.

A Issam et Nada.

A toute ma grande famille oncles, tantes et cousins (es)

A mon binôme Zakí et sa famille.

A Tous mes amis et surtout (Mustapha , Oussama , Aïssa , Mohamed, Madjid , Amine, Aïssa, Sid ahmed, Samir, Rabeh , Hakim, Aboubakre , Abd erahim, abderrezak , Abd elmalek , Sofiane, Hatem, Walid, Abdou .

A tous mes collègues de la promotion (2010,2011)

A tous ceux qui me sont très chers.



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A Mes très chers parents à qui je dois tout, je profite de les remercier pour leur encouragement, leur aide, le soutien qu'ils m'ont apporté et le sacrifice qu'ils ont fait pour moi, que Dieu les protège et les entoure de sa bénédiction ;

A Mes chers frères : Houcine et Khiredine .

A Mes chères sœurs : Faiza , Aya, Soria et sa fille Amel.

A Mes grands parents et toute ma grande famille oncles, tantes et cousins (es)

A mon binôme Chafik et sa famille.

A Tous mes amis et surtout (Amine , Aïssa Oussama, Mohamed, Madjid , Samir, Rabah, Hakim, Merouan, Hassen , Mehdy, Amrouche, Seddam , Aboubakre, Abd erahim, abd erezak , Mohamed Bekki et Ben Soltane, Amine Chawchi, Sofiane, Hatem, Walid, Abdou , Fouad).

A tous mes collègues de la promotion (2010,2011)

A tous ceux qui me sont très chers.



Zaki

Résumé:

La superovulation est une biotechnologie qui a pour but de produire des embryons à partir d'un animal de haute qualité génétique. C'est ainsi que les chercheurs dans ce domaine ont mis au point une méthode qui a permis d'utiliser le potentiel reproductif de la vache. En effet, en injectant une gonadotropine à certain moment du cycle on peut induire une superovulation.

L'objectif principal de notre étude est de réaliser une synthèse sur les caractéristiques des chaleurs des vaches superovulées et d'interpréter les résultats de la récolte embryonnaire.

Notre expérience a concerné ^{quatre} vaches laitières de race Prim'Holstein. Un traitement par un extrait hypophysaire " Stimufol" (gonadotrophines hypophysaires FSH/LH 40%) a été appliqué selon un planning rigoureux sur chaleurs de références et chaleurs de superovulation, une double insémination artificielle a été réalisée à 50 et à 60 heures après l'injection de la prostaglandine suivie d'une récolte par un lavage utérin et une évaluation et enfin une classification sous microscope photonique des embryons.

Les premiers signes ont été observés soit 36 heures après l'injection de la prostaglandine pour la vache (N° 08001), et 30 heures après l'injection de la prostaglandine pour la deuxième vache (N° 08002).

La durée des chaleurs pour la vache 08001 est de 23 heures et 30 minutes avec une moyenne de 148 points attribués et pour la vache 08002 est de 6 heures. Les résultats obtenus au cours de l'observation de la vache 1, révèlent une intensité élevée des chaleurs avec une moyenne de 148 points, et pour la vache 2 qui présentent une mauvaise qualité (intensité) des chaleurs.

Au traitement de superovulation, la vache 1 a bien répondu, par une bonne qualité de chaleurs et 19 embryons récoltés, alors que la vache 2 a présenté une mauvaise qualité de chaleurs et 11 embryons récoltés.

D'autres travaux sur un nombre de récoltes plus important sont nécessaires pour plus de certitude. Cela nous permettra de maîtriser la technique et de pouvoir la proposer aux éleveurs.

Mots clé : superovulation, chaleurs, œstrus, récolte embryonnaire, bovin.

Summary:

Superovulation is a biotechnology that aims to produce embryos from an animal of high genetic quality. Thus researchers in this area have developed a method of using the reproductive potential of the cow. Indeed, by injecting gonadotropin at some point in the cycle can produce superovulation.

The main objective of our study is a synthesis on the characteristics of heat superovulated cows and interprets the results of harvesting embryonic.

Our experience has involved two Holstein dairy cows. Treatment with pituitary extract "Stimufol" (pituitary gonadotropins FSH / LH 40%) which was applied for two cows in a rigorous schedule of heats and heats of references superovulation, a double artificial insemination was performed at 50 and 60 hours after injection of prostaglandin followed by harvesting a flushing and evaluation and finally a classification under optical microscope embryos

The first signs were observed at 36 hours after injection of prostaglandin to 08001, and either after 30 hour after injection of prostaglandin, The duration of heat for the cow 1(08001) was 23 hours 30 minutes with an average of 148 points awarded. And for the cow 2 it was 6 hours.

The results obtained during observation of the cow revealed a high intensity of heat with an average of 148 points for the cow 2 an average of 15 points which has a poor quality (intensity) of heat.

Cow 1 (08 001) responded well to superovulation treatment by a good quality of heat and 19 embryos harvested, but the vache2 (08002) presented a poor quality of heat and 11 embryos harvested.

Further work on a number of important crops is needed for greater certainty. This will also allow us to master the technique and be able to offer to farmers.

Key words: Superovulation, heats, estrus, embryo harvesting, bovine.

Table de matières

REMERCIEMENTS	
DÉDICACE	
RÉSUMÉ	
TABLE DE MATIÈRES	
ABREVIATIONS	
Liste des tableaux	
Liste des figures	

❖ Introduction générale	1
-------------------------------	---

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I: Cycle œstral chez la vache

1. Propriétés du cycle œstral de la vache	2
2. Les phases du cycle.....	3
2.1. Le proœstrus.....	3
2.2. L'œstrus.....	3
2.3. Le postœstrus	3
2.4 Le diœstrus	3

Chapitre II: Expression et détection des chaleurs

I. Importance de la détection des chaleurs.....	5
II. Le comportement d'œstrus.....	6
II.1 Signe majeur	6
II.2. Signes secondaires.....	7

II.2.2 Avec interactions.....	7
II.2.1 Sans interactions.....	7
II.3. Validité relative des différents signes.....	9
II.3.1. Facteurs individuels influençant l'expression des chaleurs.....	9
II.3.1.1. L'âge.....	10
II.3.1.2. La race.....	10
II.3.1.3. La maladie.....	10
II.3.1.4. La hiérarchie.....	10
III. Observations des chaleurs chez la vache laitière.....	11
III.1. Observations du troupeau.....	11
III.1.1. L'observation de l'acceptation du chevauchement.....	11
III.1.2. L'observation des signes secondaires.....	13
VI. Méthodes d'assistance à la détection des chaleurs.....	15
VI.1. Techniques basées sur l'acceptation du chevauchement.....	15
VI.2. Observations visuelles.....	15

Chapitre III: Superovulation et collecte des embryons

I-Introduction	17
II- Principes des traitements de superovulation.....	17
III-Endocrinologie des donneuses superovulées.....	19
III-1-Caractéristiques de l'œstrus et des ovulations.....	19
III-2 Caractéristiques des profils hormonaux.....	20
III.2.1. La LH.....	20

III.2.2. La FSH.....	21
III.2.3. L'œstradiol.....	21
III.2.4. La progesterone.....	21
IV. Schéma des traitements inducteurs.....	22
IV.1. Chaleurs de référence.....	22
IV.2. Chaleurs de superovulation.....	23
IV.3. Chaleurs post récolte.....	24
IV.4. Protocole du traitement de superovulation.....	25
IV.5. Cycle naturel ou maîtrisé.....	26
V. Conséquences d'un traitement de superovulation.....	28
V.1. Nombre et qualité d'embryons produits.....	28

PARTIE EXPERIMENTALE

I. Introduction.....	29
II. Objectifs.....	29
III. Matériels.....	29
III.1. Cadre du travail.....	29
III.2. Animaux.....	30
III.3. Hormones.....	31
III.4. Matériels de la détection des chaleurs.....	31
III.5. Matériels d'inséminations artificielle et de collecte d'embryons.....	31
VI. Méthode.....	31

VI.1. Suivi de cyclicité des vaches.....	31
VI.2. Traitement de la superovulation.....	32
VI.3. Méthode d'observation des chaleurs.....	33
VI.4. Insémination artificielle.....	34
VI.5. Collecte des embryons.....	34
V. Résultats	34
V.1. Résultats obtenues lors du suivie de la cyclicité des vaches.....	34
V.2. Caractéristiques des chaleurs de superovulation.....	35
V.2.1. La venue en chaleurs.....	35
V.2.2. Comportement	36
V.2.3. L'intensité des chaleurs	39
V.3. Réactions ovariennes lors de la superovulation.....	40
V.4. Résultats de la récolte embryonnaire des deux vaches.....	40
✚ DISCUSSION.....	42
✚ CONCLUSION.....	44
✚ RECOMMANDATIOMS.....	45
✚ REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE.....	46

LISTE DES ABREVIATIONS

CJ: Corps Jaune

cm : centimètre

D: Droit

E2: Oestradiol-17 β

eCG: gonadotrophine chronique d'origine équine

eFSH: Follicle Stimulating Hormone d'origine équine

F: Follicule

FSH: Follicle Stimulating Hormone

FSHp: Follicle Stimulating Hormone d'origine porcine

G: Gauche

GnRH: Gonadotrophin Releasing Hormone

h: heure

hMG: human Menopausal Gonadotropin

IA: Insémination Artificielle

IM: Intra Musculaire

IV: Intra-vineuse

j: jour

kg: kilogramme

LH: Luteinizing Hormone

μ g : microgramme

mg: milligramme

ml: millilitre

mm: millimètre

n:nombre

NaCl : Chlorure de sodium

ng: nanogramme

OD: Ovaire Droit

oFSH: ovine Follicle Stimulating Hormone

OG: Ovaire Gauche

P4 : Progestérone

PGF2 α : Prostaglandine F2 α

PMSG: Pregnant Mare Serum Gonadotrpine

SC: Sous Cutanée

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Données sur la reproduction de la vache.....	1
Tableau II : Durée des différentes phases du cycle sexuel de la vache.....	4
Tableau III : Distribution des périodes d'œstrus caractérisées par leur intensité et leur durée grâce au système HeatWatch [®]	11
Tableau IV : Récapitulatif des pourcentages de détection d'œstrus en fonction du temps passé à l'observation du troupeau.....	12
Tableau V : Grille de pointage des signes secondaires.....	13
Tableau VI : Effet de la dose de FSH sur la production d'embryons chez les bovins.....	18
Tableau VII : Réponse ovarienne à un traitement de superovulation par la FSH chez des vaches cyclées, pendant un traitement à base de progestagènes.....	26
Tableau VIII : Traitements utilisés pendant le suivi de la cyclicité.....	32
Tableau IX : Grille de notation des signes secondaires initiés observés.....	33
Tableau X : Palpations transrectales et observations pendant le suivi de la cyclicité.....	35
Tableau XI : Début et fin des chaleurs de superovulation	36
Tableau XII : Répartition des activités par comportement et par vache.....	37
Tableau XIII : Totale de points attribué à chaque observation pour chaque vache.....	39
Tableau XIV : Appréciation de la réponse ovarienne au traitement de la superovulation via la palpation transrectale.....	40

LISTE DES FIGURES

Figure 1: La détection d'œstrus chez les ruminants	8
Figure 2: Courbe des concentrations plasmatiques de l'œstradiol de la Progestérone et de la LH chez des vaches ayant répondu au traitement de superovulation par la FSH	21
Figure 3: La station expérimentale université de blida.....	30
Figure 4: Protocole du traitement de superovulation,insémination et de récolte.....	33
Tentative de chevauchement	
Figure 5: Signes des chaleurs des vaches superovulées.....	38
Figure 6: Variation d'intensité des signes des chaleurs par les points attribués pendant 12 observations.....	39
Figure 7: Qualité des embryons récoltés (%).....	41

❖ Introduction générale :

On appelle biotechnologie de l'embryon, l'ensemble des techniques mises au point à partir des connaissances de base acquises sur le développement de l'embryon. Leur essor est récent et encore à bien des égards modeste. Elles se sont développées chez les mammifères domestiques à partir des années 80, d'abord dans l'espèce bovine où la reproduction des animaux était, depuis déjà trente ans, largement organisée autour de l'insémination artificielle. Aujourd'hui elles sont également de plus en plus largement appliquées dans d'autres espèces telles la brebis, la chèvre et la jument.

Il est classique de distinguer trois générations de biotechnologies de l'embryon. La première génération a permis de produire des embryons in utero après stimulation hormonale des femelles donneuses (superovulation). Ce mode de production a permis le développement de la technologie du transfert d'embryons associée à leur congélation. Deux facteurs en limitent cependant l'application : le nombre relativement faible d'embryons que l'on obtient après un traitement hormonal de superovulation et la variabilité de production entre femelles traitées. La production d'embryon en culture et la transgénèse constituent successivement la deuxième et la troisième génération de la biotechnologie [1].

La détection des chaleurs (œstrus) représente un des facteurs essentiels d'obtention d'une fécondité et d'une fertilité normale. Elle conditionne en effet l'obtention d'un intervalle normal entre la naissance (ou le vêlage) et la première insémination. Récemment, une étude de modélisation des facteurs responsables de la fécondité a démontré que respectivement le délai d'insémination une fois écoulée la période d'attente volontaire décidée par l'éleveur ; le taux de gestation et la durée de la période d'attente volontaire comptaient respectivement pour 45, 24 et 25 % de l'intervalle entre vêlages. Elle influence directement la fertilité puisque normalement l'insémination artificielle doit être réalisée une douzaine d'heures après le début de l'œstrus. Enfin, l'absence de détection du retour en chaleurs de l'animal constitue une des méthodes précoces de diagnostic de gestation [1].

Dans notre travail, nous avons essayé d'évaluer la réponse des vaches à un traitement de superovulation à base de FSH/LH et d'étudier les caractéristiques des chaleurs de superovulation par rapport à la qualité et la quantité d'embryons produits par la vache.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE



Chapitre I :

Le cycle œstral chez la Vache

1. Propriétés du cycle œstral de la vache :

La vache appartient aux espèces à cycle continu, c'est-à-dire des cycles sans interruption et se succédant toute l'année. La durée du cycle est en moyenne de 15 à 25 jours, avec une succession de plusieurs (2 ou 3) vagues folliculaires ; les variations dépendent de l'âge mais aussi de la race, de la saison et des conditions d'entretien de l'animal [2].

Par définition, les vaches sont en œstrus (ou chaleurs) quand elles acceptent la monte (en se tenant immobiles) par un taureau ou d'autres vaches. Cet œstrus dure en moyenne 20 heures. La ponte ovulaire se situe en moyenne 12 - 15 heures après la fin de l'œstrus [2]. Les données relatives à la sexualité et à la reproduction de la vache sont regroupées dans le tableau I.

Tableau I: Données sur la reproduction de la vache.

Propriétés	Données	Références
Age de la puberté	6-17 mois	[3]
Saison sexuelle	Toute l'année	[3]
Type d'ovulation	Spontanée	[2]
Durée du cycle	14-25j	[3]
Type du cycle	Polyœstrus	[3]
Moment de l'ovulation	10-12h après la fin de l'œstrus	[3]
Moment de l'implantation	35j	[2]
Durée de gestation	280j (210-360)	[3]

L'activité de l'ovaire est mise en évidence par l'apparition d'un comportement d'œstrus, celui-ci permettant de caractériser le début d'un cycle œstral [2].

L'évolution cyclique comprend alors deux phases distinctes:

-La phase folliculaire, œstrogénique qui correspond à la maturation des follicules de De Graaf.

-La phase lutéinique, (ou lutéale) progestéronique, qui s'étend au cours de l'activité des corps jaunes cycliques.

A l'exception de la femme et de quelques primates, la période pendant laquelle les cycles peuvent se manifester s'étend de la puberté jusqu'à la fin de la vie [2]. Chez la vache, on peut définir un âge et surtout un poids moyen de la puberté. L'aptitude à la reproduction est acquise quand le jeune atteint 40 à 50% du poids adulte.

Ainsi la notion de cycle œstral peut être caractérisée par plusieurs composantes selon que l'on s'intéresse aux événements ovariens, comportementaux, histologiques ou hormonaux [2].

2. Les phases du cycle :

On peut définir quatre périodes [4] :

2.1. Le proœstrus : période de maturation folliculaire (= phase folliculaire)

2.2. L'œstrus: période de fin de maturation et ovulation (= chaleurs)

2.3. Le postœstrus ou metœstrus : formation et fonctionnement du corps jaune

2.4. Le diœstrus : fonctionnement du corps jaune et lutéolyse.

Les durées des différentes phases du cycle sexuel de la vache sont regroupées dans le tableau II:

Tableau II: Durée moyenne des différentes phases du cycle sexuel de la vache [4]

Proestrus (jours)	Oestrus (heures)	Metastrus (jours)	Dioestrus (jours)	Durée du cycle (jours)
3-4	19	2	15	14-25



Chapitre II :

Expression et détection des Chaleurs

I. Importance de la détection des chaleurs :

De nombreux progrès génétiques actuels sont au service de la reproduction des vaches laitières, encore faut-il bien les mettre en place. L'insémination artificielle (IA) permet la sélection des croisements, l'amélioration de la diffusion des meilleurs gènes et une meilleure maîtrise du calendrier. L'IA doit donc être efficace pour bénéficier de ces avancées techniques, et cela est conditionné par le choix du moment à inséminer, qui est le point critique de la maîtrise de la reproduction [5].

Cette étape est à améliorer, mais elle est souvent sous-estimée. Ce qui est une erreur, puisque l'objectif de fécondité des vaches laitières est d'un veau par vache et par an. L'important est donc d'assurer à la vache une bonne fertilité, notamment par un bon repérage du moment propice à son insémination [5].

La mise en place d'une bonne détection de l'œstrus (et des comportements associés, les «chaleurs») permet un meilleur suivi de l'élevage, et est également profitable à la détection et au traitement des pathologies. Mais cette approche de l'élevage est rendue difficile, à cause notamment de l'accroissement des effectifs par élevage, ce qui a laissé apparaître une baisse de fertilité des vaches laitières[5].

Cette étape critique, qui est la détection de l'œstrus, est souvent laissée à l'appréciation d'une ou de plusieurs personnes.

On dispose de multiples méthodes pour franchir cette étape délicate.

Le signe majeur admis de l'état d'œstrus est l'acceptation du chevauchement. Les proportions dans les quelles il est suffisant (sensible) et pertinent (spécifique) conditionnent l'efficacité des techniques s'appuyant sur ce comportement.

Leur fiabilité relève donc des deux points ci-dessous:

- D'une part, l'étude de la validité des signes à détecter est nécessaire pour qualifier la pertinence de l'usage des principes sur lesquels se base la méthode de détection (signe comportemental et physiologique);

- D'autre part, la mesure de l'efficacité de la méthode à détecter les signes recherchés est utile pour déterminer dans quelle mesure elle est applicable au troupeau

étudié, facile à mettre en place et à suivre et rentable financièrement ainsi qu'en organisation du temps de travail.

II. Le comportement d'œstrus :

II.1 Signe majeur :

Les pratiques d'élevage les plus répandues se ramènent à la méthode traditionnelle de détection de la période d'œstrus: l'observation visuelle des comportements dit d'œstrus ou « chaleurs ».

L'acceptation du chevauchement définit l'œstrus. La vache en œstrus reste immobile quelques secondes, malgré que l'autre vache qui pèse sur sa croupe et l'enserme généralement [6].

La plupart du temps, une durée minimale de deux secondes est prise en compte pour différencier une acceptation d'un refus, et la vache chevauchée doit avoir la possibilité physique de se dégager.

L'acceptation du chevauchement reste le signe décrit le plus spécifique, bien qu'il ne soit pas assez sensible. Il ne se rencontre que chez 18 à 56 % des vaches en œstrus [6]. De plus, même parmi les vaches concernées, cette activité ne se répète qu'un nombre de fois limité, en moyenne entre 10 et 60 fois par période d'œstrus soit 1 à 10 fois par heure durant cette période [7]. L'activité d'acceptation du chevauchement ne représente qu'une infime partie d'apparition des signes secondaires, moins de 1 % [7]. La période d'apparition des signes secondaires est elle-même limitée, de 6 à 24 heures avant ovulation [8]. L'ensemble des acceptations de chevauchement est inclus dans cette période qui dure elle-même moins de 7 heures.

Le très faible nombre de "faux positifs" est mis en évidence par une très bonne spécificité supérieure à 90 % [9]. C'est le signe le plus fiable rencontré pour l'étude d'un ensemble d'animaux. En effet, chaque vache exprime l'œstrus d'une manière différente. Le plus intéressant pour l'observateur est donc de recueillir le (ou les) quelque(s) signe(s) lui permettent la détection de la plus grande part du troupeau [9].

La prise en compte de ce seul comportement laisse des failles qui expliquent l'intérêt des signes secondaires.

II.2. Signe's secondaires:

Ils ne sont pas à négliger et semblent satisfaire certains, ils donnent parfois de bons résultats. Mais, s'ils ne font pas consensus, leur étude reste intéressante ne serait-ce que par leur persistance et leur diffusion dans les pratiques d'élevage.

On pourrait les répartir en deux classes:

II.2.1. Avec interactions:

- Chevaucher (ou tenter de chevaucher) une autre vache [10].
- Chevaucher (ou tenter de chevaucher) par l'avant une autre vache [10].
- Appuyer le menton sur la croupe (ou l'encolure) d'une autre vache [5].
- Flairer (et/ou lécher) la vulve (et/ou zone périnéale - voire arrière-train) d'une autre vache [5].
- Suivre d'autres vaches «à la trace» [5].
- Se faire chevaucher sans acceptation [10].

II.2.2. Sans interactions:

- Grande agitation, nervosité [6].
- Baisse d'ingestion, baisse de production [11].
- Meugler [5].
- Fréquence augmentée de miction [5].
- Tremblements et levé de la queue en crosse [5].
- Immobilisation au pincement lombaire [5].

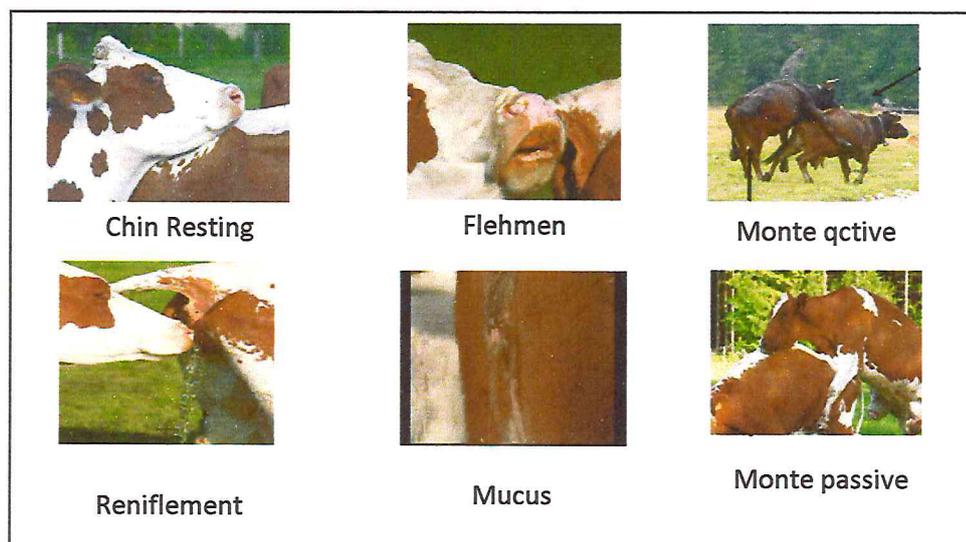


Figure1: la détection d'œstrus chez les ruminants [12].

Ces signes doivent être considérés comme secondaires: c'est-à-dire qu'ils complètent d'autres informations, et en premier lieu l'acceptation du chevauchement, qui est le signe primaire. Mais ils ne peuvent pas conduire seuls à un "diagnostic" d'œstrus. Selon leur fréquence [10] et/ou leur association [6], ils peuvent cependant laisser penser qu'une vache est probablement "en chaleurs". Ajoutés à la connaissance individuelle des vaches par l'éleveur, ces signes peuvent amener ce dernier à inséminer. Ce type de décision repose plus sur l'appréciation personnelle que sur des faits objectifs. Cette appréciation reste nécessaire dans certains cas comme celui des vaches à «chaleurs discrètes» (signes d'œstrus peu détectables) voire «silencieuses» (pas d'acceptation de chevauchement).

Les tentatives de chevauchement (réussites ou échecs, et non seulement leur acceptation) ne sont, par exemple, pas à interpréter comme positives, même si certains ont réussi à les corréler avec l'état d'œstrus. Lorsqu'une vache en chevauche une autre, au moins une (dans 98 % des cas) serait en œstrus, ou les deux (71 % des cas) dans la majorité des cas. Et si ce rapport n'est pas constaté par tous, certains trouvent cependant que dans un grand nombre de cas (85 %) la vache chevauchant (et non chevauchée) est en œstrus [9]. Cela affecte donc au chevauchement (ou tentatives) une bonne sensibilité à la détection des comportements d'œstrus. Par contre la spécificité est faible: plus de 90% des vaches qui chevauchent ou tentent de chevaucher sont également en dehors de leur période d'œstrus. Certains conseillent d'attendre la répétition de ce signe jusqu'à six fois avant d'en lire là une signification[5].

Le chevauchement par l'avant (ou tentative, en moindre mesure), lui, offre une spécificité soulignée par divers auteurs et une sensibilité acceptable (expression par 25 % des vaches en œstrus) [5].

Le fait pour une vache de se faire chevaucher, même si elle refuse (esquive, retournement), peut trahir chez elle une certaine forme d'attractivité pour les autres potentiellement liée à son état physiologique, mais cela ne doit pas interférer avec l'interprétation fautive de comportements hiérarchiques, ni avec l'évaluation d'une situation de blocage physique [10].

Les autres signes les plus suivis sont divers. Les cajolements entre vaches sont présents et plus longs au diœstrus mais plus fréquents durant l'œstrus, de même pour les flairages de la vulve qui est deux fois plus fréquents et quatre fois plus pour les appuis du menton [10].

Les signes secondaires peuvent donc constituer de bons repères par leur détection aisée et leur bonne répartition au sein des troupeaux mais ils manquent de spécificité, puisqu'ils peuvent être couramment observés, même en dehors des périodes d'œstrus [10].

Des solutions existent pour exploiter ces informations, et leur recoupement permet d'améliorer la spécificité globale de la détection. L'activité globale regroupe d'ailleurs déjà plusieurs signes en elle-même [10].

II.3. Validité relative des différents signes :

De multiples facteurs modulent les comportements bovins, individuels (propres) et collectifs (interactions). L'étude comportementale d'une vache, et a fortiori d'un groupe de vaches, se heurte à diverses variations d'expression.

II.3.1. Facteurs individuels influençant l'expression des chaleurs :

Le premier d'entre eux reste la vache elle-même. C'est le premier facteur de variation et le principal obstacle à l'élaboration d'une méthode transposable à tout bovin. Une vache a ses propres habitudes comportementales.

Les facteurs de variation individuelle de l'expression des chaleurs sont la race, l'âge, le rang de lactation et le stade physiologique.

II.3.1.1. L'âge: avec l'âge et le rang de vêlage, la durée de l'œstrus augmente, ainsi que le nombre de chevauchements. Il apparaît aussi que l'acceptation du chevauchement est plus présente chez les vaches âgées que chez les nullipares et les primipares. De même, une vache multipare a tendance à mieux exprimer ses chaleurs qu'une primipare [9]. Les nullipares manifestent principalement l'acceptation du chevauchement, les flairages et l'appui du menton, le matin, tandis que les primipares le réalisent plutôt l'après-midi [13].

II.3.1.2. La race: au sein d'un groupe, certaines races semblent plus enclines à chevaucher, et d'autres à dissuader le chevauchement [9].

Les vaches hautes productrices expriment moins leurs chaleurs que les vaches faibles productrices [9].

II.3.1.3. La maladie: En particulier une atteinte des pieds, pourra aussi soit dissuader une vache à accepter le chevauchement, soit au contraire l'empêcher d'esquiver [11].

II.3.1.4. La hiérarchie: les vaches en œstrus ont tendance à se détacher du lot et à former entre elles des groupes de 2 à 5 vaches actives. Elles partagent leurs activités, acceptent un contact plus rapproché [5], et interagissent de manière privilégiée. Ainsi elles se stimulent mutuellement, lorsqu'une vache déclare son œstrus elle active ses congénères. La formation de ces groupes interfère avec les relations hiérarchiques déjà en place. L'initiative du chevauchement est souvent du ressort d'une autre vache, le plus souvent la plus grande et la plus lourde et, si ces dernières sont aussi les vaches dominantes, elles risquent d'inhiber les chevauchements des moins massives [9].

Enfin, le nombre de vaches simultanément en œstrus modifie l'intensité de leurs expressions comportementales individuelles. Pour une vache, le nombre de chevauchements par période d'œstrus peut varier d'une à cinq dizaines. Ces stimulations se ressentiront d'autant plus dans des grands troupeaux où la probabilité d'avoir plusieurs vaches simultanément en œstrus augmente [11].

III. Observations des chaleurs chez la vache laitière :

III.1. Observations du troupeau :

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

III.1.1. L'observation de l'acceptation du chevauchement :

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

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

Selon les auteurs, le temps total passé à accepter le chevauchement lors d'une période ovulatoire varie de 10 à 15,5 secondes, ce qui est très court pour une période qui s'étend sur plusieurs heures [14].

57,3% des vaches acceptent le chevauchement moins d'une fois et demie par heure lors de leur œstrus [15] (Tableau III). La détection est donc d'autant plus compliquée si l'œstrus est court.

Tableau III: Distribution des périodes d'œstrus caractérisées par leur intensité et leur durée grâce au système HeatWatch® [15].

Œstrus long et intense	Œstrus court et intense ^d	Œstrus long ^b et peu intense	Œstrus court ^a et peu intense ^c
8,4%	34,3%	33,2%	24,1%

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

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

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

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

L'acceptation du chevauchement seule permet de détecter 60% des chaleurs si elle est systématiquement observée [16], mais ceci nécessite une observation continue du troupeau incompatible actuellement avec la gestion d'un élevage. Elle permet en pratique de détecter 12 à 59% des œstrus suivant le temps passé dans le troupeau. Le tableau IV résume le pourcentage de détection des acceptations de chevauchement en fonction du temps passé à observer le troupeau.

Tableau IV: Récapitulatif des pourcentages de détection d'œstrus en fonction du temps passé à l'observation du troupeau].

Observation du troupeau	Acceptations du chevauchement détectées	Références
En continue	Pour 59% des vaches	[16]
30 minute toutes les 2 heures	Lors de 37% des œstrus	[10]
30 minutes toutes les 3 heures	Lors de 53% des œstrus	[17]
3 fois 30 minutes par jour	Lors de 12% des œstrus	[10]
2 fois 30 minutes par jour	Pour 24,5% des vaches	[18]

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

III.1.2. L'observation des signes secondaires :

Lors d'une étude réalisée dans un troupeau observé en continu, une observation de 4 comportements secondaires initiés en un quart d'heure a permis de détecter 100 % des vaches avec un faux positif [16]. L'observation de 5

comportements secondaires initiés en un quart d'heure a permis de détecter 36 vaches sur 38 sans faux positif. Mais cette méthode nécessite encore une fois l'observation continue du troupeau.

Une grille de pointage des signes secondaires a été élaborée (tableau V) [10]. Cette grille attribue à chaque signe secondaire initié un nombre de points en fonction de sa spécificité dans la détection de l'œstrus. Pour ce faire, un troupeau a été observé 30 minutes toutes les 2 heures pendant 6 semaines afin de recenser les différents signes secondaires présents pendant l'œstrus et le diœstrus.

Tableau V : Grille de pointage des signes secondaires [10]

Signes secondaires initié observés	Nombre d'observation		Points attribués
	œstrus	diœstrus	
Présence de mucus à la vulve	13	44	3
« Cajolement »	34	69	3
Agitation	73	21	5
Chevauchement sans acceptation	28	24	10
Renifler/lécher de la vulve	246	113	10
Poser de tête sur la croupe	228	54	15
Tentative de chevauchement	218	5	35
Tentative de chevauchement par la tête	11	0	45
Acceptation du chevauchement	34	0	100

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

Dans une première étude, un seuil de 100 points associé à une observation du troupeau 30 minutes toutes les 2 heures pendant 24 heures a permis de détecter 100% des chaleurs avec une spécificité de 100% [10]. Un seuil de 50 points associé à 2 périodes d'observation de 30 minutes (à 10h et 20h) a permis de détecter 74% des chaleurs sans faux positif.

Une deuxième étude a tenté de vérifier la spécificité de cette méthode en l'appliquant à des vaches gravides [19].

Les vaches étaient observées 30 minutes toutes les 2 heures et il est apparu que 3,1%

Des vaches gestantes sont considérées en chaleur si le seuil est placé à 100 points. Si ce seuil est abaissé à 50 points, 10,8% des vaches auraient été considérées en œstrus. Ce résultat doit cependant être nuancé. D'une part, l'observation du troupeau ne peut être réalisée pendant 30 minutes toutes les 2 heures par un éleveur et certaines des vaches considérées en chaleur dans l'étude ne l'auraient pas été dans un élevage. Par ailleurs, la plupart des animaux de l'étude ont montré des signes secondaires de chaleur vers le milieu de la gestation. Lors de cette période, il est facile pour l'éleveur de vérifier si l'animal présentant des comportements d'œstrus est gravide ou non et ainsi de savoir s'il est en période d'œstrus.

Dans une troisième étude réalisée dans plusieurs troupeaux, le taux de détection a chuté à 47% avec un seuil de 50 points atteint lors de 2 observations de 30 minutes consécutives [18]. Cette valeur est bien inférieure à celle obtenue par [10] selon les mêmes critères. Mais cette étude s'est déroulée dans des conditions réelles d'élevage et non dans un centre d'expérimentation. Ceci a pu engendrer un certain nombre de biais (non respect de la durée de 30 minutes, difficulté de compréhension et de mise en place de la méthode, isolement des animaux en chaleur avant les périodes d'observations...) qui peuvent expliquer ce résultat. L'excellente spécificité de la méthode a toutefois été confirmée par une valeur prédictive positive de 96% lorsque le seuil était placé à 100 points pour 2 observations consécutives de 30 minutes.

Les signes et les points attribués à chaque signe peuvent être sujets de discussion [10]. L'agitation est ainsi un signe relativement subjectif dont la quantification ou même l'appréciation sont différentes en fonction des éleveurs. De même, la présence d'un filet de mucus n'est pas toujours observée en stabulation libre d'où le faible nombre de points attribués à ce signe. Mais lorsque la longueur de ce filet atteint 50 cm, la vache peut être considérée en chaleurs sans autre signe apparent.

IV. Méthodes d'assistance à la détection des chaleurs :

L'étude précédente de l'état d'œstrus, observé sur l'animal, est directement utile à l'élevage pour permettre à l'éleveur de repérer le moment de l'insémination.

IV.1. Techniques basées sur l'acceptation du chevauchement :

Signe primaire, l'acceptation du chevauchement reste l'un des premiers signes utilisés dans la détection des vaches en chaleurs. Outre l'observation visuelle directe, l'éleveur peut avoir recours à un témoin, soit mécanique soit électronique. Ce témoin lui permet d'identifier les animaux ayant été chevauchés. Dans certains cas, il lui permet même de situer la période (heures) d'acceptation du chevauchement.

IV.1.1. Observations visuelles :

Déjà amplement abordée lors de la description des comportements dits d'œstrus, il reste à préciser les résultats obtenus lors de l'utilisation de cette méthode à travers les diverses techniques (fréquence, durées, signes recherchés) mises en œuvre.

L'observation visuelle, bien qu'ancienne, a évolué dans sa méthodologie. En effet, elle est devenue dépendante des emplois du temps des éleveurs (durée et moments d'observation) [20]. Que des évolutions techniques (rendements, vaches laitières hautes productrices) ou de la mutation générale du monde rural (intensification, stabulations).

Rationalisée depuis le milieu du siècle dernier, une recommandation semble largement admise [20], même si elle n'est pas toujours suivie; c'est d'observer le troupeau deux à trois fois par jour, 20 à 30 minutes à chaque fois. Ce temps à consacrer à l'observation doit se réserver en dehors des moments de traite, sous peine de tripler le nombre de faux positifs sans même augmenter celui des vaches correctement détectées [5].

Ainsi, malgré l'ensemble des comportements exprimés par les vaches (partie précédente), l'homme perdra inéluctablement de précieuses informations, à raison d'une surveillance de 2 ou 3 fois par jour, 40 à 90 minutes respectivement 2x20 minutes et 3x30 minutes, et cela même s'il s'organise de façon optimale dans le temps

tout en privilégiant les moments les plus favorables. Ces derniers correspondent aux moments de la journée non seulement où un maximum de vaches sont en œstrus mais aussi où elles le manifestent le mieux. Et afin, de s'assurer une bonne attention et d'éviter de stresser les animaux, il doit se préserver de tâches à accomplir en parallèle à la surveillance du troupeau. L'optimum revient à consacrer une demi-heure à 10h00 plus une autre à 20h00 [10]. Malheureusement, réduire ainsi la surveillance dans le temps diminue aussi la probabilité de voir une acceptation de chevauchement, en suivant cette recommandation, 30 à 70 % des chevauchements sont susceptibles d'être observés par l'homme [11]. Ce qui aboutit à un faible taux de détection des acceptations de chevauchement. Chez toutes vaches confondues Il passe de 37% (12x30') à 12% (3x30' à 10h, 12h, 20h), laissant dans ce dernier cas les trois quarts des périodes d'œstrus (et non des vaches) non déterminées par ce seul signe, pourtant majeur [10]. Au final, seulement un à deux tiers des cas peuvent être relevés visuellement.

De plus, tous signes confondus (signe majeur plus signes secondaires), les résultats de cette technique restent en deçà de la moitié des vaches en œstrus détectées. et ils donnent un huitième de «fausses détections » [5].



Chapitre III :

Superovulation et collecte d'embryons

I-Introduction :

La transplantation embryonnaire est définie comme étant une méthode de reproduction artificielle qui consiste à prélever sur une femelle dite « donneuse », préalablement soumise à une polyovulation grâce aux hormones gonadotropes ; un nombre variable d'embryons obtenus par insémination artificielle transférés dans l'appareil génital de femelle dites « receveuse » dont les cycles sont en parfaite synchronisation avec ceux des donneuses [21].

Classiquement, les traitements de superovulation reposent sur la stimulation ovarienne à partir d'hormones gonadotropes exogènes qui agissent en inhibant l'atresie des follicules dominés et en favorisant le développement des follicules plus jeunes [22]. Dès lors, les résultats de ces types de traitement sont fonction de l'état de la population folliculaire existante [23].

II- Principes des traitements de superovulation :

Le principe de la superovulation chez les ruminants repose sur la stimulation ovarienne par l'administration des hormones gonadotropes durant la phase lutéale et dont la durée est contrôlée par la PGF2 α . Elle permet d'obtenir une augmentation de la quantité de follicules pré-ovulatoires et par la suite une augmentation des nombres d'ovulation. La réponse ovarienne est estimée par comptage des corps jaunes [21].

Chaque corps jaune étant le témoin de l'ovulation d'un follicule) soit par observation visuelle (après abattage ou par endoscopie) soit le plus souvent par palpation rectale [21].

On a longtemps utilisé la PMSG à forte dose, mais actuellement on préfère l'administration d'extraits hypophysaires dont le rapport FSH/LH est contrôlé trois types d'hormones sont généralement utilisés: [24].

- La gonadotrophine chronique d'origine équine (eCG)
- Les extraits hypophysaires purifiée comme le follicule stimulating hormone d'origine porcine (FSHp) et la luteinizing hormon (LH)
- Les gonadotrophines pituitaires : hMG (human ménopausal gonadotropin)

-La FSH (Folliculo-Stimulating Hormone):

Il ne s'agit pas de préparations pures, mais d'un mélange de FSH et LH où la LH entre en proportion variables, comme contaminant. La demie vie de la FSH étant courte (20 à 70 min) [25] ce qui contraignait à la répétition des injections lors de traitement de superovulation toutes les douze heures pendant au moins quatre jours .actuellement, la FSH est obtenue à partir d'extraits hypophysaires d'origine équine (eFSH) ou ovine (oFSH). Les doses s'exprimer en mg équivalents du standard Armour ou en μg de FSH pure (1mg correspond à $15\mu\text{g}$ de pFSH pure [21].

Les nombres de l'ovulation et d'embryons collectés augmentent en même temps que la dose totale (30 mg soit l'équivalent de $450\mu\text{g}$ de FSHp pure) atteignant ensuite un tableau où le nombre d'embryons transférables est maximum [26] (Tableau IV).

Tableau VI: Effet de la dose de FSH sur la production d'embryons chez les bovins [26]

Dose totale (unité armour)	Nombre d'animaux	Embryons récoltés	Embryons transférables	Embryons de qualité
20	20	2.6±2.8	2.1±2.8	72%
28	20	10.1±7.1	3.9±2.7	47%
40	20	8.7±7.9	2.5±3.4	35%
60	20	6.3±6.0	0.9±1.4	16%

La connaissance des préparations hypophysaires proposées en matière en quantité réelle de F.S.H présente dans le flacon et l'éventuelle présence de contaminants tels que LH a fait l'objet controverses; ainsi les travaux menés par [27] aurait montré que les faibles taux de fécondation obtenus avec la FSHp seraient imputables a la quantité de LH présente en association avec la FSH et non au nombres d'IA effectuées.

Les conditions de production d'une quantité importante d'embryons de bonne qualité doivent être adapté es en modifiant la proportion LH/FSH dans la quelle l'extrait hypophysaire devrait contenir une faible quantité de LH. [28] en comparant la croissance

folliculaire au cours de 3 types de traitement de superovulation par la FSH : (0.29mg FSH) ; (0.29mg FSH+ 0.19mg LH) et (0.19mg LH) font remarquer que des quantités élevées de LH dans les traitements de superovulation auraient des effets négatifs sur la croissance folliculaire et entraîneraient leur atrophie.

Les Mêmes résultats ont été également retrouvés par [29] qui a observé que l'effet détériorateur des traitements de superovulation serait dû aux fortes concentrations de LH. D'autres raisons de la variabilité des résultats de la superovulation par FSH furent également évoquées par [30], cela concernait la mauvaise standardisation du seul produit commercialisé à cette époque ; le FSHp (Burns Biotech). La quantité de FSH comme le rapport des quantités FSH/LH étaient très variable d'un lot de fabrication à un autre

III-Endocrinologie des donneuses superovulées :

En général 1/3 des profil endocrinien des donneuses soumises aux traitements de superovulation dévie de la normale . tous les événements préovulatoires (pic de E2, oestrus, pic de LH et FSH) chez les animaux superovulées apparaissent en général 24 heures plus tôt que les animaux non stimulés ($p \leq 0.05$) [31]. Ces exemples concernent également le déclin prématuré de la P4 suite au traitement de superovulation ou encore les taux élevés de P4 durant les moments de chaleurs [32]. Il a été noté que ces deux conditions sont incompatibles avec le pic préovulatoire de LH et sont souvent associé à des maturations ovocytaires incomplètes ou encore à des embryons de qualité réduites [32].

III-1-caractéristiques de l'oestrus et des ovulations :

Il est admis actuellement que l'oestrus, le pic préovulatoire de LH et l'ovulation chez les génisses superovulées apparaissent au moins 24 à 30 heures plus tôt que chez les génisses non stimulées [33]. A la suite d'une superovulation par la FSH, l'intervalle moyen PGF2 α oestrus varie de 41 heures [34] à 51 heures [35]. En comparant des génisses superovulées par la FSH par rapport à des témoins [33], notèrent également que cet intervalle apparaît en moyenne $48.3 \pm 0.3h$ vs $66.7 \pm 9.6h$ respectivement.

Les ovulations varient selon le type de l'agent stimulant (eCG ; FSH) chez les vaches superovulées par l'eCG , les ovulations débutent cinquante à soixante heures après le début de l'oestrus ; par contre ,ils apparaissent légèrement plus tard en utilisant la FSH [36]. Compte tenu de la multiplicité des ovulations, le délai au cours duquel

elles se déroulent est logiquement plus long que lors d'un cycle normal. La plus part des ovulations se produisent au tour de la vingt quatrième heure après le début d'œstrus [32].

Le moment des ovulations par rapport au pic de LH, a été déterminé par [37] en effectuant des prises de sang et l'examen des ovaires par échographie; ces auteurs concluent que les ovulations se produisent entre 22.7 ± 1.5 heures et 31 ± 1.5 heures sur une période de 8 heures après le pic de LH.

III-2 caractéristiques des profils hormonaux:

III.2.1. la LH :

Chez les femelles superovulées, une augmentation du niveau de base de LH à la suite de la lutéolyse est observé par rapport à celui des femelles normalement cyclées (1.7 vs 0.8 ng/ml) (Donaldson,1985). En revanche le pic de LH se produirait plus tôt au cours d'une superovulation comparée à un cycle normal avec induction de la lutéolyse par les prostaglandines (22 à 45 h vs 60 à 72h) pour [39] et 40.7 ± 4.2 vs 70 ± 8.0 h pour [33].(Figure2)

D'autres auteurs viennent confirmer ces résultats en utilisant la gonadotropine FSH : le pic de LH se produisait à 45 heures pour [34] à 52 heures après l'injection de $\text{PGF}_{2\alpha}$.

III.2.2. la FSH :

Il se produit un pic de FSH endogène approximativement synchrone avec le pic de LH [40] Des génisses superovulées par FSHp montraient des taux sériques de FSH qui augmentent dès la deuxième heure après traitement, atteignant un maximum de 25.3 ± 4.0 ; 26.1 ± 4.0 ; 18.4 ± 3.6 et 16.3 ± 3.6 ng/ml à J2, J3, J4, et J5 respectivement, puis décroissaient jusqu'à atteindre des concentrations de base non différentes de celles des génisses témoins (PMSG ou FSH) pour les traitements de superovulation, aucun effet sur le moment de l'augmentation de FSH ni sur la décharge gonadotrope de FSH n'est noté.

Quelque soit le traitement de superovulation (PMSG/FSH); qu'il soit institué suite à des traitements de maîtrise (implant, spirale) ou sans chaleur induite; [40] n'ont observé

aucun effet du lot de traitement sur le niveau de base moyen, la durée ou valeur maximale du pic de FSH (Figure2).

III.2.3. l'œstradiol :

La concentration de l'œstradiol augmente 24 heures environ après le début du traitement de superovulation. Cette augmentation s'accélère après l'injection de la prostaglandine et atteint une valeur maximale 34 à 50 heures plus tard. [41]. (Figure 2)

III.2.4. la progesterone :

On peut distinguer trois phases d'évolution de la progestérone. La première phase comprend la période située entre le début du traitement de superovulation et l'injection de la prostaglandine: une légère augmentation de la progestéronémie peut être observée. Elle est imputable à l'activité LH de la PMSG ou des extraits hypophysaires injectés [42]. Le second fait suite à l'injection d'un agent lutéolytique: la progestéronémie atteint 25 % de sa valeur initiale en 12 heures et sa valeur seuil après 24 heures. Au cours de la troisième phase comprise entre les chaleurs et le moment de la récolte, l'augmentation de la progestérone est plus rapide que chez les animaux non superovulés [43]. (Figure2)

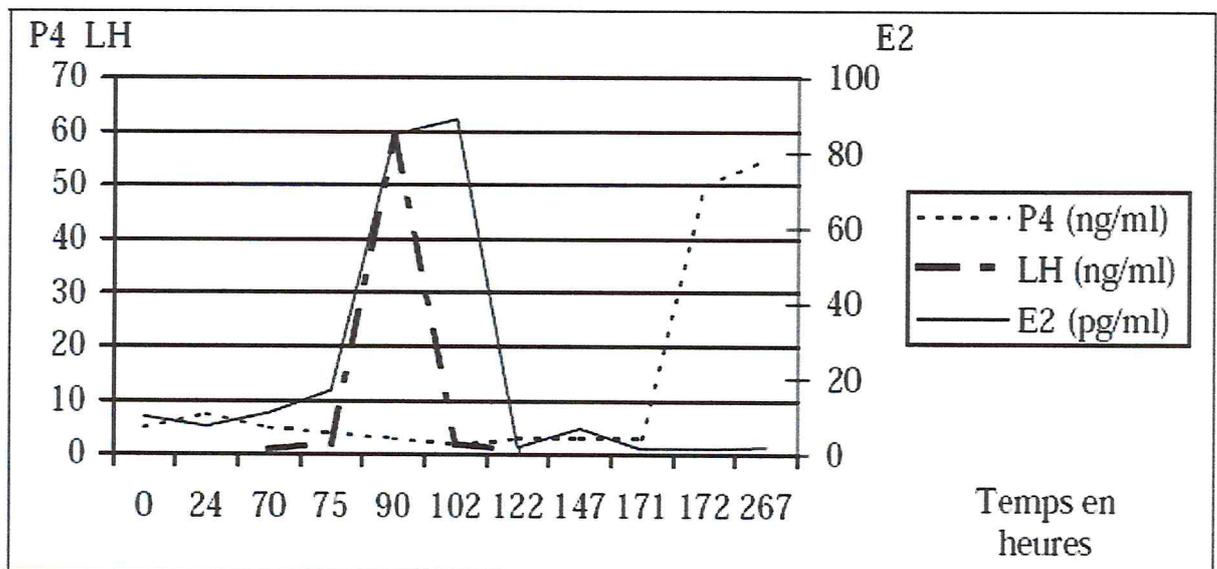


Figure 2 : Courbe des concentrations plasmatiques de l'œstradiol de la Progesterone et de LH chez des vaches ayant répondu au traitement de superovulation par FSH [40].

IV. Schéma des traitements inducteurs :

IV.1. Chaleurs de référence :

Un traitement de superovulation peut être mis en place lors du pro œstrus c'est-à-dire vers le 16^{ème} voire 17^{ème} jour du cycle. Cependant étant donné la difficulté de prévoir le moment exact de retour en chaleurs de l'animal, il est plus aisé de mettre en place le traitement de superovulation 9 à 15 jours après une chaleur dite de référence, que celle-ci ait été observée par l'éleveur ou induite par un traitement dit de presynchronisation au moyen d'une ou mieux de deux prostaglandines à 14 jours d'intervalle. Une solution alternative consiste chez les femelles non cyclées à réaliser un traitement de superovulation au cours de la phase d'induction d'une chaleur au moyen d'un progestagène (spirale ou implant). Le recours à ce traitement de presynchronisation au moyen de prostaglandines serait davantage appliqué chez les animaux de race à viande que laitière. Par ailleurs, le nombre d'embryons totaux et transférables obtenus est comparable après une chaleur de référence dite naturelle ou induite (9.9 vs 10.4 et 5.1 vs 5.2) [44].

IV.2. Chaleurs de superovulation :

Celle-ci sera le plus souvent obtenue par l'injection unique ou répétée (2 voire 3 injections) d'une prostaglandine naturelle ou synthétique 48 heures en général après le début du traitement au moyen de PMSG ou de pFSH

En général, les doses de prostaglandines sont doublées par rapport aux doses recommandées par le fabricant. En termes de résultats, il ne semble pas y avoir de différences entre les prostaglandines naturelles et de synthèse. La voie IM est la voie la plus couramment utilisée. Seule le fenprostalène est utilisée en injection sous-cutanée. La voie IV permet l'obtention de résultats équivalents à la voie IM. La voie intravulvaire en sous-muqueux n'a pas été évaluée dans le cadre de la superovulation.

Une chaleur de superovulation peut également être obtenue par le retrait d'un corps jaune artificiel [43]. Ces traitements sont généralement associés à une voire deux injections de prostaglandines pour permettre la lyse du corps jaune naturel éventuellement en place ou en développement lors du traitement au moyen du progestagène. Selon ce schéma, l'implant ou la spirale peuvent être mis en place

quelque soit le moment du cycle éventuellement présent. Il n'est donc pas nécessaire dans ce cas de tenir compte d'une chaleur dite de « référence ».

Lors d'utilisation de la FSH pour le traitement de superovulation, l'injection de PGF2 α est réalisée à la troisième injection ou plus souvent à la 5^{ème} injection de FSH soit 12 à 48 heures avant l'arrêt du traitement par le progestagène. En cas d'injection répétée de PGF2a, les injections sont réalisées simultanément à la 5^{ème} et 6^{ème} injection ou à la 7^{ème} et 8^{ème} injection de FSH [43]. Les doses totales de PGF2a injectées sont respectivement de 0.5 mg à 1 mg de cloprostenol, de 22.5 mg de dinoprost ou de 15mg de luprostiol.

Une autre alternative a été plus récemment décrite. Elle consiste en un traitement dit court mis en place entre le 7^{ème} et le 11^{ème} jour suivant la chaleur de « référence », et laissé pendant 5 jours. Le traitement de superovulation débiterait 1 à 3 jours après le début du traitement au moyen du progestagène de manière à arrêter le traitement du progestagène à la 6^{ème} voire 7^{ème} injection de FSH.

Il semblerait que l'efficacité des traitements inducteurs à base de progestagènes soit plus grande quand le cas échéant, ils sont initiés entre le 6^{ème} et le 9^{ème} jour du cycle qu'entre le 1^{er} et le 3^{ème} ou entre le 14^{ème} et le 16^{ème} jour du cycle [43]. L'augmentation du nombre d'injection de PGF2a ou de leur dose totale ne semblerait pas exercer un effet déterminant sur la qualité des résultats.

En ce qui concerne le timing de l'insémination, une double insémination doit être réalisée respectivement 12 et 24 heures après le début de l'œstrus. Si elles sont pratiquées de manière systématique, on recommandera d'inséminer 36 et 48 heures après le retrait du progestagène si la PGF2 est injectée 48 heures avant le retrait et 48 et 60 heures ou 56 et 72 heures après le retrait si l'intervalle entre le PGF2 et le retrait est de 12 heures [43].

IV.3. chaleurs post récolte :

Après une récolte d'embryons, il est indispensable de s'assurer de la lyse des corps jaunes induits pour éviter une gestation gémellaire et induire aussi rapidement que possible le retour à une cyclicité normale. En l'absence d'injection d'une prostaglandine et de gestation, le cycle suivant a une durée

comprise entre 22 et plus de 30 jours [45]. Ce délai dépend du nombre de corps jaunes présents et donc indirectement de l'importance du rétrocontrôle négatif exercé sur l'hormone LH par la progestérone endogène. Deux stratégies sont possibles. La première consiste à injecter une PGF₂ α le jour de la récolte. La seconde est de différer cette injection d'une semaine ou deux. Dans l'un et l'autre cas on observe une augmentation de l'intervalle entre l'injection et l'œstrus (4,3 à 8,8 jours et parfois plus de 11 jours). Ce retard est imputable à un nombre de petits follicules (< 5 mm) plus réduits lors de l'injection, phénomène résultant d'une progestéronémie élevée [45]. Ni la dose injectée ni le nombre d'injections ne semblent influencer les résultats. Le cycle faisant suite à cette chaleur de « récolte » ayant une durée normale, il peut être utilisé pour induire un nouveau traitement de superovulation.

IV-4. Protocole du traitement de superovulation :

Du fait de la courte demi-vie de la FSH, les protocoles classiques de superovulation nécessitent de nombreuses injections. Actuellement, il semblerait que les meilleurs résultats soient obtenus lorsque la FSH est injectée 2 fois par jour pendant 4 jours avec des doses décroissantes. Cependant, de nombreuses études ont pour but de tester l'efficacité de protocoles plus simples limitant le nombre d'injections et par la même le stress occasionné lors de la manipulation des animaux, ainsi que le travail des éleveurs.

_ 2 injections par voie Intramusculaire (IM), pendant 4 jours, fractionnement en doses égales ou décroissantes

[46] n'ont pas observé de différence significative dans le nombre d'ovulations selon le fractionnement des doses en parties égales (9,4 ovulations ; n=6) ou inégales et décroissantes (8,6 ovulations ; n=18) sur 8 injections.

_ 2 injections par voie IM et par jour pendant 4 jours versus 1 seule injection par voie Sous-cutanée (SC) de la même dose totale

Pour [47], l'efficacité des deux protocoles est la même : dans une étude portant sur 48 génisses de race à viande, aucune différence significative dans le nombre d'embryons viables n'a été observée entre les deux protocoles.

Cependant, l'efficacité du protocole à une seule injection par voie SC est fonction de l'état d'engraissement des donneuses et du site d'injection [48] : pour des vaches maigres (note d'état corporel égale à 1 ou 2), une seule injection par voie SC dans le cou est moins efficace qu'une seule injection par voie SC en arrière de l'épaule ou que 2 injections par voie IM et par jour pendant 4 jours. Pour des donneuses en bon état corporel (note d'état égale à 3 ou 4), l'efficacité des deux protocoles est comparable, quel que soit le site d'injection (dans le cou ou en arrière de l'épaule).

_ 2 injections par jour pendant 4 ou 5 jours versus 1 injection par jour pendant 3 jours

[49] n'ont pas observé de différence significative en ce qui concerne le nombre d'ovocytes fécondés entre 2 injections par jour pendant 5 jours (3,1 ovocytes fécondés ; n=12) et 1 injection par jour pendant 3 jours (3,3 ovocytes fécondés ; n=12) ; pour ces deux traitements, la dose totale était la même : 50 mg de FSH porcine (Burns Biotec) Pour [50], 75 unités de FSH (SUPEROVND) en une injection par jour pendant 3 jours (n = 58) ou en 2 injections par jour pendant 4 jours à doses égales (n = 373) produisent le même nombre moyen d'embryons transférables (respectivement $5,3 \pm 5,3$ versus $5,5 \pm 5,5$).

Différents solvants de dilution de la FSH ont été testés afin de limiter le nombre d'injections. Le polyvinylpyrrolidone est un solvant adéquat pour prolonger l'absorption de la FSH administrée en une seule injection. Huit injections par voie IM d'une dose totale standard de FSH porcine diluée dans une solution de NaCl 0,9 % donnent autant d'embryons et d'embryons viables qu'une seule injection par voie IM ou SC de la même dose totale diluée dans une solution à 30% de polyvinylpyrrolidone [51]. [52] ont testé l'efficacité d'un autre diluant, la << prolongone >> à base d'oxyde de silicone. Trois préparations commerciales différentes de FSH ont été diluées dans 5 à 7 ml de prolongone puis injectées par voie SC en une seule fois entre le 8^{ème} et le 11^{ème} jour du cycle. Le nombre total d'embryons collectés est respectivement $7,0 \pm 1,4$, $6,0 \pm 1,5$ et $7,8 \pm 1,5$ pour chacune des trois préparations (n=20, n=26 et n=11). Les auteurs concluent qu'une seule injection de FSH diluée dans la << prolongone >> par voie SC provoque une bonne réponse ovarienne.

IV.5. cycle naturel ou maîtrisé :

Pour des raisons pratiques, les traitements de stimulation ovarienne sont parfois associés à un traitement de synchronisation des chaleurs à base de progestagènes, sous forme d'implants ou de spirales.

_ Cas des donneuses cyclées :

L'intérêt de la combinaison d'un implant ou d'une spirale vaginale de progestagènes à un traitement de superovulation (par de la FSH ou de la PMSG) est la possibilité d'initier le traitement à n'importe quel moment du cycle ovarien et donc de s'affranchir d'une surveillance des chaleurs [53]. Cependant, bien que cette combinaison présente un aspect pratique, elle ne permet pas toujours d'obtenir une production maximale d'embryons [54]. Ces derniers ont comparé la combinaison spirale de progestagènes – FSH à la FSH seule (groupe témoin) en faisant varier le jour de pose de la spirale : groupe I : j0 (chaleur de référence) à j6 ; groupe II : j7 à j13 ; groupe III : j14 à j20 (tableau 9). Globalement, le nombre total d'embryons collectés après un traitement associant une spirale de progestagènes à de la FSH est significativement inférieur à celui obtenu avec de la FSH seule ; aucun effet significatif n'est observé sur le nombre d'embryons transférables. Mais les résultats varient aussi en fonction de la période du cycle à laquelle est posée la spirale : les moins bons résultats sont obtenus pour le groupe III, c'est à dire lorsque le traitement à base de progestagènes débute dans le dernier tiers du cycle œstral (dans ce groupe, 50 % des donneuses n'ont pas superovulé).

Tableau VII: Réponse ovarienne à un traitement de superovulation par la FSH chez des vaches cyclées, pendant un traitement à base de progestagène [54].

Groupes	Résultats par donneuse ($m \pm \sigma$)		
	corps jaunes	total d'embryons	Embryons transférables
I (j0 à j6)	6,1 ± 2,9	5,0 ± 3,7	4,2 ± 3,2
II (j7 à j13)	6,7 ± 4,1	5,4 ± 5,1	4,2 ± 4,6
III (j14 à j20)	3,6 ± 2,9	2,5 ± 3,6	2,1 ± 3,5
Total I+II+III	5,5 ± 3,6	4,0 ± 3,6 *	3,5 ± 3,8
Témoin	8,5 ± 5,1	9,5 ± 6,2 *	6,0 ± 4,9

Cas des femelles en anœstrus :

Pour [54], la combinaison progestagènes (spirale PRIDND) – FSH peut être utilisée avec succès chez des donneuses non vues en chaleurs avant le traitement de superovulation. Chez ces femelles (n = 23), le nombre d'embryons collectés, le nombre d'embryons de qualité 1 ou 2 et le nombre d'embryons de qualité 3 sont comparables à ceux obtenus sur un lot de femelles (n = 55) vues en chaleurs avant l'initiation du traitement de superovulation avec la FSH seule (respectivement 9,9 , 2,7 et 2,1 versus 11,0 , 2,9 et 1,9). De même, [56] n'ont pas mis en évidence de différence significative entre les résultats obtenus avec des femelles en anœstrus post-partum superovulées avec la combinaison spirale vaginale de progestagènes – FSH (n = 11) et avec ceux obtenus chez des femelles cyclées superovulées avec la FSH seule (n = 11).

Ainsi, l'association d'un traitement de stimulation ovarienne à un traitement par des progestagènes (spirale ou implant) présente l'avantage de pouvoir être mise en œuvre même en l'absence d'informations sur les cycles des animaux traités et, surtout, de diminuer la fréquence des non-réponses. On améliore donc la production totale d'embryons en diminuant la fréquence des animaux qui ne produisent aucun bon embryon [57].

V. Conséquences d'un traitement de superovulation :

-Nombre et qualité d'embryons produits :

L'objectif d'une stimulation ovarienne est d'obtenir un maximum d'embryons transférables. On estime d'une manière générale que 85 % des donneuses répondent à un traitement de superovulation c'est-à-dire présentent plus de deux corps jaunes. 75 % présentent plus de 4 corps jaunes et 65 % en ont plus de 5. Le nombre de corps jaunes peut aisément être estimé après abattage de l'animal. Par endoscopie, la corrélation est de 0.89 et de 0.6 quand le diagnostic est réalisé par palpation manuelle des ovaires.

On estime à 7.8 le nombre total moyen d'embryon produit après superovulation. Le nombre moyen d'embryons transférables est de 5.6 soit 72 %, 71 % étant de qualité 1 et 29 % de qualité 2 [58].

Parmi d'autres, la réponse variable (0 à 40 ovulations) et peu prédictible des animaux à un traitement de superovulation constitue encore à l'heure actuelle un des facteurs limitant de la méthode.. Une récolte sur 3 ne produit aucun embryon transférable et 70 % des embryons transférés proviennent de 30 % des récoltes réalisées. Semblables résultats ont été observés chez la vache laitière. Selon certains auteurs, 70 % de la variation des réponses observées peuvent être imputées à des facteurs intrinsèques liés au statut ovarien de l'animal ou à la nature et au rythme d'injection des substances utilisées.. Les causes peuvent en être trouvées d'une part dans les effets du traitement de superovulation sur la croissance folliculaire ou d'autre part, dans le manque de synchronisme entre le début du traitement de superovulation et le statut ovarien susceptible d'interférer avec un recrutement folliculaire optimal.

[59] ont procédé à une évaluation des résultats de récolte et transfert d'embryons frais, congelés et/ou sexés. Selon les manipulations effectuées, le nombre de veaux obtenus varie d'un facteur 1 à 6 cules ovulatoires

PARTIE
EXPERIMENTALE

Partie expérimentale

I. Introduction :

L'intérêt de ce qui précède est de dresser des tableaux synthétiques et recenser le maximum d'aspect déjà relatés sur l'état d'œstrus des vaches qui ont été soumises à un traitement de superovulation et leurs résultats de récolte embryonnaire.

II. Objectif :

L'objectif de cette étude expérimentale est double :

- Définir les caractéristiques des chaleurs de superovulation par rapport aux chaleurs naturelles en se basant de l'observation visuelle.
- Étudier la relation entre la venue en chaleurs et les résultats de récoltes d'embryons des vaches superovulées

III. MATERIEL ET METHODES:

III.1. Le cadre de travail :

L'étude s'est déroulée au niveau de la station expérimentale de l'université SAAD DAHLEB BLIDA qui englobe plusieurs bâtiments d'élevage (bovin, ovin, équin, camelin, cunicole), et abritant le cheptel expérimental, elle présente des parcelles cultivables, des bureaux administratifs, une salle de traite. Les bovins sont logés dans des boxes pour vaches, génisses, veaux, taureaux. (Photo 2).



A : bâtiment ovin B : bâtiment bovin C : bâtiment camelin D : bâtiment cunicole
E : bâtiment équin F : administrations

Figure 3: La station expérimentale université de Blida (I)

Matériel :

III.2. Les animaux :

Les vaches incluent dans l'essai sont de nombre quatre et de race Prim'Holstein

Deux de robe pie noir :

La 7001 est primipare, âgée de 4 ans, date du vêlage : janvier 2010.

La 7002 est primipare, âgée de 4 ans, date du vêlage : février 2011.

Les deux autres sont de robe pie rouge :

La 8001 est primipare, âgée de 3 ans, date du vêlage : mars 2011.

La 8002 est primipare, âgée de 3 ans, date du vêlage : février 2011.

Les vaches sont alimentées par la paille et concentré (Orge, son, soja, maïs, sel, vitamines), elles sont réparties en quatre box à stabulation semi entravée, elles produisent environ 8 à 10 kg de lait par jour et présentent un état d'embonpoints entre 2 et 3.

III.3. Les hormones : _FSH _LH

_GnRH

_ Prostaglandine

III.4. Matériel de la détection des chaleurs :

_ Appareil photo (7.2 Méga pixels)

_ Chronomètre

III.5. Matériel d'insémination artificielle et de collecte d'embryons:

- Un pistolet d'insémination
- Paillettes d'insémination
- Une sonde souple avec mandrin métallique (sonde de Folley)
- Chemises sanitaires
- PBS (phosphate bufferd saline): milieu de conservation des embryons
- Seringue de 50 ml qui sert a administré et récupérer le liquide de lavage de la corne
- Une bouteille stérile d'un litre
- Gants pour le fouillet rectal
- Xylocaïne
- Boîtes de pétries quadrillées
- Loupe binoculaire

IV. METHODES :

IV.1. Suivi de la cyclicité des vaches :

L'appréciation de la cyclicité des vaches a été réalisée par observation pendant 3 mois avec des visites régulières espacées de 11 jours. Des explorations transrectales et des observations visuelles ont utilisé pour d'apprécier les modifications structurales au sein des ovaires et de noter les changements comportementaux de chaque vache. (Tableau X)

Pendant le suivi de la cyclicité, des interventions ont été mises en place pour traiter certains cas de pathologies retrouvées (kyste ovarien, anœstrus), (Tableau VIII).

Tableau VIII: Traitements utilisés pendant le suivi de la cyclicité des vaches.

N°Vache Date	07002	07004	08001	08002
24-07-11	Injection de GnRh (3 ml en IM)	-	-	-
25-07-11	-	Injection de PGF2 α (3 ml en IM)	Injection de PGF2 α (3 ml en IM)	Injection de PGF2 α (3 ml en IM)
07-08-11	Injection de GnRH (3 ml en IM)	-	-	-
31-08-11	-	Injection de GnRH (3 ml en IM)	Injection de GnRH (3 ml en IM)	Injection de GnRH (3 ml en IM)

L'administration de la GnRH pour la vache 07002 à pour but le traitement du kyste folliculaire.

Et l'utilisation de la PGF2 α et de la GnRH se fait dans le cadre d'induction des chaleurs chez les autres vaches.

VI.2. Le traitement de la superovulation :

Le protocole du traitement de superovulation est réalisé par l'injection de la FSH / LH porcines (Stimufol) dosé à 40 unités Armour (l'unité Armour correspond à 10 microgramme de FSH pure) avec un pourcentage de 40 % de LH.

Cette association FSH/LH est diluée dans 9 ml de NaCL isotonique et administrée en 3 injections intramusculaires au niveau de l'encolure à 24 heures d'intervalle et une injection intramusculaire de PGF2 α (3ml) juste après la 3^{ème} injection de FSH/LH.

la solution FSH/LH, NaCL a été conservé à (+ 7 °).

Le traitement commence au 10^{ème} jour après apparition des chaleurs de références et dure pendant 3 jours. Au 5^{ème} jour du traitement, l'animal reçoit une double insémination artificielle.

La collecte d'embryons est réalisée le 7^{ème} jour après la première insémination. (figure2)

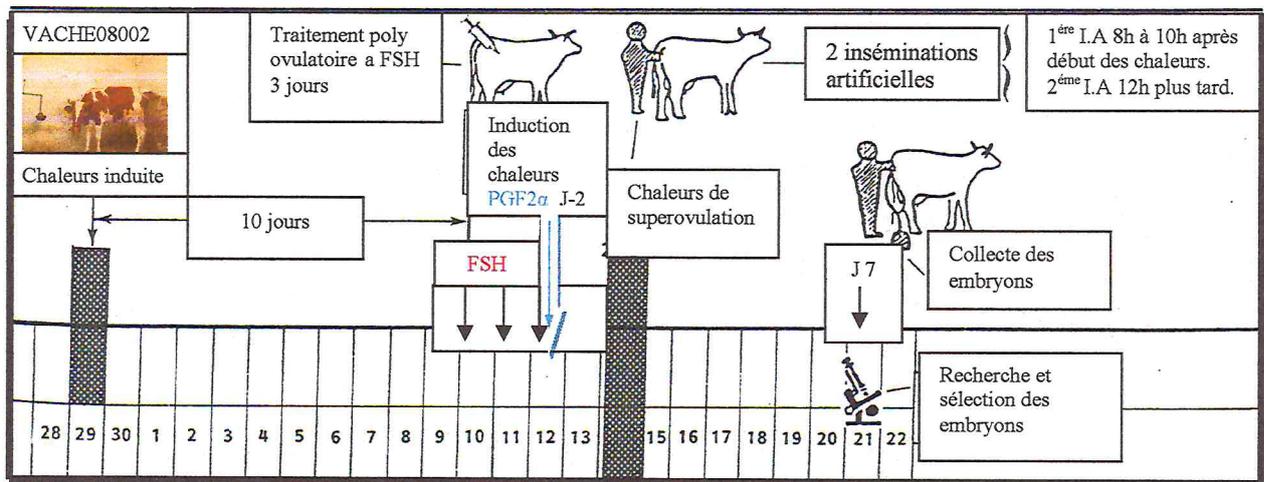


Figure 4: Protocole du traitement de superovulation, d'insémination et de récolte.

VI.3. Méthode d'observation des chaleurs :

L'observation des chaleurs a été réalisée selon la méthode de VAN EERDENBURG[10] qui permet de détecter 100% des vaches en œstrus, par des observations de 30 minutes tout les 2 heures pendant 24 heures et l'application d'une grille de pointage à chaque observation (tableau IX)

Tableau IX: Grille de notation des signes secondaires initiés observés. [10]

Signe secondaire initié observé	Points attribués
Présence de mucus à la vulve	3
Cajolement	3
Agitation	5
Chevauchement sans acceptation	10
Renifler\ lécher de la vulve	10
Posé de la tête sur la croupe	15
Tentative de chevauchement	35
Tentative de chevauchement par l'avant	45
Acceptation du chevauchement	100

On a noté chaque comportement qui peut être significatif à une vache en chaleurs avec le nombre d'apparition et des prises en photo.

VI.4. Insémination artificielle :

L'insémination artificielle est faite le 5^{ème} jour après la 1^{ère} injection FSH/LH de la superovulation pour les deux vaches.

La vache 08001 a été inséminée en deux fois à 50 heures et à 60 heures après injection de prostaglandine :

Le matin à 11 : 30 , le soir à 21 : 00 du 11/08/2011.

La vache 08002 a subi deux traitements superovulatoires dont elle a répondu qu'au deuxième, suivi par une seule insémination artificielle à 51 heures après injection de la prostaglandine :

L'après midi à 12 : 30 , du 05/08/2011.

La semence du taureau utilisé est : Provient du taureau HUMAX 830 8892 972 05/07/2011.

VI.5. Collecte des embryons :

La collecte des embryons est réalisée au 7^{ème} jour après l'insémination artificielle par un lavage utérin grâce à une sonde souple (sonde de folley) munie d'un ballonnet.

V. RESULTATS :

V.1. Résultats du suivi de la cyclicité des vaches :(tableau X)

La vache 07002 a présenté des chaleurs permanentes même après traitement et l'énucléation du kyste, ce qui a fait sa suppression du cheptel expérimental.

Les vaches 08001, 08002, 07004 n'ont pas présenté des chaleurs. Après l'induction, seulement les vaches (08001,08002) ont présenté des signes secondaires moins intenses et ont été retenues pour le traitement de superovulation.

Tableau X : Résultats de palpations transrectales et observations des chaleurs pendant le suivi de la cyclicité

Date		Vache	07002	07004	08001	08002
27-06	Ovaire :	D	F	CJ	CJ	CJ
		G	Lisse	F	CJ+F	CJ
	Observation:		Signe des chaleurs	-	-	-
08-07	Ovaire :	D	CJ+F	CJ	CJ	CJ
		G	CJ	CJ	CJ	F
	Observation:		-	-	-	-
19-07	Ovaire :	D	CJ+F	CJ	Lisse	CJ
		G	CJ	CJ	CJ	CJ
	Observation:		Signe des chaleurs	-	-	-
30-07	Ovaire :	D	Kyste ovarien	CJ	CJ	CJ
		G	CJ	CJ	CJ	CJ
	Observation:		Signe des chaleurs	-	-	-
10-08	Ovaire :	D	Kyste	CJ	CJ	CJ
		G	CJ	CJ	Lisse	CJ
	Observation:		Signe des chaleurs	-	Signe des chaleurs	-
21-08	Ovaire :	D	Kyste	CJ	CJ	CJ
		G	CJ	CJ	CJ	CJ
	Observation:		Signe des chaleurs	-	-	-

V.2. Caractéristiques des chaleurs de superovulation

V.2.1. La venue en chaleurs :

Nous avons remarqués que les vaches superovulées ont venue en chaleurs dans les 48 heures après injection de prostaglandine. Exceptionnellement lors du premier traitement de la vache 08002 qui n'a pas présenté des signes de chaleurs.

Les premiers signes ont été observés à 36 heures après l'injection de la prostaglandine pour la vache (08001), et à 30 heures après l'injection de la prostaglandine pour la vache (08002).

La durée des chaleurs pour la vache (08001) a été de 23h30 et pour la vache (08002) été de 6h.(Tableau XI).

Tableau XI : Début et fin des chaleurs de superovulation

N° de vache	Début des chaleurs post PG	Fin des chaleurs post PG	Durée des chaleurs
08001	36h	59h	23h
08002	30h	36h	6h

V.2 .2. Comportement :

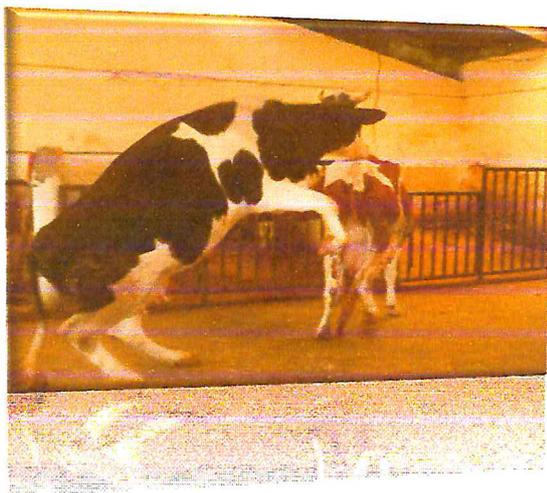
La vache qui a présenté une longue durée d'œstrus (23h) a exprimée ces chaleurs avec une diversité et intensité remarquable des signes secondaires, comparée à l'autre vache qui n'a exprimée que quelques signes moins fréquents.

Les comportements saisis durant l'observation ont été reportés sur le **tableau XII** et pris en **photos (Figure 5)** incluant les occurrences vaches par vache et les activités par vache et par comportement.

Tableau XII: répartition des activités par comportement et par vache

<i>Signes observés</i>	<i>Vache n°8001</i>	<i>Vache n°08002</i>
Accepte le chevauchement (photo4)	22	-
Chevauche (ou tente (photo1))	72	-
Chevauche par devant (ou tente	13	-
Posé son menton sur croupe/flancs	84	-
Posé son menton sur encolure/épaules	24	-
Se frotte le corps contre le corps	35	-
Se frotte la tête contre la tête	7	-
Se frotte le corps contre la tête	17	-
Se rapproche du corps (photo6)	96	5
Renifle flanc/ventre/mamelle	119	12
Renifle l'arrière train (photo2)	124	15
Lèche l'arrière train	90	-
Meugle (photo3)	28	40
A des glaires vulvaires translucides	-	1

L'étude de la répartition du comportement par vache indique une diversité évidente. La vache 08001 a présenté des signes plus au moins intenses. Cependant on n'a observé qu'un changement d'allure exclus et meuglement chez la vache 08002.



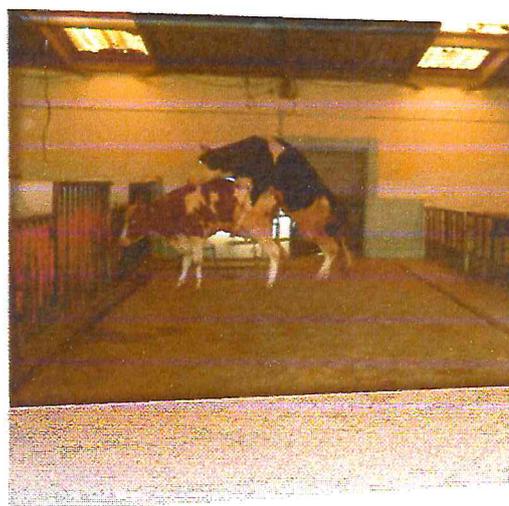
1-Tentative de chevauchement



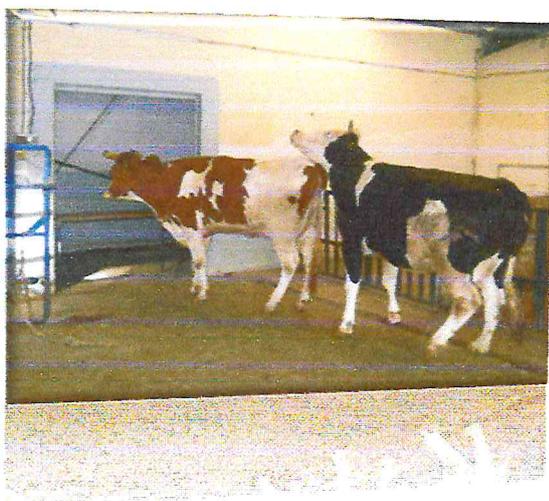
2-Reniflement de l'arriere



3-Meuglement



4-Acceptation de chevauchement



5-Pose de tête sur la croupe



6-Rapprochement des corps

Figure5: Signes des chaleurs des vaches superovulées

V.2.3 Intensité des chaleurs :

La grille de pointage nous a permis d'attribuer pour chaque vache un score comportemental égal à la somme des points attribués aux signes secondaires, exprimant l'intensité des chaleurs à chaque observation (tableau XIII).

Tableau XIII : totale de points attribués à chaque observation pour chaque vache

Observation Matricule	1 ^{ère}	2 ^{ème}	3 ^{ème}	4 ^{ème}	5 ^{ème}	6 ^{ème}	7 ^{ème}	8 ^{ème}	9 ^{ème}	10 ^{ème}	11 ^{ème}	12 ^{ème}
Vache 08001	11	26	66	226	226	226	226	226	226	160	160	0
Vache 08002	8	18	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0

La variation d'intensité des chaleurs est présentée dans la figure 6 pour les expressions comportementales des deux vaches.

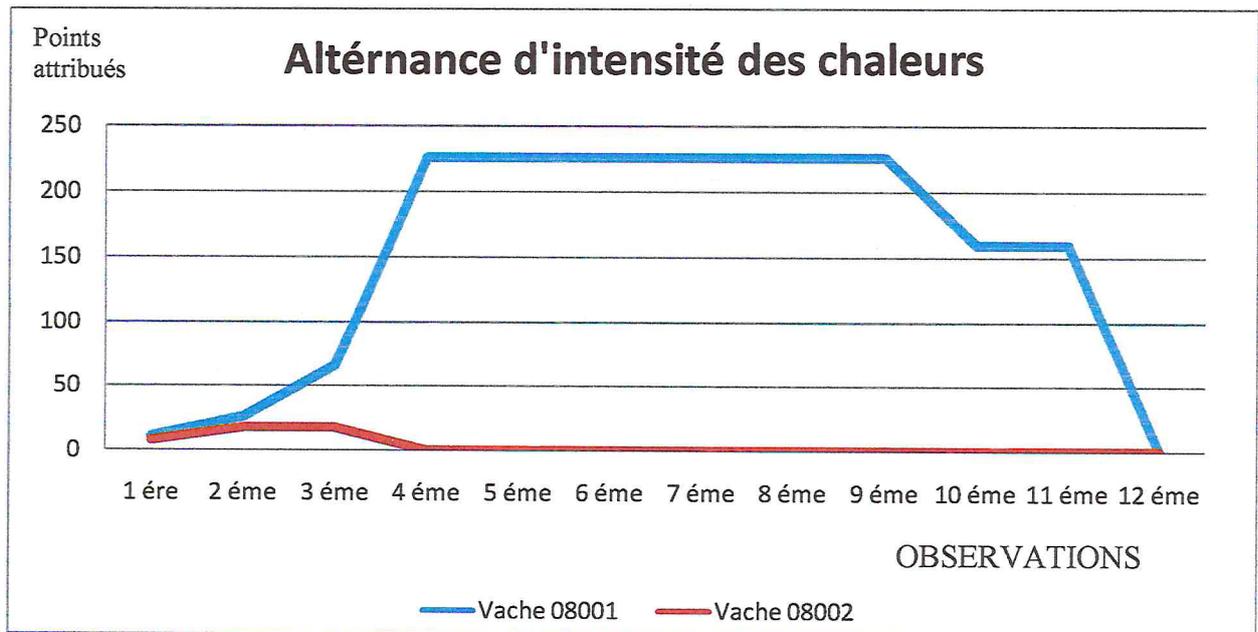


Figure 6 : variation d'intensité des signes des chaleurs par les points attribués pendant 12 observations

V.3. Réponse ovarienne au traitement de superovulation:

Une palpation transrectale au moment de la récolte des embryons nous a permis d'apprécier la réponse ovarienne au traitement de superovulation.

L'estimation de 23 corps jaunes (dont 10 sur l'ovaire droit et 13 sur l'ovaire gauche) pour la vache 08001, et 14 corps jaunes dont 8 sur l'ovaire droit et 6 sur l'ovaire gauche, avec une moyenne de 19 corps jaunes pour les deux vaches (Tableau XIV).

Tableau XIV : Appréciation de la réponse ovarienne au traitement de la superovulation via la palpation transrectale.

Vache	Corps jaunes palpables sur les ovaires		Corps jaunes estimés par vache
	OD	OG	
08001	10	13	23
08002	8	6	14

V.4. Résultats de récolte embryonnaire des deux vaches :

La récolte des embryons a été effectuée au 7^{ème} jour après l'insémination artificielle par un lavage utérin à l'aide d'une sonde à deux voies (sonde de Folley), on a pu récolter 19 embryons de 23 par rapport à la vache 08001 dont 7 sont transférables, 5 non fécondés et 7 dégénérés.

Concernant la vache 08002 on a récolté 11 embryons sur 14, dont 4 sont transférables, 2 dégénérés et 5 non fécondés (figure 7).

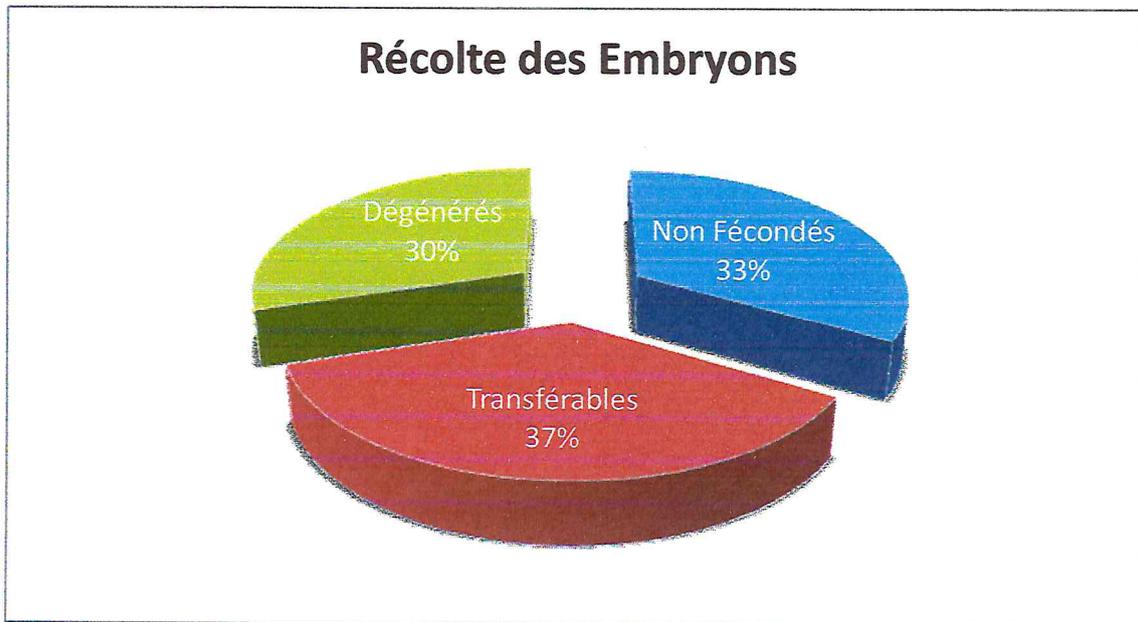


FIGURE 7 : Qualité des embryons récoltés (%)

Discussion :

Dans notre travail nous avons tenté d'évaluer la réponse des vaches à un traitement de superovulation à base de FSH/LH à 40%, le travail consiste à étudier les caractéristiques des chaleurs de superovulation en les comparant à ceux des vaches non stimulées. sites à la bibliographie.

la réaction des vaches traitées à la FSH était variable, la venue en chaleurs s'est fait dans les délais limites « 36 heures après injection de prostaglandine » pour la vache 1, cependant pour la vache 2, le début d'œstrus était précoce « 30 heures après injection de prostaglandine », comparé à celui obtenue par Ponsart et Humblot [43], le début des chaleurs de superovulation est observé en moyenne 33 à 48 heures ; et varie de 41 heures [39] à 51 heures [35], après l'injection d'une PGF2 α si la superovulation a été induite au moyen de FSHp.

Les résultats obtenus lors d'observation de la vache 1 révèlent une intensité élevée des chaleurs avec une moyenne de 148 points, si on les comparant avec les résultats obtenus par VAN EERDENBURG et al. [10], un seuil de 100 points associé à une observation du troupeau 30 minutes toutes les 2 heures pendant 24 heures a permis de détecter 100% des chaleurs avec une spécificité de 100%, Un seuil de 50 points associé à 2 périodes d'observation de 30 minutes (à 10h et 20h) a permis de détecter 74% des chaleurs sans faux positif. Pour la vache 2 une moyenne de 15 points qui présente une mauvaise qualité (intensité) des chaleurs.

L'œstrus apparaît 30 à 36 heures après injection de prostaglandine chez les deux vaches qui ont subit un traitement de superovulation soit 24 à 48 heures plus tôt que l'œstrus ainsi induit chez des animaux non superovulés où l'apparition des chaleurs varie de deux à cinq jours après administration de PGF2 α dans la majorité des cas et peut parfois se prolonger jusqu'à huit jours [60] ainsi selon Ponsart et Humblot [43], l'œstrus apparaît 35 à 48 heures après l'injection d'une prostaglandine soit environ 24 heures plus tôt que l'œstrus ainsi induit chez des animaux non stimulés.

La réaction des ovaires suite au traitement de superovulation était satisfaisante pour les deux vaches, le nombre de corps jaune est plutôt élevé chez vache 1 : 23 CJ comparé à celui obtenue par Chupin [21] qui est de 14,7 CJ, et identique à celui obtenue chez la vache 2 : 14 CJ.

Les résultats obtenus lors de la récolte chez la vache 1 sont très encourageants du fait du nombre et de la qualité d'embryons collectés soit 19 embryons dont 7 transférables (37%), et la vache 2 avec des résultats moyen, 11 embryons dont 4 transférables (36%). Dans l'ensemble nos résultats sont supérieurs de ceux obtenus par TOUATI [61], utilisant le rapport FSH/LH avec un nombre faible d'embryons : 4,5 par vache avec environ 2,83 embryons transférables.

CONCLUSION :

L'objectif de cette étude était double : de définir les caractéristiques des chaleurs de superovulation et étudier la relation entre la venue en chaleurs des vaches et les résultats des récoltes d'embryons. Nous avons utilisé une grille de notation des signes secondaires qui permet de juger la qualité des chaleurs, en se basant sur l'observation visuelle.

Il s'est avéré que les chaleurs de superovulation apparaissent plus précocement (30 à 36 heures après l'injection de la prostaglandine) avec des signes plus au moins intenses (une moyenne de 82 points entre les deux vaches).

Dans le déroulement de l'expérimentation, nous avons confirmé l'importance capitale de la détection et la qualification des chaleurs dans le cadre de la maîtrise de la superovulation, plus les chaleurs sont intenses et bien exprimées, plus on a de chances d'avoir une bonne réaction ovarienne.

Perspectives :

Après avoir réalisé notre travail, nous avons noté quelques lacunes qu'il faut les combler dans les travaux avenir, nous recommandons ainsi les points suivants :

- Refaire le travail sur un cheptel plus important.
- Mettre à disposition des chercheurs et du personnel intervenant dans les différentes étapes de cette technique .
- Prévoir un équipement adéquat pour faciliter le travail, notamment des systèmes de détection des chaleurs par vidéosurveillance.
- Vulgarisation de la technique auprès des éleveurs afin d'en faire une pratique courante dans l'élevage bovin.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) HANZEN. (2010) Cours de la production d'embryons in vivo dans l'espèce bovine .P3.Faculté de médecine vétérinaire service de theriogenologie des animaux, Université de Liège
- 2) DERIVAUX J. (1971) Reproduction chez les animaux domestiques. Tome 1 et 2 Editions Déroutaux. Liège, T1: 157p, T2: 175p
- 3) DRIANCOURT M.A., GOUGEON A., ROYERE D. et THIBAUT C. (1991) La reproduction chez les Mammifères et l'homme
- 4) MARIEN D. (1993) La dynamique folliculaire chez les bovins .Apports du suivi échographique. Thèse de doctorat vétérinaire. Lyon, 139 p
- 5) WILLIAMSON N.B., MORRIS R.S., BLOOD D.C., CANNON C.M. (1972). A study of oestrous behaviour and oestrus detection methods in a large commercial dairy herd: I - The relative efficiency of methods of oestrus detection. Vet. Record. July, 50-57
- 6) SENGER P.L. (1994). The estrus detection problem: new concept, technologies, and possibilities.J. Dairy. Sci., 77, 2745-2753
- 7) XU Z.Z., McKNIGHT D.J., VISHWANATAH R., PITT C.J., BURTON L.J. (1998). Estrus detection using radio telemetry or visual observation and tail painting for dairy Cows on pasture. J. Dairy Sci., 81, 2890-2896
- 8) WALKER W.L., NEBEL R.L., McGILLIARD M.L. (1996) Time of Ovulation Relative to Mounting Activity in Dairy Cattle. J. Dairy Sci. 79, 1555-1561
- 9) ORIHUELA A. (2000) some factors affecting the behavioural manifestation of oestrus in cattle: areview. Appl. Anim. Behav. Sci., 70, 1-16

- 10) VAN EERDENBURG F.J.C.M, LOEFFLER H.S.H et VAN Vet. Q., (1996)
VLIET J.H: Detection of oestrus in dairy cows: a new approach of an old problem. 18, 52-54
- 11) DISKIN M.G., SREENAN J.M. (2000). Expression and détection of œstrus in cattle. *Reprod. Nutr. Dev.* 40, 481-491
- 12) HANZEN. (2010) Cours de la détection de l'œstrus chez les ruminants.
Faculté de médecine vétérinaire service de theriogenologie des animaux, Université de Liège. P21
- 13) AMYOT E., HURNIK J.F. (1987). Diurnal patterns of estrous behaviour of dairy cows housed in a free stall. *Can. J. Anim. Sci.*, 67, 605-614.
- 14) PIGGOTT S.M., FITKIN D.R., STEFFEN A.J. et TIMMS L.L. (1996) Evaluation of accuracy and characterization of estrus activity as monitored by an electronic pressure sensing system for estrus detection in dairy cows and heifers. *J. Anim. Sci.*, 74 (Suppl.1), 70.
- 15) DRANSFIELD M.B.G., NEBEL R.L., PEARSON R.E. et WARNICK L.D. (1998) Timing of Insemination for Dairy Cows Identified in Estrus by Radio telemetric oestrus Detection System. *J. Dairy Sci.*, 81, 1874-1882.
- 16) DISENHAUS C., KERBRAT S. et PHILIPOT J.M. (2003) Entre fureur et pudeur: actualités sur l'expression de l'œstrus chez la vache laitière. Journées Bovines Nantaises, Nantes, 9 octobre, 94-101.
- 17) LYIMO Z.C., NIELEN M., OUWELTJES W., KRUIP T.A.M. et VAN EERDENBURG F.J.C.M. (2000) Relationship among estradiol, cortisol and intensity of estrous behavior in dairy cattle. *Theriogenology*, 53, 1783-1795
- 18) HERES L., DIELEMAN S.J. et VAN EERDENBURG F.J. (2000) .Validation of a new method of visual oestrus detection on the farm. *Vet. Q.*, 22, 50-55

- 19) DIJKHUIZEN T.J. et VAN EERDENBURG F.J. (1997) Behavioural signs of oestrus during pregnancy in lactating dairy cows. *Vet. Q.*, 19, 194-196
- 20) SHIPKA M.P. (1999). A note on silent ovulation identified by using radiotelemetry for estrous detection. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 66, 153-159
- 21) CHUPIN D. (1988), super ovulation par PMSG or FSH pour le transfert embryonnaire colloque Soc Fr. étude de la fertilité .Masson Ed paris ; 26 :213-232
- 22) GREVE T. (1982), embryo-transplantation in dairy cattle: an attempt to analyse factors that may affect embryo number and quality. Deuxième congrès international: transfert d'embryon chez les mammifères, 18, 251-276
- 23) NIBART M; HUMBLLOT P.(1997), utilisation des hormones gonadotropes chez les bovins. In les gonadotrophines. Y COMBARNOUS et P Volland-Nail. Edition INRA Paris. pp 377-394.
- 24) CHUPIN D. (1988), Superovulation par PMSG ou FSH pour le transfert embryonnaire. colloque soc Fr étude de la fertilité .MASSON ED paris; 26 :213-232.
- 25) LASTER. D.B.(1987), influence of breed on Reponse to exogenous hormons in estrus and anoestrus. 28-12p.
- 26) DONALDSON L. (1984), Dose of FSH-p as a source of variation in embryo production from superovulated cows. *theriogenology*, b,22 205-212.
- 27) DONALDSON LE. (1985), LH and FSH profiles of superovulation and embryo production in the cow. *Theriogenology*; 23(3): 441-447.
- 28) KANITZ W, Becker F., Schneider F., kanitz E., Leiding C., Nohner H.P,(2002) ET Pohland.R. , superovulation in cattle pratical aspects of gonadotropin treatment qnd insemination, *reprod . Nutr. Dev.*, 42, 587-599.
- 29) MALPETOFT RJ, BO GA Pierson RA, (1993). Factors affecting superovulation in the cow: Practical consideration. *IETS Embryo Transfer Newsl*; 11:14-24.

- 30) LINDSELL C.E, Murphy R.D, Mapltoft R.J, (1986). superovulatory and endocrine reponses in heifers treated with FSH pat defferent stages of the estrus cycle. *Theriogenology*; 26: 209- 219.
- 31) GREVE T., Callassen H., Hyttel P., Assey R., 1995. The effect of exogenous gonadotrophine on oocyte and embryo quality in cattle. *Theriogenoplogy*, 34, 41-50.
- 32) CALLESSEN H. Greve, T and Hyttel, P. 1993 estrus characterization in superovulated cattle, *Theriogenoogy* 40m 1259-1267.
- 33) ROBERGE S; Rieger D; Rawlings NC. Periovulatory LH, FSH and steroid hormon profiles in superovulated unstimulated Holstein heifers. *Theriogenology* 1995; 44:59-70.
- 34) Diop P.E.H., Fall R ,Mbay M., et Faye L.(1994)"le transfert embryonnaire en milieu villageois sénégalais",*Dakar Medical.*,39,pp.135-375.
- 35) FOOTE RH. Superovulation practices and related current research. In: *Proc Ann Am Embryo Trans Assoc.* Fort Worth, Texas 1986; 2-15.
- 36) MAUREL BR. Zeitoun MM. Yassen AM, Hassen AA. Fathelbas AZ. Wise TH, (1988). Superovulation using PMSG and; PMSG IN beef cows. *Theriogenology* , 29 (2), 339.
- 37) DE LOOS FAM; BEVERS MM; DIELMEN; SG; KRUIP TAM,(1991).morphologie of preovulatory bovine follicules as related to oocyte maturation, *Theriogenology*;35:527-535.
- 38) DONALDSON LE, (1985). LH and FSH profiles of superovulation and embryo production in the cow. *Theriogenology*; 23(3): 441-447.
- 39) YADAV MC, Walton JS, (1986) Leslie KE. Plasma concentration of luteinizing hormone and progesterone during superovulation of dairy cows using follicule stimulating hormone or pregnant mare serum gonadotropin. *Theriogenology*;26(4):523-540.
- 40) NIBART M , Slimane N ; Herrera R, Jeanguyot N, Mechkour F, Humblot P, Thibier Mm (1988). Variation des concentrqtion plasmatiques des hormones

gonadotropes (FSH et LH) et des stéroïdes (oestradiol-17 β et progesterone) après différents traitements de superovulation chez la vache . élevage et insémination;226:11-30.

- 41) DE LOOS FAM; BEVERS MM; DIELMEN; SG; KRUIP TAM,(1991). Follicular and oocyte maturation in cows treated for superovulation. *Theriogenology*; 35:537-546.
- 42) BEVERS MM, ALFURAJI M.M., ATKINSON T., BROADBENT P.J., HUTCHINSON J.S.M. (1993) Superovulation in cattle using PMSG followed by PMSG-monoclonal antibodies. – *Anim.Reprod.Sci.*, 33: 99 109.
- 43) PONSART C., GOVIGNON A., ROHOU A., MANCIAUX L., DELCROIX P., GRISOUARD D., HUMBLLOT P. (2001) Effects of the paternal origin of the donor cow on embryo production after superovulation in the Prim'Holstein and Montbeliarde breeds. *Theriogenology*, 55 : 369.
- 44) GOVIGNON A., ROHOU A., PONSARD C., DELCROIX P., HUMBLLOT P. (2000) Sources of variation of embryo production after superovulation in Prim Holstein dairy cows. – In: *Proceedings 16th AETE meeting, Santander, 08-09 September: 158.*
- 45) LUCY M.,C SAVIO J.D BANDINGA L DE LA SOTA RL THATCHERW.W,(1992).Factors that affected ovarian follicular dynamics in cattle.*J.anim.sci.*, 70.3615-3626.
- 46) DUFOUR R., CHOUVET C., ECTORS F., FRANK M., MASSIP A., PARISOT P., ROULET C., BECKERS J.F. (1990) La superovulation chez les bovins par l'emploi de Stimufol. Caractéristiques principales du produit et résultats des essais. – In : *Proceedings 6th AETE meeting, Lyon, 7-8 septembre : 140*
- 47) MAPLETOFT R.J., NASSER L.S., BO G.A., DEL CAMPO M.R. (1992) The effect of LH content in a porcine pituitary extract on superovulatory response to a single subcutaneous injection in beef heifers. In : *Proceedings 12th International Congress on Animal Reproduction, The Hague, : 1 : 237-239*

- 48) BO G.A., HOCKLEY D.K., NASSER L.F., MAPLETOFT R.J. (1994) Superovulatory reponse to a single subcutaneous injection of Folltropin-V in beef cattle. – *Theriogenology*, 42 : 963-97
- 49) LOONEY C.R., BOUTTE B.W., ARCHBALD L.F., GODKE R.A. (1981) Comparison of once daily and twice daily FSH injections for superovulating beef cattle. – *Theriogenology*, 15: 13-22.
- 50) DONALDSON L.E. (1990) 3 x 1 superovulation in cattle. – In: Proceedings 6th AETE meeting, Lyon, 7-8 septembre 1990: 136.
- 51) SATOH et al, (1996) ; YAMAMOTO et al, 1994). DOVGOPOL et al (1995) SATOH H., NUMABE T., TAKADA T., OIKAWA T., KIFUNE A., WATANABE G., TAYA K. (1996) Superovulation in japonaise beef cows using polyvinylpyrrolidone as the véhicule for porcine FSH. – *Theriogenology*, 45: 332.
- 52) DOVGOPOL V., OSTASHKO F., ISSACHENKO V. (1995). Preparation “prolongone” for superovulation in cows by embryo transfer. – In : Proceedings 11th AETE meeting, Hannover, 8-9 septembre 1995 : 166
- 53) ALMEIDA A.P. (1987) Superovulation in cattle: a combined treatment using Synchronate B with either PMSG or FSH. – *Theriogenology*, 27 : 329-335
- 54) ALBERIO R., CABODEVILA J., IOVANNITTI B., TOQUATI S. (1994) Superovulation performed on cyclic cows during progesterone treatment. – In: Proceedings 10th AETE meeting, Lyon, 9-10 September: 142.
- 55) DUFFY P., BAGUISI A., DOBRINSKY J.R., OVERSTROM F.W., ROCHE J.F., BOLAND M.P. (1994) Effect of a progesterone releasing intravaginal device (PRID) on superovulation in heifers not detected in oestrus prior to FSH. – In : Proceedings 10th AETE meeting, Lyon, 9-10 septembre 1994 : 164
- 56) CABODEVILA J., ALBERIO R., IOVANNITTI B., PALMA G. (1994) Superovulatory treatment in anestrous postpartum multiparous beef cows. – In: Proceedings 10th AETE meeting, Lyon, 9-10 septembre 1994: 162.

- 57) SAUMANDE J. (1995) La production d'embryons chez les bovins : quelles voies de recherches pour augmenter l'efficacité des traitements de superovulation – INRA Prod.Anim., 8 (4) : 275-283
- 58) COLLEAU J.J(1993). les biotechnologies de l'embryon bovin : application à la sélection, réalités et enjeux économiques. Cahiers Agriculture., 2, 93-102.
- 59) NIBART.M et THIBIER.M, (1987). le transfert embryonnaire en France .3^{ème}colloque scientifique de l'AETE.Lyon, 1987,27-39.
- 60) BEAL WE (1996). Application of knowledge about corpus luteum functions in control of estrus and ovulation in cattle. Theriogenology, 45, 1399-1411.
- 61) TOUATI K, (1993). Contribution à l'étude de la production et de la cryoconservation d'embryons et demi-embryons dans l'espece bovine 📄 Thèse de doctorat vétérinaire, 106 pages.
- (I) <http://www.google earth.com /.htm> site consulté le 20/08/2011 à 14h31.