



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE



ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA1

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE ET AGRO-ECOLOGIE

Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master

Spécialité : Production et nutrition animale

### THEME

**Effet des anti-inflammatoires non stéroïdiens sur les taux de gestation après l'insémination artificielle chez la vache**

**Présenté par :**

BENHACENE Amina

BERDAOUI Ouissem

**Devant le jury :**

MEFTI H

Professeur

USDB1

Présidente

CHEKIKENE A.H

MAA

USDB1

Examinatrice

BESBACI M

MCA

USDB1

Promoteur

**ANNEE UNIVERSITAIRE 2021/2022**

## Remerciements

*Merci à Allah qui nous a donné la volonté, la santé et la patience d'achever ce travail durant toutes les longues années d'études afin que nous puissions arriver là.*

*Nous remercions notre promoteur : Mr BESBACI qui a proposé le sujet et accepté de le diriger avec beaucoup de patience. Merci*

*Nous adressons nos sincères remerciements, également, à : Mme MEFTI de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance, et Mme CHEKIKENE d'avoir accepté d'examiner et d'évaluer notre travail. Nous exprimons aussi nos vifs remerciements et notre reconnaissance à nos enseignants et surtout ceux de la spécialité « Production Animale », et un chaleureux merci à monsieur BENCHERHALI Mohamed, notre chef d'option.*

## **Dédicaces**

A mon très cher père. Aucun mot ne saurait exprimer tout mon amour et toute ma gratitude. Merci pour ta présence rassurante. Tu as toujours été pour moi la lumière qui me guide dans les moments les plus obscurs. Merci papa.

A ma tendre mère. Je ne trouverai jamais de mots pour t'exprimer mon profond attachement et ma reconnaissance pour l'amour, la tendresse et surtout pour ta présence dans mes moments les plus difficiles, et si j'en suis arrivée là ce n'est que grâce à toi ma maman adorée. Je t'aime très fort.

A mon mari pour son soutien moral et son encouragement, merci d'être toujours présent à mes cotes.

A mes sœurs DHAHBIA, AHLEM et THANINA. Et mes chers frères YUCEF et AMINE.

A ma famille. Cette humble dédicace ne saurait exprimer mon grand respect et ma profonde estime. Que dieu vous protège.

**AMINA**

## **Dédicaces**

Je dédie ce modeste travail : A ceux qui m'ont tout donné sans rien attendre en retour, A ceux qui m'ont encouragée et soutenue : mes parents «ILYES et FOUZIA » tous les mots sont insuffisants pour exprimer ma gratitude, et mon amour.

Que le tout puissant les garde et les protégés.

A mes adorables sœurs «AMINA, NOUR ELHOUDA et AICHA » Merci d'être toujours à mes côtés.

A mon frère, IBRAHIM

A toute ma famille, et à tous mes amis pour leur soutien.

Merci d'être toujours là pour moi.

**OUISSEM**

# Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Résumé

ملخص

INTRODUCTION

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : La mortalité embryonnaire .....	5
1. La mortalité embryonnaire : incidence, importance et facteurs impliqués .....	6
1.1- Définition.....	6
1.2- La ME précoce (ou MEP) .....	6
1.3- La ME tardive (ou MET).....	6
2- Quantification de la mortalité embryonnaire .....	6
3-Incidence et importance.....	8
3.1- Absence de fécondation.....	9
3.2- Mortalité embryonnaire précoce.....	9
3.3- Mortalité embryonnaire tardive .....	11
4- Moment d'apparition.....	12
5- Dégradation de la situation.....	13
6- Facteurs de variation.....	14
6.1- Facteurs maternels.....	16
6.2- Facteurs environnementaux .....	17
6.3- Facteur nutritionnel .....	17
• Alimentation énergétique.....	17
• Impact de la note d'état corporel .....	18
Note d'état corporel, non-fécondation et mortalité embryonnaire précoce.....	18
i. Note d'état corporel et mortalité embryonnaire tardive .....	19
b. Alimentation azotée .....	20
c. Alimentation minérale et vitaminique .....	20
6.4- Facteur climatique.....	21
6.5- Facteur environnement utérin .....	22
Chapitre 02 : Utilisation des anti-inflammatoire non stéroïdiens.....	24
1- Les prostaglandines :.....	25

2-	Utilisation des anti-inflammatoire non stéroïdiens :	25
2.1-	FlunixinMéglumine (FM) :	27
2.2-	Carprofène :	27
2.3-	Méloxicom :	27
2.4-	Acide tolfénamique	28
Chapitre 03 : Autres stratégies pour prévenir les mortalités embryonnaires.		29
1-	Diminution de l'œstrogénémie après l'insémination	30
1.1-	Effet des œstrogènes sur la survie de l'embryon	30
1.2-	Manipulations qui permettent la diminution de l'œstrogénémie	30
1.2.1-	Manipulations mécaniques	30
1.2.2-	Manipulations pharmacologiques	31
1.2.3-	Renforcement du signal embryonnaire	35
2-	Utilisation de l'alimentation grasse	36
3-	Utilisation de la bST	36
4-	Les futures recherches	37
PARTIE EXPERIMENTALE		
Chapitre 01 : Méta-analyse et méta régression		41
1-	Matériel et méthodes	42
1.1-	Recherche bibliographique	42
1.2-	Critères d'inclusion et d'exclusion des études	42
1.3-	Extraction des données et classification des études	42
1.4-	Analyse statistique	43
2-	Résultats	43
2.1-	Résultats des sous-groupes	45
2.1.1-	Résultat global	45
2.1.2-	Analyse de sous-groupes	48
	• Parité	48
	• Molécule	48
	• Synchronisation	48
	• FM dose	48
	• Repeat breeder	48
2.2-	Résultats de la régression	49
3-	Discussion	51
Conclusion		53

Références bibliographiques.....	55
----------------------------------	----

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Fréquence de mortalité embryonnaire précoce chez les vaches laitières. .....	11
Tableau 2 : Taux de fécondation, de survie embryonnaire à plusieurs jours post-insémination chez des génisses.(Diskin & Sreenan, 1980).....	12
Tableau 3:Principales relations entre alimentation et troubles de la reproduction (Enjalbert, 2003).....	20
Tableau 4 : Caractéristiques des fluides utérins de vaches ayant un embryon normal ou anormal.Source ( Wiebold 1986). ....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
Tableau 5 : Mode d'action des AINS .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
Table 6 : Liste des publications, études et principales caractéristiques des protocoles expérimentaux.....	43
Tableau 7 : Statistiques descriptives et résultats de la méta-analyse sur la réussite de l'IA après l'administration des AINS selon les performances de la sous-population (sous-groupe). Chaque ligne représente une méta-analyse différente appliquée à la sous-population.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
Tableau 8 : Résultats de la méta-régression univariée sur la réussite de l'IA après traitement par les AINS selon les performances de la sous-population (sous-groupe). Chaque ligne représente une méta-régression différente appliquée à la sous-population.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>

## Liste des figures

Figure 1: Quantification des échecs de reproduction (sur 100 IA) et leurs évolutions entre 1980 et 2006.(Diskin et al., 2006).....	14
Figure 2: Relation note d'état/ ME (Humblot, 2001).....	19
Figure 3: Relation entre la quantité, la nature des matières azotées et la reproduction. (Enjalbert, 2003).....	21
Figure 4 : Mode d'action des AINS .....	26
Figure 5 : croissance du follicule dominant de la première (■), la deuxième (□) et la troisième (▲) vague folliculaire chez les génisses traitées par l'hCG à J 5 post-oestrus(Diaz et al., 1998). .....	32
Figure 6 : concentrations plasmatiques d'estradiol-17 $\beta$ chez le groupe hCG (■)et le groupe témoin des génisses (▲) (Diaz et al 1998). .....	34
Figure 7 : Diagramme en entonnoir de la taille d'effet du P/ET (affiché sur l'axe horizontal) pour l'ensemble des vaches traitées avec des AINS.L'axe vertical montre l'erreur standard (ES) de chaque étude, avec des études plus importantes (qui ont un SE plus petit) tracées au-dessus de l'axe vertical ; et l'axe horizontal montrant les tailles d'effet observées (logarithme du risque relatif ou estimation) de chaque étude. ....	46
Figure 8: Tracé radial de la taille effective deG/IA pour l'ensemble des vaches traitées avec des AINS. Le graphique montre les erreurs standard (ES) inverses sur l'axe horizontal par rapport aux tailles d'effet observées (logarithme du risque relatif ou estimation) normalisées par leur SE correspondante sur l'axe vertical. Sur le côté droit du tracé, un arc esttirées correspondant aux tailles d'effet observées. Une ligne projetée de (0,0) à un point particulier du tracé sur cet arc indique la valeur de la taille d'effet observée pour ce point. ....	47

## Liste des abréviations

AINS : anti-inflammatoires non stéroïdiens

AA : acide arachidonique

C : carprofene

COX : cyclooxygenase

ES : erreur standard

FM : flunixin meglumine

G : gestation

IA : insémination artificiel

IC : intervalle de confiance

Kg : kilogramme

Mg : milligramme

PG : prostaglandine

PR : proportion

Rb : repeat breeder

RR : risque ration

## **Résumé :**

Plusieurs stratégies adoptées pour améliorer les taux de gestation après l'insémination artificielle (IA) bovine. Ces stratégies consistent à augmenter les chances de survie précoce des embryons grâce à l'utilisation de médicaments tels que les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). L'objectif de notre travail est de comparer l'effet de l'application des AINS les plus fréquemment utilisés chez les bovins (flunixin méglumine [FM], carprofène, méloxicam, aspirine) par une méta-analyse à partir de 28 études issues de 18 articles publiés disponibles en ligne. Cette méta-analyse a permis de ressortir les points forts et les points faibles de l'utilisation des AINS chez la vache après IA. Les AINS permettent d'améliorer les taux de gestation de 5% (RR= 1.05 ; IC=1.002-1.002 ; P=0.036 ), ils améliorent les taux de gestations de 8% (RR=1.08 ; IC=1.012-1.163 ; P=0.02), de 5% (RR=1.05 ; IC=1.003-1.63 ; P= ), de 4% (RR=1.04 ; IC=1.006-1.09 ; P=0.04) chez la vache multipare, synchronisée par les progestagènes, les vaches traitées avec des doses normales de FM et chez les vaches non repeat breeders respectivement. La régression a révélé qu'uniquement les multipares ont présenté une amélioration de la gestation estimée de 8%. Les AINS améliorent la fertilité chez les multipares alors qu'ils restent sans intérêt chez les génisses. Cependant, leur administration pourrait être inutile et n'aboutira pas à l'effet désiré sous certaines circonstances.

Mots-clés : AINS, insémination artificielle, gestation, méta-analyse, vache, bovin.

## **Effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs on gestation rates after artificial insemination in cows**

### **Absract**

Several strategies have been adopted to improve gestation rates after bovine artificial insemination (AI). these strategies involve increasing the chances of early embryo survival through the use of drugs such as non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). The purpose of our work is to compare the effect of applying NSAIDs most commonly used in cattle (flunixineméglumine [FM] ,carprofène, méloxicam, aspirine) with a meta-analysis based on 28 studies from 18 published articles available online. This mata-analysis revealed the strengths and weaknesses of the use of NSAIDs in cows after AI. NSAIDs improve gestation rates by 5% (RR= 1.05; IC=1.002-1.002; P=0.036),They improve gestation rates by 8% (RR=1.08; IC=1.012-1.163; P=0.02), 5% (RR=1.05;IC=1.003-1.63;P= ), 4% (RR=1.04;IC=1.006-1.09; P=0.04) in multipare cows, synchronised by progestogens, cows treated with normal doses of FM and in non repeat breeders respectively. Regressions showed that only the multipares showed an estimated 8% improvement in gestation. NSAIDs improve fertility in multipares while they remain uninteresting in heifers. However, their administration may be unnecessary and will not achieve the desired effect under certain circumstances.

Keywords: NSAIDs, artificial insemination, gestation, meta-analysis, cow, cattle.

## تأثير الأدوية المضادة للالتهابات غير الستيرويدية على معدلات الحمل بعد التلقيح الاصطناعي عند الأبقار

### ملخص

تتضمن هذه الاستراتيجيات زيادة فرص بقاء الأجنة في وقت مبكر من خلال استخدام أدوية مثل الأدوية المضادة للالتهابات غير الستيرويدية. الغرض من عملنا هو مقارنة تأثير تطبيق مضادات الالتهاب غير الستيرويدية الأكثر شيوعاً في الماشية بتحليل تلوي يستند إلى 28 دراسة من 18 مقالة منشورة متاحة على الإنترنت. كشف تحليل ماتا هذا عن نقاط القوة والضعف في استخدام مضادات الالتهاب غير الستيرويدية في الأبقار بعد التلقيح الاصطناعي. تحسن في الأبقار متعددة الأقسام، متزامنة مع البروجستيرون، والأبقار المعالجة بجرعات طبيعية من التضمين الترددي وفي المربين غير المتكررين على التوالي. أظهرت الانحدارات أن الأسعار المتعددة فقط أظهرت تحسناً يقدر بنحو 8% في الحمل. تعمل مضادات الالتهاب غير الستيرويدية على تحسين الخصوبة في الأسعار المتعددة بينما تظل غير مهتمة في العجول. ومع ذلك، قد تكون إدارتهم غير ضرورية ولن تحقق الأثر المنشود في ظل ظروف معينة.

*الكلمات المفتاحية: مضادات الالتهاب غير الستيرويدية، التلقيح الاصطناعي، الحمل، البقر، الماشية*

# **INTRODUCTION**

## INTRODUCTION

L'insémination artificielle chez les vaches, est utilisée dans la pratique vétérinaire depuis de nombreuses décennies. L'efficacité de l'IA dépend de plusieurs conditions, notamment individuelles, environnementales, techniques et technologiques (Hasler, 2014).

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens sont utilisés dans les tentatives d'améliorer le taux de gestation après l'IA.

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens ont des propriétés analgésiques, antipyrétiques et anti-agrégation. Les anti-inflammatoires stéroïdiens ont des propriétés similaires, mais en raison de leurs nombreux effets secondaires chez les animaux ils sont moins utilisés (Lawrence & Sapolsky, 1994). En outre, grâce à leurs effets anti-inflammatoires et immunosuppresseurs, les corticostéroïdes ont également été utilisés dans la reproduction animale (Scenna et al., 2005). L'action principale de la plupart des AINS est l'inhibition de la cyclooxygénase (COX), la première d'une série d'enzymes responsables de la conversion de l'acide arachidonique (AA) en PG. L'acide arachidonique est converti en prostaglandine G2 (PGG2), prostaglandine H2 (PGH2) et, enfin, en prostaglandine F2 (PGF2) par cyclooxygénase-2 (COX-2) et PGF2 synthase (Goff, 2004).

Parmi les inhibiteurs de la COX, candidats potentiels pouvant affecter le PGF2 utérin les AINS qui agissent de façon non sélective par inhibition concurrentielle de l'enzyme COX au moyen des isoformes COX-1 et COX-2, c.-à-d. célécoxib, rofecoxib et valdecoxib, et par inhibition préférentielle de la COX-2 (Márcia et al., 2015).

Il a été démontré que les anti-inflammatoires non stéroïdiens retardent la lutéolyse et favorisent la survie embryonnaire (von Krueger & Heuwieser, 2010). L'administration de flunixinemeglumine (FM) pourrait nuire la production de PGF2 par l'endomètre et potentiellement améliorer les taux de gestation chez les vaches bénéficiaires en prévenant la lutéolyse. À l'ère des techniques de reproduction assistée, couramment utilisées pour la reproduction des animaux de ferme, il pourrait y avoir des applications

supplémentaires pour ces médicaments dans l'amélioration des résultats de mise bas des vaches.

Cette étude offre un aperçu critique de l'utilisation de certains inhibiteurs du PG pour améliorer le taux de gestation chez les vaches après l'IA, en mettant particulièrement l'accent sur les anti-inflammatoires non stéroïdiens.

# **SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

# **CHAPITRE 1 : La mortalité embryonnaire**

# 1. La mortalité embryonnaire : incidence, importance et facteurs impliqués

## 1.1- Définition

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

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

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

## 1.2- La ME précoce (ou MEP)

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

## 1.3- La ME tardive (ou MET)

Consiste en la mort de l'embryon entre le 16<sup>ème</sup> et le 45<sup>ème</sup> jour de gestation.

## 2- Quantification de la mortalité embryonnaire

L'examen de tractus de vaches après abattage, à des temps différents après insémination peut donner des estimations de l'incidence des échecs de gestation (Ball, 1978). Seul l'abattage permet de récupérer dans les premiers jours suivant la fécondation l'ovocyte ou le jeune embryon avec une grande certitude par perfusion de l'oviducte. Cependant, seul un nombre limité d'animaux peut suivre cette démarche en

raison du coût qu'elle demande. Elle est aussi limitée car une seule mesure par animal peut être réalisée (Ball, 1978). La perfusion de l'oviducte est possible par voie chirurgicale, mais la technique est invasive et moins sûre.

La vache étant une espèce mono-ovulante limite énormément l'utilisation de ces techniques expérimentales. L'abattage ou la perfusion de l'oviducte, bien que lourdes, sont les seules méthodes qui permettent de différencier la NF de la MEP lors d'intervention dès le 3ème jour après la mise à la reproduction (collecte respectivement dans l'oviducte d'un ovocyte non fécondé ou d'un embryon). Après le passage de l'embryon dans l'utérus (vers J6 après fécondation), il est possible de récupérer l'embryon pendant sa vie libre par lavage de l'utérus par voie cervicale (jusqu'à J20 pour les équipes expérimentées).

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

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

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

Ce problème peut être résolu quand l'observation des chaleurs est associée à la mesure de progestérone du jour d'insémination jusqu'à 20 jours plus tard (Ball, 1978). Ces mesures fréquentes donnent de meilleurs résultats pour déterminer l'incidence et la période pendant laquelle des pertes d'embryon ont eu lieu. Le dosage de la

progestérone peut être associé à ceux de la PSPB (pregnancy specific protein B) ou la PSP60 (Martal, 1996). Analysé tout d'abord au moment de la mise à la reproduction, le résultat du dosage de la progestérone donne des informations sur la phase du cycle à laquelle se trouve la femelle inséminée, soit en phase folliculaire donc possiblement en chaleurs, la quantité de P4 est inférieure au seuil de détection dans le plasma ou dans le lait, soit en phase lutéale donc non en chaleurs, la quantité de P4 est supérieure au seuil de détection dans le plasma ou dans le lait. Lors de l'analyse à 21-24 jours après l'insémination, un niveau bas de progestérone indique l'absence de gestation.

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

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

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

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

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

### **3- Incidence et importance**

Après insémination, la ME est reconnue comme la cause majeure d'échec de reproduction en élevage (Ayalon, 1978; Dunne *et al.*, 2000; Kummerfeld *et al.*, n.d.). Elle se traduit par un nombre moins important de nouveau-nés, d'une perte en lait (pour les

élevages laitiers), d'un progrès génétique ralenti et d'une perte financière significative de revenu pour l'éleveur laitier (Dunne et al., 2000) et pour l'éleveur de vaches allaitantes (Diskin & Sreenan, 1980). Elle entraîne également des coûts de réforme et de renouvellement anticipés, des charges financières liées aux traitements et aux mesures de prévention, qui ne se limitent pas aux seuls frais vétérinaires mais peuvent aller au-delà : alimentation... (Seegers, 1992). Les auteurs estiment que le taux de fécondation<sup>4</sup> est compris entre 85 et 95 %, que ce soit chez des vaches laitières ou allaitantes, et que l'échec de fécondation survient dans environ 10 % des inséminations. Lorsque les problèmes associés à l'ovulation ou au transport de l'ovocyte dans l'utérus (anovulation, adhésions...) sont comptabilisés, de 75 à 78 % des IA aboutissent à une gestation. Ainsi le taux de gestation suite à une IA devrait atteindre idéalement 75-80 % (Inskeep & Dailey, 2005). Pourtant le taux de gestation est d'environ 55 % (Diskin & Sreenan, 1980).

### **3.1- Absence de fécondation**

L'insémination des vaches au mauvais moment concerne en moyenne 4 à 5 % des vaches laitières mises à la reproduction mais cette fréquence est très variable entre élevages (Freret et al., 2006).

### **3.2- Mortalité embryonnaire précoce**

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

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

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

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

**Tableau 1 : Fréquence de mortalité embryonnaire précoce chez les vaches laitières.**

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

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

### 3.3- Mortalité embryonnaire tardive

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

les jours 28 et 42 de gestation. Ces derniers rapportent que Smith et Stevenson (1995) ont montré que la MET s'élevait à 16 %, alors que Vasconcelos *et al.* (1997) ont évalué les pertes de conceptus entre le 28ème et le 98ème jour de gestation à 20 %. L'incidence de ces pertes est néanmoins élevée. Les pertes tardives contribuent davantage à la dégradation de la fécondité que les pertes précoces du fait du retard pris pour la remise à la reproduction et du risque de réforme encouru.

#### 4- Moment d'apparition

Il a été suggéré que la plupart de ces pertes avaient lieu avant J15 (Ayalon, 1978), cité par (Diskin & Sreenan, 1980).

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

Tableau 2 : Taux de fécondation, de survie embryonnaire à plusieurs jours post-insémination chez des génisses (Diskin & Sreenan, 1980).

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

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

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

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

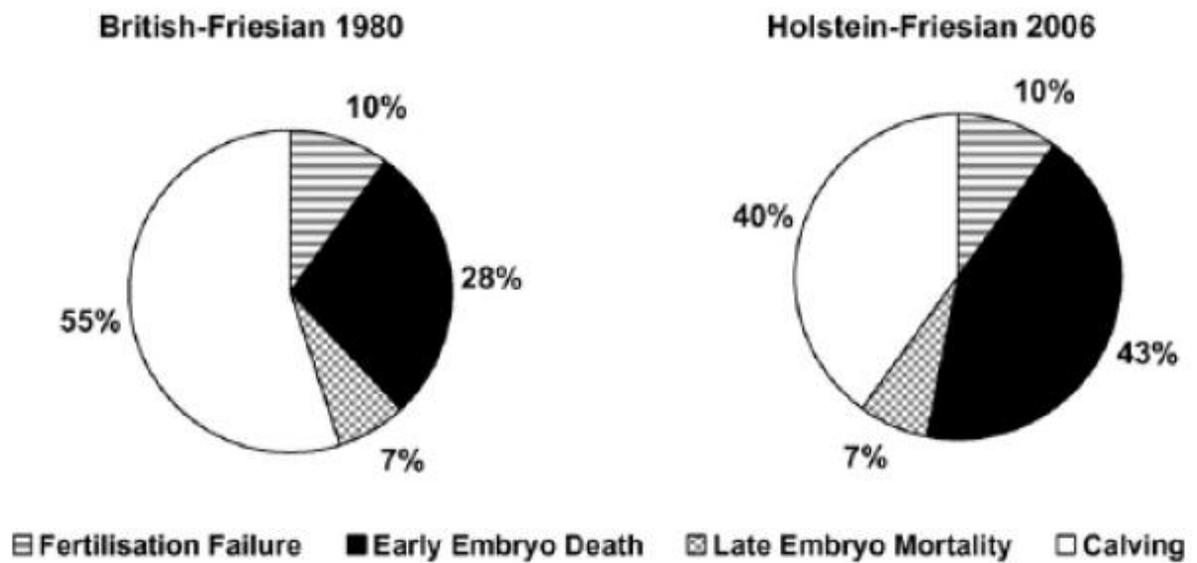
Si les données des deux expériences sont rassemblées, le taux de fécondation est le même pour les deux essais, et la proportion globale d'ovocyte fécondé à J4 et J8 est de 90 % (64/71). Cette étude indique que les échecs de fécondation comptent pour 10 % des échecs de reproduction. Le taux de survie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

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

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

## **5- Dégradation de la situation**

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



**Figure 1:** Quantification des échecs de reproduction (sur 100 IA) et leurs évolutions entre 1980 et 2006. (Diskin et al., 2006).

## 6- Facteurs de variation

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

- Un facteur d'ordre génétique
- Une stéroïdogénèse ovarienne inappropriée, un signal embryonnaire insuffisant pour le maintien du CJ, ou un stress hormonal affectant l'axe hypothalamo-hypophysaire ou la fonction ovarienne (facteurs maternels).

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

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

### 6.1- Facteurs maternels

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

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

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

caractéristique des multipares, avec un pic précoce et très élevé associé à des TB faibles.

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

De nombreuses études ont mis en évidence l'association entre une production laitière élevée et un faible taux de conception (Beam & Butler, 1998). Ces auteurs suggèrent que les effets de cette production sur la fertilité s'exercent vraisemblablement sur l'embryon à son stade précoce, au cours de ses 2 premières semaines de vie. Une fois qu'il est installé, la survie de l'embryon ne semble pas affectée par le niveau de production laitière (Silke *et al.*, 2002).

## 6.2- Facteurs environnementaux

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

## 6.3- Facteur nutritionnel

- Alimentation énergétique

Le statut métabolique de la vache, s'exprimant par son état d'embonpoint, affecte la survie embryonnaire. En effet, une balance énergétique négative

entraînerait une concentration en progestérone plus faible et donc augmenterait les pertes embryonnaires (Hanzen et al., 1999a). D'après Ayalon (1978), une sous-alimentation diminue les concentrations plasmatiques en progestérone ainsi que la proportion de génisses avec un ovocyte fécondé d'aspect normal. Cependant, la relation existante entre l'énergie contenue dans l'alimentation et la mortalité embryonnaire ne s'expliquerait pas seulement par le taux de progestérone.

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

- Impact de la note d'état corporel

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

#### *Note d'état corporel, non-fécondation et mortalité embryonnaire précoce*

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

Par ailleurs, Pinto et al. (2000) mettent en évidence un taux de gestation plus élevé dans la classe de vaches présentant un taux protéique (TP) supérieur à 30g/kg par rapport aux autres femelles (47,1% et 41,3% respectivement). Ceci est lié à une

diminution des taux de NF-MEP pour les animaux de cette classe (28,6% et 32,8% pour la classe TP bas).

#### i.Note d'état corporelet mortalité embryonnaire tardive

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

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

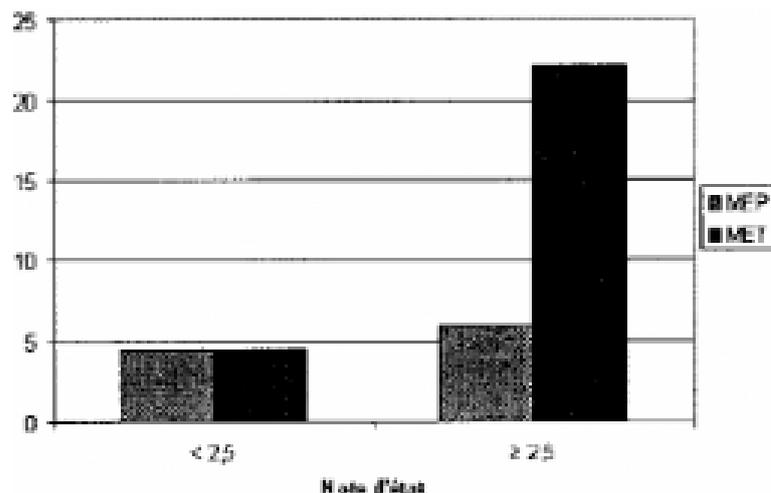


Figure 2: Relation note d'état/ ME (Humblot, 2001).

### **b. Alimentation azotée**

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

### **c. Alimentation minérale et vitaminique**

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

**Tableau 3: Principales relations entre alimentation et troubles de la reproduction (Enjalbert, 2003)**

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

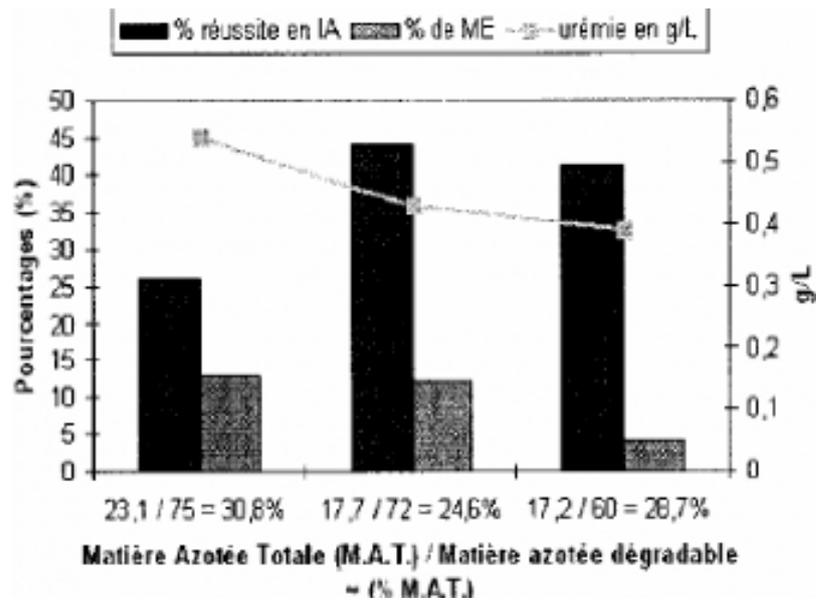


Figure 3: Relation entre la quantité, la nature des matières azotées et la reproduction. (Enjalbert, 2003)

#### 6.4- Facteur climatique

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

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

### 6.5- Facteur environnement utérin

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

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

Lamothe et Guay (1970), cités par Ayalon (1978), ont comparé la composition de sécrétions endométriales de vaches (cyclées) normales et RB. Les RB ont des concentrations utérines de  $\text{Na}^+$ , P, glucose et de protéines totales plus faibles que les vaches normales, alors que celles de  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  et de  $\text{Mg}^{2+}$  sont plus fortes chez les vaches RB.

Ayalon (1978) a examiné les niveaux de protéines totales, et de quelques ions dans les fluides utérins de vaches fertiles et infertiles, durant la période 6-8 jours post-insémination, afin d'établir s'il existe ou non des corrélations entre des changements dans la concentration de ces constituants et la ME (annexe 1). Les prélèvements ont été réalisés sur des animaux après abattage. Les niveaux de protéines totales sont plus importants dans les fluides (oviducte et utérus) des vaches ne présentant pas de troubles de fertilité, sans regarder si un embryon normal ou non est présent. Les vaches dont l'embryon est anormal présentent des concentrations en  $\text{K}^+$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , P et  $\text{Ca}^{2+}$  plus importantes. La hausse pour l'ensemble des ions suggérerait une cause commune pour ce changement. Le mécanisme sous-

jaçant n'est pas spécifique d'une zone anatomique, puisque les changements de concentrations se font aussi bien au niveau de l'utérus que de l'oviducte.

Les concentrations de glucose, protéines totales,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  et de P sont plus élevées dans les fluides utérins des vaches ayant un embryon anormal par rapport à celles dont l'embryon est normal. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Ayalon (1978), notamment pour le calcium, le phosphore, le potassium et le zinc.

Tableau 4 : Caractéristiques des fluides utérins de vaches ayant un embryon normal ou anormal. Source (Wiebold 1986).

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

Values are mean ± s.e.m.

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

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

## **Chapitre 02 : Utilisation des anti-inflammatoire non stéroïdiens**

## **1- Les prostaglandines :**

Les prostaglandines sont des autacoïdes lipidiques dérivés de l'acide gras essentiel arachidonique. Elles maintiennent des mécanismes homéostatiques et pathogènes. Prostaglandines et thromboxanes A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), prostanoïdes collectivement appelés, sont formés lorsque l'acide arachidonique (AA), un acide gras insaturé à 20 carbones, est libéré de la membrane plasmique par des phospholipases (PLA) et métabolisé par les actions séquentielles de la prostaglandine G/H synthase, ou cyclooxygénase (COX), et les synthases respectives (Ricciotti & FitzGerald, 2011).

## **2- Utilisation des anti-inflammatoire non stéroïdiens :**

Les médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens sont administrés de façon préliminaire pour la gestion de la douleur. Les AINS produisent des analgésiques principalement en inhibant la COX, diminuant ainsi la production de prostaglandines qui signalent l'inflammation et la douleur ainsi que des fonctions physiologiques intermédiaires telles que l'agrégation plaquettaire, la protection gastrique, et l'équilibre électrolytique dans le rein. La présence d'au moins 2 isoformes COX peut expliquer la variabilité de l'efficacité et de la toxicité des AINS au sein et entre les espèces (Bergh & Budsberg, 2005).

Tableau 5 : Mode d'action des AINS

Classe	Ingrédient actif	Effet
Agent spécifique Cox-1	Aspirine à faible dose	Il inhibe la COX-1 sans faire de COX-2 inhibition.
COX Agents non spécifiques	Diclofenac, Ketorolak, Asetaminofen, Flunixinmeglumine.	Il inhibe les deux enzymes
Agents sélectifs COX-2	Méloxicam, Nabumétane, Nimésulide, Carprofren.	Avec des doses thérapeutiques cliniques chez l'homme et l'animal, tout en inhibant la COX-2, à doses croissantes, ils provoquer une inhibition de la COX-1
Agents spécifiques COX-2	Célécoxib, Rofécoxib.	Ce sont des agents qui ne provoquent pas d'inhibition de la COX-1 même aux doses cliniques thérapeutiques maximales

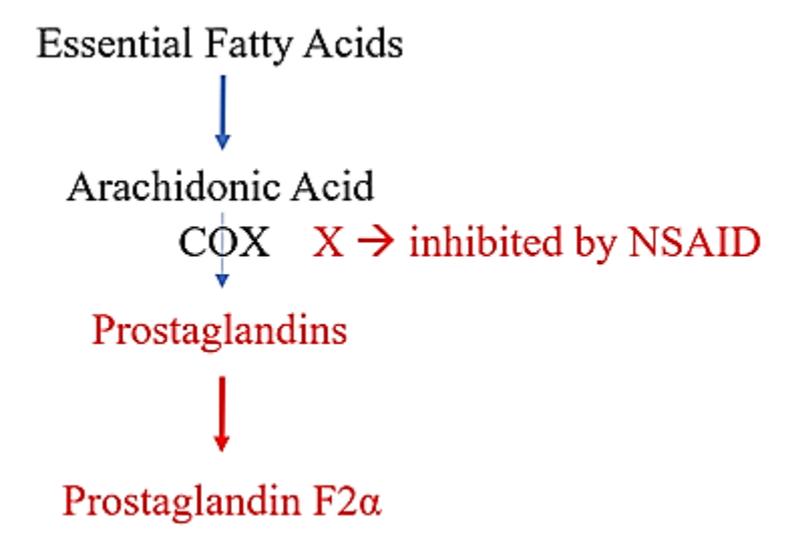


Figure 4 : Mode d'action des AINS

### **2.1- FlunixinMéglumine (FM) :**

La flunixinemeglumine est une dérivation de l'acide nicotinique et est également un inhibiteur non sélectif du COX. C'est un AINS puissant et utilisé pour le traitement de l'inflammation, de la douleur et de la fièvre sous contrôle. Surtout, il est utilisé pour contrôler les douleurs viscérales. En plus de son effet analgésique, il a des effets antiendotoxiques et antipyrétiques. La demi-vie de la flunixinemeglumine se situe entre 8 et 12 heures chez les vaches, mais elle est plus longue chez les autres animaux (Divers, 2008).

La flunixinemeglumine est utilisée chez les vaches par voie intramusculaire, intraveineuse et per os. Lorsqu'elle est administrée par voie orale, la dose est de 1 mg/kg. La dose de 1,1 à 2,2 mg/kg est administrée par voie intraveineuse. La méthode la plus utilisée est l'injection intramusculaire et la dose est de 1,1 mg/kg. Cette dose de flunixinemeglumine est administrée une fois par jour ou deux fois en divisant la dose. La flunixinemeglumine peut être administrée par intervalles de 6 à 8 heures à des doses de 0,25 à 0,50 mg/kg. La durée moyenne du traitement est de trois jours et il peut être donné 5 jours maximum (Radostits et al., 2010).

### **2.2- Carprofène :**

Le carprofène est un AINS dérivé de l'acide propionique et un inhibiteur sélectif de la COX-2. Les médicaments de ce groupe prennent le suffixe de fen (p. ex., ibuprofène, kétoprofène). Le carprofène est le médicament le plus sûr dans ce groupe parce que son inhibition périphérique de prostaglandine est faible. Il s'agit d'un AINS efficace de longue durée avec un temps d'effet clinique de 12 heures. Carprofène chez les vaches administrées par voie sous-cutanée, en dose de 1,4 mg/kg au poids corporel (Radostits et al., 2010).

### **2.3- Méloxicam :**

Le meloxicam est un inhibiteur sélectif de la COX-2. C'est un AINS du groupe oxicam. Il a des effets anti-inflammatoires, analgésiques et antipyrétiques. La demi-vie est de 13 heures chez les vaches. Il est utilisé chez les vaches par voie intramusculaire, intraveineuse et sous-cutanée en doses uniques de 0,5 mg/kg (Radostits et al., 2010)

#### **2.4- Acide tolfénamique**

L'acide tolfénamique (AT) est un anti-inflammatoire non stéroïdien qui appartient au groupe des fénamates. Pour l'inflammation associée à une maladie respiratoire, le dosage recommandé est de 2 mg/kg par injection intramusculaire dans la région du cou. Le traitement peut être répété une fois après 48 heures (Radostits et al., 2010).

# **Chapitre 03 : Autres stratégies pour prévenir les mortalités embryonnaires.**

## 1- Diminution de l'œstrogénémie après l'insémination

### 1.1- Effet des œstrogènes sur la survie de l'embryon.

Inskeep (2004) a indiqué que les œstrogènes sécrétés par un grand follicule entre le 14<sup>ème</sup> et le 17<sup>ème</sup> jour de gestation peuvent avoir un effet néfaste sur la survie de l'embryon.

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

### 1.2- Manipulations qui permettent la diminution de l'œstrogénémie

#### 1.2.1- Manipulations mécaniques

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

Bisinotto *et al.* (2006) ont ponctionné les follicules supérieurs à 6mm et ont fait des prélèvements sanguins chaque jour dès le 13<sup>ème</sup> jour jusqu'au 25<sup>ème</sup> jour du cycle oestral chez des vaches *Bos taurus indicus* croisées. Leur hypothèse été que la diminution de la progestéronémie après lutéolyse est retardée chez le groupe des vaches dont les follicules étaient ponctionnés par rapport au groupe témoin (pas de ponction). La ponction a diminué la taille moyenne de plus gros follicule avant que la lutéolyse aura lieu (j 15 à j 19 du cycle ;  $8.5 \pm 0.2$  vs.  $6.4 \pm 0.2$  mm pour le groupe témoin et le groupe des vaches ponctionnées, respectivement ;  $P < 0.01$ ). La ponction a aussi diminué la concentration plasmatique d'oestradiol entre le 18<sup>ème</sup> et le 20<sup>ème</sup> jour du cycle ( $4.3 \pm 0.72$  vs  $2.95 \pm 0.72$ . pg/ml mm pour le groupe témoin et le groupe des vaches ponctionnées, respectivement ;  $P < 0.01$ ). Mais le jour de la

lutéolyse reste similaire pour les 2 groupes ( $19.6 \pm 0.4$  jour du cycle). Une autre étude était réalisée sur des génisses de race Holstein

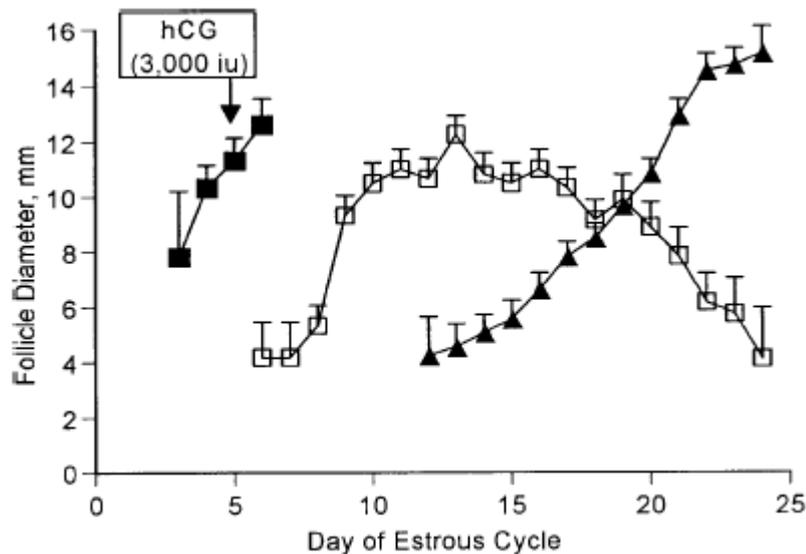
Araujo *et al.* (2008) ont ponctionné les follicules supérieurs à 4mm le 9eme jour du cycle (groupe témoin) ou chaque jour dès le 9eme jour jusqu'au 21eme jour du cycle (groupe traité). La concentration plasmatique d'oestradiol a augmenté à partir du 16eme jour du cycle chez le groupe témoin et à partir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

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

### **1.2.2- Manipulations pharmacologiques**

Les follicules et les vagues folliculaires peuvent être manipulés par des approches pharmacologiques (*cf.fig 21*). Ainsi, on peut profiter d'une telle approche visant à réduire le temps qu'il faut pour la reconnaissance maternelle de conceptus en présence d'un follicule qui secrète des oestrogènes (Binelli et al.2009). Machado *et al.* (2008) ont injecté 3000UI d'hCG le 5eme jour du cycle et 5 mg estradiol-17 $\beta$  le 12eme jour a des vaches Nellorienne (*Bos taurus indicus*).Diaz et al., (1998) en remarqué une baisse de la concentration plasmatique en estradiol-17 $\beta$  entre le

groupe traité à l'hCG et le groupe témoin mais cette différence n'était pas significative ( $P > 0.10$ ).



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

En accord avec Bó *et al.* (1995), le traitement par l'oestradiol a stimulé l'émergence d'une nouvelle vague de croissance folliculaire environ 4 jours plus tard. En conséquence, les follicules dominants n'ont pas été observés dans les ovaires jusqu'au jour de 19,4 pour les animaux recevant l'hCG et l'oestradiol vs 16,6 jours pour les animaux de groupe témoin. En dépit de ce fait, le traitement par l'oestradiol a anticipé la lutéolyse en moyenne d'un jour et demi par rapport au groupe témoin. Il est prévu que la lutéolyse est retardée à cause de l'absence de follicule dominant durant la période péri-lutéolyse (j 15 à j 19 du cycle). Il est possible que l'injection d'oestradiol le 12<sup>ème</sup> jour du cycle conduit à la lutéolyse prématurée. Après ; Bergamaschi *et al.* (2006) ont injecté la GnRH à j5 et l'hCG à j13 du cycle oestral après synchronisation des vaches, l'objectif de l'injection de la GnRH était de déclencher l'ovulation du follicule dominant de la première vague et la formation d'un corps jaune accessoire. En outre l'émergence d'une seconde vague folliculaire par conséquent le follicule dominant de la deuxième vague folliculaire atteint une taille suffisante le 13<sup>ème</sup> jour du cycle pour répondre à l'injection d'hCG. L'injection d'hCG

provoque l'ovulation du follicule dominant de la deuxième vague et induit un second corps jaune accessoires ainsi que l'émergence de la troisième vague de développement folliculaire (Diaz et al 1998). Le but était de lutter contre la lutéolyse en présence d'un follicule dominant qui secrète une quantité importante d'oestrogène. Dans un milieu a concentration faible en oestrogene les stimulis de la lutéolyse devraient être faibles. En effet ; les animaux recevant le traitement combiné GnRH-hCG ont une phase prolongation de 6 jours de la phase lutéale par rapport au groupe d'animaux témoin (19 vs. 25 jours). Indiquant que la lutéolyse a été retardé chez ces animaux, en plus les pertes embryonnaires entre le 30eme et le 60eme jour de gestation étaient réduites chez les animaux traités par rapport aux animaux non traités ; respectivement 6.2 vs. 17.6%(Machado et al., 2006).

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

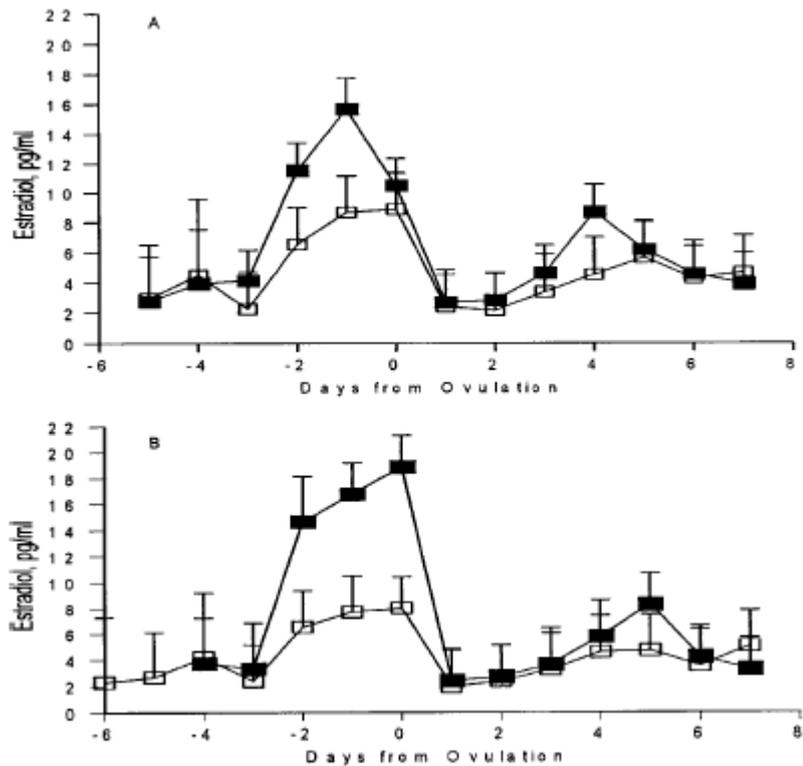


Figure 6 : concentrations plasmatiques d'estradiol-17β chez le groupe hCG (■) et le groupe témoin des génisses (▲) (Diaz et al 1998).

(A) génisse avec deux vagues folliculaires

(B) génisse avec trois vagues folliculaires

Quel est l'intérêt de diminuer l'œstrogénémie

La synthèse des PGF peut être achevée par la maîtrise de la synthèse et la réactivité de l'oestradiol. Les connaissances actuelles de la dynamique, la régulation endocrine et les manipulations du développement folliculaire restent les principales conditions pour gérer le temps et l'ampleur de la production de l'oestradiol par le follicule dominant. Comme mentionné ci-dessus, ces principes peuvent être appliqués comme un moyen de contrôler la production de PGF et par conséquent, le contrôle de la lutéolyse (Binelli et al.2009).

Cependant, le succès de ces approches reste partiel. Si on peut contrôler la réaction de l'utérus aux œstrogènes, il est possible que la production des PGF au cours la période péri-lutéolyse pourrait être manipulées avec plus de précision pour la réduire encore. Cependant, l'acquisition de la sensibilité utérine à l'estradiol est un

processus mal compris. Il est connu que sensibilité utérine à l'œstradiol augmente considérablement vers la fin de la phase lutéale (Bisinotto et al., 2006). Dans chaque étude, les follicules ont été maintenus à des dimensions semblables à travers les ponctions fréquentes et ainsi à leur capacité à produire l'œstradiol. Au cours du cycle, la concentration plasmatique d'œstradiol acquies la capacité d'induire la sécrétion des PGF et la lutéolyse, probablement due à une sensibilité accrue des l'utérus au œstrogènes. Dans l'endomètre de la brebis, la diminution des récepteurs de la progestérone au milieu du cycle permet l'expression des récepteurs de l'œstrogène, à son tour active les récepteurs ocytotiques qui sont la clé de régulation de la libération pulsatile des PGF et la lutéolyse (McCracken et al., 1984). Une meilleure compréhension des mécanismes endocriniens, cellulaires et moléculaires de la régulation de la dynamique de l'expression des récepteurs d'œstrogène dans l'utérus des vaches mérites des recherches plus approfondies (Binelli et al.2009).

### **1.2.3- Renforcement du signal embryonnaire**

Des espoirs thérapeutiques sont fondés sur l'utilisation de l'INFr pour diminuer la mortalité embryonnaire lors de retard dans le développement du conceptus. L'administration de l'INFr recombinant par voie intra utérine permet de maintenir la sécrétion lutéale de progestérone pendant 8 à 10 jours supplémentaires chez des caches cyclées. Des expériences conduites sur des souris mais pas reproduites sur des vaches ont montré que l'administration de l'INFr au moment de l'implantation diminue la mortalité embryonnaire (Cocchiara 81 cité par 71.)

Barros et al.(2016) ont administré de l'INF $\alpha$  chez des vaches après insémination dans le but de mimer l'effet de l'INFr mais au lieu d'améliorer la fertilité cela a entraîné une légère réduction du taux de gestation. En plus les vaches ayant reçu cet INF $\alpha$  ont présenté une hyperthermie aigue, des perturbations de leur sécrétion de LH et une diminution à court terme des concentrations en progestérone circulante.

## 2- Utilisation de l'alimentation grasse.

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

La diminution des substrats pour la synthèse de PGF devrait se traduire par un environnement utérin contribuant moins à la lutéolyse, qui devrait aboutir à des taux plus élevés de la survie embryonnaires. Un résumé des effets des acides gras alimentaires sur la fertilité des bovins déclarés par Santos et al. (2008a) ont indiqué que les taux de gestation et les pertes embryonnaires varient dans les différentes études en fonction des conditions expérimentales et le type de la matière grasse incluse dans l'alimentation. Par exemple ; le rapport avec des groupes de vaches nourries avec des acides gras saturés, les pertes embryonnaires ont diminué entre 53 et 100% dans 3 études et il n'est pas affecté dans 2 autres études chez les vaches qui ont reçu des régimes enrichis en acides gras n-3 (Binelli et al. 2009).

## 3- Utilisation de la bST

Les stratégies visant à stimuler la croissance de concepts devraient se traduire par des taux de survie embryonnaire plus élevée. La sécrétion de l'IFN est positivement associée à la taille de conceptus (GE et al., 1998), par conséquent, l'embryon ira mieux si la synthèse des PGF et la lutéolyse sont inhibées. Une façon possible de stimuler la croissance de conceptus se fait par l'administration de la bST. Par exemple ; in vitro l'administration de bST recombinante augmente le taux de fertilisation, accélère le développement embryonnaire et améliore la qualité des embryons (Moreira et al., 2002). Dans une subséquente étude, le placebo et la bST ont été injectés à des vaches superovulées et à des vaches receveuses d'embryons

(Moreira et al., 2002a). Le traitement à la bST a augmenté la proportion d'embryons transférables, le nombre de blastocystes présents par rinçage et les taux de gestation chez les receveuses traités à la bST. En conclusion ; l'effet bénéfique de la bST était sur l'embryon et la mère en même temps. Dans une subséquente étude ; des vaches laitières recevant des injections de la bST ou ont servi comme des témoins, ces vaches étaient abattues le 17eme jour post-insémination (Bilby et al., 2006). le traitement à la bST a augmenté la longueur de conceptus (45 vs. 34 cm) et la concentration utérine en IFN (9.4 vs. 5.3µg) par apport au groupe témoin. Des résultats cohérents ont été signalés par Santos et al. (2004a), qui ont montré une diminution des pertes embryonnaires chez les vaches traitées à la bST.

#### 4- Les futures recherches

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

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

Cependant, de nouveaux outils de diagnostic sont en développement, tels que les découvertes passionnantes de(Gifford et al., 2007). Dans cette étude, l'expression des gènes interférons stimulés ont été détecté seulement dans les leucocytes des vaches gestantes. L'association des l'expression des gènes stimulés-conceptus dans l'expression des leucocytes et le statut de l'embryon pousse de plus en plus l'étude qui peut fournir un outil unique pour quantifier la mortalité embryonnaire précoce. Le diagnostique échographique de la gestation est utilisé est devenu un diagnostique de routine. Cependant, cette technique n'a atteint que 100% de sensibilité que le 26eme jour de gestation pour les génisses et le 29eme jour pour les vaches (Romano et al., 2006), et ces jours dépassent la date de la période de la

reconnaissance maternelle de la gestation. Alors cette méthode n'est pas fiable pour le diagnostic des mortalités embryonnaires précoces. En conclusion, les études qui montrent les pertes embryonnaires précoces sont rares (durant les 3 premières semaines de gestation) (Diskin et Morris, 2008), dans les différentes études la gestation était interrompue pour l'inspection visuelle de conceptus. La détermination précise des facteurs de responsable de la fréquence des pertes d'embryons est essentielle pour la découverte et l'élaboration de stratégies plus précises pour une meilleure survie de conceptus.

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

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

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

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

# **PARTIE EXPERIMENTALE**

# **Chapitre 01 : Méta-analyse et méta régression**

## **1-Matériel et méthodes**

### **1.1-Recherche bibliographique**

Des publications comparant des vaches traitées par les AINS à des vaches témoins non traitées ont été sélectionnées dans la littérature de langue anglaise jusqu'en 2022. La recherche documentaire a été effectuée dans PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), Science Direct (<http://www.sciencedirect.com>), et Google Scholar (<http://scholar.google.com>).

Les mots clés utilisés séparément ou dans différentes combinaisons pour la recherche étaient cow (vache), Non-steroidal anti-inflammatory (anti-inflammatoires non stéroïdiens), bétail (cattle), insémination artificielle (Artificial insemination), embryo (embryon), mortality (mortalité), loss (perte), fertility (fertilité), gestation et taux (rates).

Toutes les publications citées en référence par au moins une des publications identifiées à l'étape précédente ont également été incluses. Les documents en double ont été exclus, et une présélection a été effectuée pour déterminer si le nombre final d'articles était admissible à une méta-analyse.

### **1.2- Critères d'inclusion et d'exclusion des études**

Les documents retenus pour l'analyse avaient (1) présentés les taux G/IA, (2) le groupe traité a été comparé à un groupe témoin (3) un traitement avec AINS est réalisé après IA. (4) dans toutes les études les vaches ont été inséminées artificiellement. Selon ces critères, 18 articles (28 essais) ont été inclus. Les résultats collectifs ont représenté 6335 vaches : 3129 vaches traitées à AINS et 3206 vaches témoins non traitées.

Tous ces documents ont été publiés entre 2003 et 2021, et il n'y avait aucune restriction sur les données de publication. De même, aucune restriction n'a été imposée au pays où l'étude a été menée.

### **1.3- Extraction des données et classification des études**

Les données extraites des publications comprenaient le nombre de vaches traitées et non traitées (témoins), G/IA, la dose de traitement, la molécule de AINS, la parité

(génisses vierges et vaches mises bas), l'utilisation d'un protocole de synchronisation.

#### **1.4- Analyse statistique**

Toute la méta-analyse a été réalisée à l'aide du package metafor (Viechtbauer, 2010) de R via RStudio (Version 1.1.383 ; Rstudio, Inc.). Des analyses de sous-groupes ont été réutilisées pour déterminer s'il existait une différence statistique au sein des sous-groupes. Un minimum de deux études dans chaque catégorie des différents facteurs de confusion devait être inclus dans la méta-analyse des sous-groupes. Des modèles à effets fix ont été utilisés pour estimer la proportion (PR) et leur IC à 95 %. Le biais de publication a été évalué visuellement à l'aide de graphiques en entonnoir et du test d'Egger (Egger et al., 1997). Un graphique en entonnoir est un diagramme de dispersion utilisé pour détecter l'hétérogénéité systématique en présentant la distribution de la taille de l'effet (PR) par rapport à l'erreur standard (ES).

## **2- Résultats**

Nous avons réussi à compiler 18 articles (Tableaux 1), faisant état de 28 thérapies par les AINS appliqués à un total de 6335 vaches traitées, ces études ont ensuite été analysées.

**Table 6 : Liste des publications, études et principales caractéristiques des protocoles expérimentaux.**

Référence	Nombre d'étude	G/IA Vache traitée %	Vache non traitée G/IA	AINS	Dose	Parité	Type de synchronisation des	Repeat breeder
Abay et al., (2021)	1	168/211 (79.62%)	199	Carprofène	1.4 mg/kg	Multipare	Progestagene	non
Singh et al., (2021)	1	6/8 (75%)	8	<b>Tolfenamicacid</b>	4 mg/kg	Multipare	PGF2α	oui
Spencer et al., (2020)	1	133/277 (48.01%)	279	aspirin	187.2g	Multipare	progestagene	oui
Barkhori-Mehni et al.,( 2018)	1	7/20 (35%)	20	Flunixinmeglumine	0.625g	Multipare	œstrus naturelle	non
Kumar et al., (2015)	1	8/126 (6.66%)	12	Flunixinemeglumine	/	Multipare	PGF2α	/
Rossetti et al., (2011)	4	284/488 (58%)	124	Flunixinemeglumine	2.2mg/kg	Multipare	Progestagene	non
Ekrami et al., (2011)	2	15/80 (18%)	40	Flunixinemeglumine	1.1mg/kg	Multipare	PGF2α	non
Erdem & Guzeloglu, (2010)	2	9/37 (24%)	48	meloxicam	2.5mg/kg	Primipare	PGF2α / Progestagene	/
Rabaglino et al (2010)	1	96/158 (60.75%)	165	Flunixinemeglumine	0.5mg/kg	Primipare	Progestagene	non
von Krueger & Heuwieser, (2010)	4	264/548 (48%)	530	Flunixinemegluminecarprofene	2.2mg/kg 1.4mg/kg	Multipare Primipare	PGF2α	non
Rajkumar et al., (2010)	1	8/15 (53.33%)	15	meloxicam	/	Multipare	œstrus naturelle	/
Amiridis et al., (2009)	1	9/31 29.03%	107	Meloxicam	0.5mg/kg	Multipare	œstrus naturelle	oui
Pinto et al., (2008)	1	11/14 (78.57%)	15	Flunixinemeglumine	1.1mg/kg	Multipare	progestagene	non
Merangin et al.,( 2018)	1	5/10 (5%)	10	Flunixinemeglumine	1.1mg/kg	Primipare	PGF2α	oui
Guzeloglu et al.,( 2007)	1	20/26 (76.92%)	26	Flunixinemeglumine	1.1mg/kg	Primipare	PGF2α	No
M. L. Merrill et al.,( 2007)	2	137/192 (71.35%)	194	Flunixinemeglumine	1.1mg/kg	Multipare	progestagene	Non
Merrill , (2004)	1	27/32 (84.37%)	32	Flunixinemeglumine	1.1mg/kg	Multipare	progestagene	non

## 2.1- Résultats des sous-groupes

Tableau 7 résume tous les résultats des sous-groupes analysés.

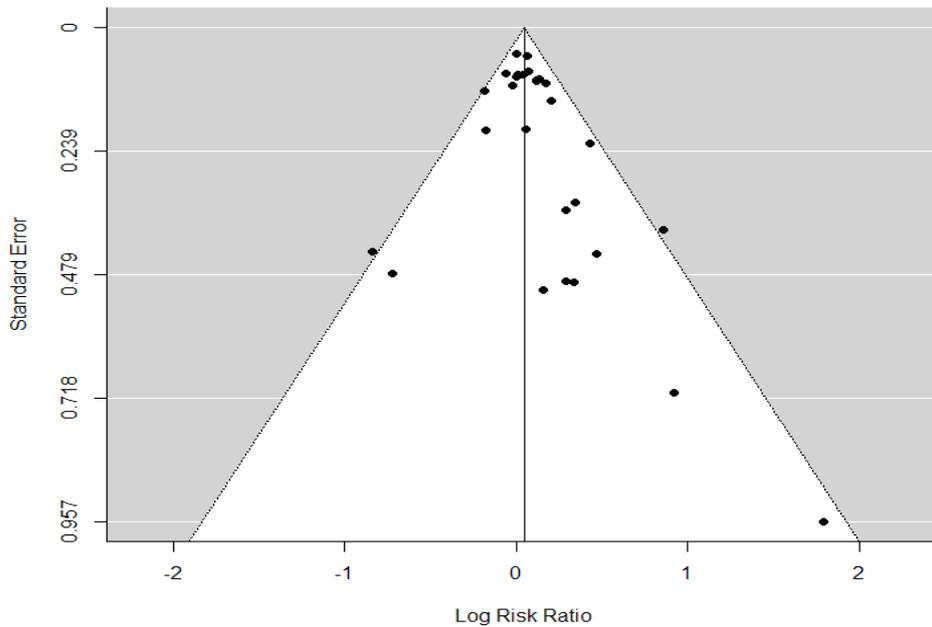
*Tableau 7 : Statistiques descriptives et résultats de la méta-analyse sur la réussite de l'IA après l'administration des AINS selon les performances de la sous-population (sous-groupe). Chaque ligne représente une méta-analyse différente appliquée à la sous-population.*

Classe	Sous-groupe	AINS Réussite	Témoin réussite	Estimate (ES)	RR	IC 95%	P<0.05
Global	///////	1711/3129 (54.68%)	1658/3206 (51.71%)	0.046 (0.022)	1.047	1.002- 1.093	0.036
Parité	Vache	1039/1933 (53.75%)	976/2003 (48.72%)	0.077	1.080	1.022- 1.141	0.0057
	Génisse	672/1196 (56.18%)	682/1203 (56.69%)	-0.0052	0.99	0.927- 1.067	0.8841
Molécule AINS	FlunixinMeglumine	1314/2356 (55.77%)	1261/2364 (53.34%)	0.0477 (0.0257)	1.048	1.002- 1.103	0.0639
	Carprofen	232/405 (57.28%)	215/385 (55.84%)	0.0459 (0.0502)	1.046	0.948- 1.155	0.3607
	Meloxicam	26/83 (31.32%)	52/170 (30.58%)	-0.0914 (0.205)	0.912	0.609- 1.366	0.6571
Synchronisation	Progestagène	1364/2359 (57.82%)	1314/2379 (55.23%)	0.0508 (0.024)	1.052	1.003- 1.103	0.035
	Oestrus naturelle	24/66 (36.36%)	23/142 (22.53%)	0.3792 (0.235)	1.461	0.920- 2.318	0.107
	PGF2α	269/558 (48.20%)	269/540 (49.81%)	-0.0311 (0.058)	0.969	0.863- 1.087	0.59
	GPG	54/146 (36.98%)	43/145 (29.65%)	0.2405 (0.153)	1.165	0.941- 1.718	0.117
FM dose	A (normale)	719/1324 (54.30%)	726/1327 (54.70)	0.0820 (0.035)	1.085	1.012- 1.163	0.020
	B (doublée)	484/842 (57.48%)	485/840 (57.73%)	0.0017 (0.041)	1.001	0.922- 1.087	0.968
Repeat breeder	Oui	153/326 (46.93%)	154/404 (38.11%)	0.0845 (0.085)	1.088	0.919- 1.287	0.325
	Non	1533/2739 (55.96%)	1528/2727 (56.03%)	0.0454 (0.023)	1.046	1.0004- 1.094	0.048

### 2.1.1- Résultat global

La présente méta-analyse se concentre sur l'association entre le traitement aux AINS et la réussite de l'IA chez les vaches. Le Risque Ratio (RR) pour G/Al (Gestation sur insémination artificielle) était le coefficient dans le cas du traitement par rapport à l'absence de traitement.

Lorsque la méta-analyse a été effectuée sur l'ensemble des données sans modérateur (global), la taille moyenne de l'effet (RR=1.047-P=0.036) représente l'efficacité du traitement.



**Figure 7 :** Diagramme en entonnoir de la taille d'effet du P/ET (affiché sur l'axe horizontal) pour l'ensemble des vaches traitées avec des AINS. L'axe vertical montre l'erreur standard (ES) de chaque étude, avec des études plus importantes (qui ont un SE plus petit) tracées au-dessus de l'axe vertical ; et l'axe horizontal montrant les tailles d'effet observées (logarithme du risque relatif ou estimation) de chaque étude.

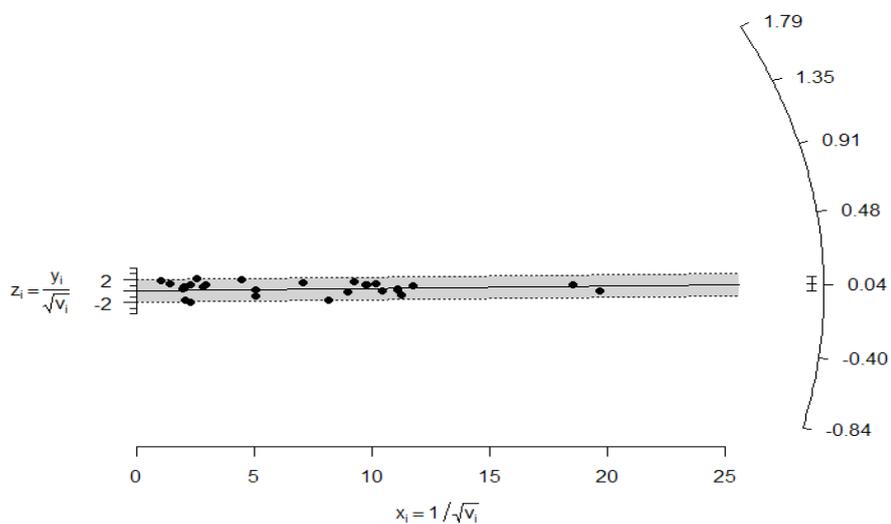


Figure 8: Tracé radial de la taille effective de  $G/IA$  pour l'ensemble des vaches traitées avec des AINS. Le graphique montre les erreurs standard (ES) inverses sur l'axe horizontal par rapport aux tailles d'effet observées (logarithme du risque relatif ou estimation) normalisées par leur SE correspondante sur l'axe vertical. Sur le côté droit du tracé, un arc est tirées correspondant aux tailles d'effet observées. Une ligne projetée de (0,0) à un point particulier du tracé sur cet arc indique la valeur de la taille d'effet observée pour ce point.

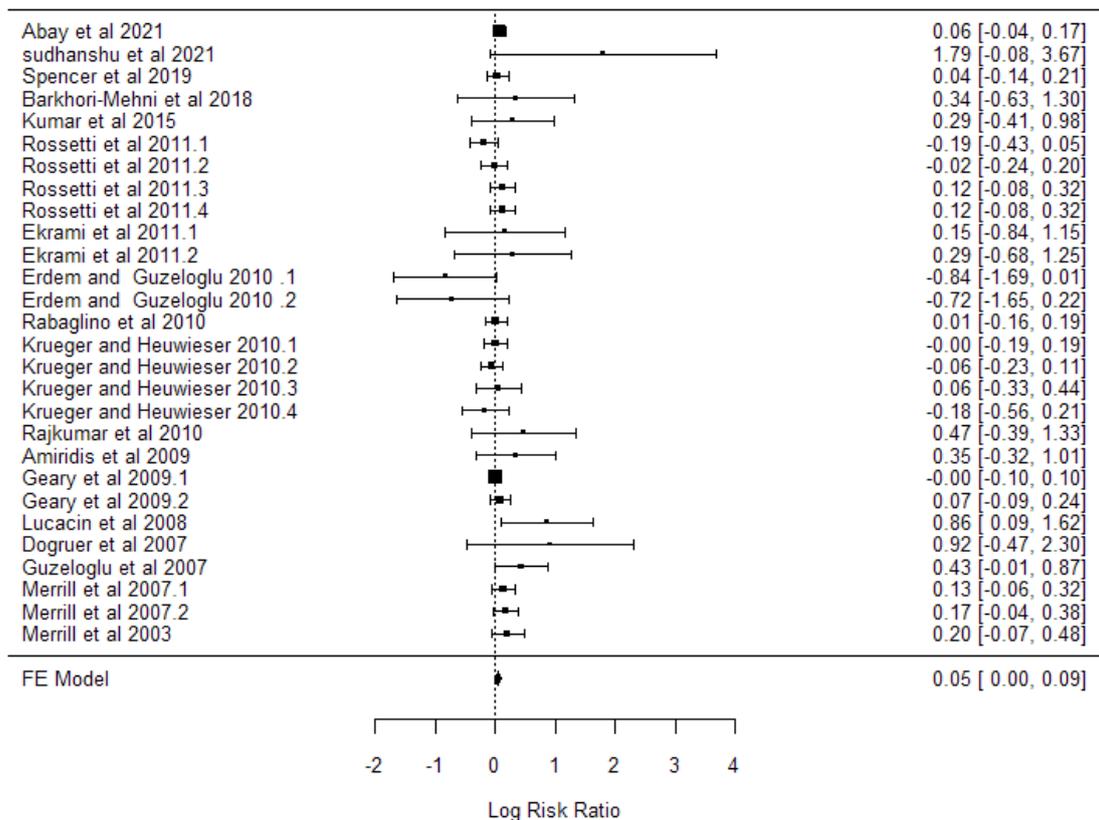


Figure 9 : Forest plot pour l'ensemble des vaches traitées avec des AINS. Risque relatif (RR) et intervalle de confiance (IC) à 95 % des études sur l'effet des AINS sur la  $G/IA$ . Les carrés représentent chaque estimation ponctuelle d'une étude. La taille du carré est proportionnelle à la taille de l'échantillon (c'est-à-dire le poids) de cette étude. La ligne correspond à chaque IC de la taille d'effet dans une étude. Le losange représente l'estimation groupée à l'aide d'un modèle à effets aléatoires (ER). Les estimations ont été obtenues par des modèles à effets fixe (FE) (sans modérateurs) dont l'estimation groupée est présentée sous la forme d'un polygone solide dans la dernière ligne.

## 2.1.2- Analyse de sous-groupes

- **Parité**

Dans les études menées sur les vaches il y avait un taux de G/IA (RR=1.08; IC=1.02-1.14; P=0.0057). Cependant, il n'y a pas eu d'amélioration du G/IA chez les génisses (RR=0.99; IC=0.9-1.06;P=0.88)

- **Molécule**

Dans les études menées sur des vaches traitées avec la flunixin méglumine (FM), il y avait un taux de G/IA (RR=1.048; IC=1-1.1; P=0.06). Cependant, il n'y a pas eu d'amélioration du G/IA chez les vaches traitées avec le caprofen (RR=1.046; IC=0.9-1.1;P=0.36) et le méloxicam (RR=0.912; IC=0.6-1.3; P=0.65).

- **Synchronisation**

Dans les études menées sur des vaches ont été synchronisées avec le Progestagène il y avait un taux de G/IA (RR=1.052 ; IC=1-1.1 ; P=0.035). Cependant, il n'y a pas eu d'amélioration du G/IA chez les vaches dont la venue en chaleur est naturelle.(RR=1.461; IC=0.9-2.3; P=0.10) et synchronisées avec PGF2 $\alpha$ (RR=0.969; IC=0.8-1.08; P=0.59) et par GPG (RR=1.165; IC=0.9-1.7; P=0.117).

- **FM dose**

Dans les études menées sur des vaches traitées par une dose de FM normale y avait un taux de G/IA (RR=1.085; IC=1.01-1.16; P=0.02). Cependant, il n'y a pas eu d'amélioration du G/IA chez les vaches traitées par une dose de FM doublée(RR=1.001; IC=0.9-1.08;P=0.96).

- **Repeat breeder**

Dans les études menées sur des vaches à chaleurs régulières il y avait un taux de G/IA (RR=1.046;IC=1.00-1.09;P=0.048) . Cependant, il n'y a pas eu d'amélioration du G/IA chez les vaches à ovulation retardée (RR=1.088;IC=0.9-1.2; P=0.32).

## 2.2- Résultats de la régression

Tableau 8 résume tous les résultats des sous-groupes analysés.

**Tableau 8** : Résultats de la méta-régression univariée sur la réussite de l'IA après traitement par les AINS selon les performances de la sous-population (sous-groupe). Chaque ligne représente une méta-régression différente appliquée à la sous-population.

Model	Classe	Sous-groupe	Estimate(ES)	RR	IC 95%	P<0.05	I <sup>2</sup>
Model global	Global	///////	0.046 (0.022)	1.047	1-1.09	0.036	20%
Model#1	Parité	Intercept	-0.005 (0.03)	0.99	0.92-1.06	0.88	15%
		Vache	0.08 (0.045)	1.08	1.03-1.18	0.04	
		Génisse	Reference				
Model#2	AINS	Intercept	-0.091 (0.205)	0.91	0.6-1.36	0.65	24%
		FM	0.13 (0.207)	1.14	0.76-1.72	0.5	
		Carprofen	0.13 (0.211)	1.14	0.75-1.73	0.5	
		Meloxicam	Reference				
Model#3	Synchro	Intercept	-0.031 (0.058)	0.96	0.86-1.08	0.5	16%
		Œstrus naturelle	0.41 (0.242)	1.50	0.93-2.42	0.09	
		GPG	0.2716 (0.164)	1.31	0.95-1.81	0.098	
		Progestagène	0.0819 (0.063)	1.08	0.95-1.22	0.197	
		PGF2 $\alpha$	Reference				
Model#4	FM dose	Intercept	0.0017 (0.041)	1.001	0.92-1.08	0.96	21%
		A (normale)	0.0804 (0.054)	1.08	0.97-1.20	0.14	
		B (doublée)	Reference				
Model#5	RB	Intercept	0.0454 (0.023)	1.046	1-1.09	0.04	14%
		Oui	0.0391(0.088)	1.039	0.87-1.23	0.65	
		Non	Reference				

I<sup>2</sup>: hétérogénéité

### Analyse de la régression

Le tableau 9 résume les résultats de la méta-régression univariée en cinq (5) modèles, chaque modèle présente la comparaison entre les sous-groupes. L'inclusion de la parité (vache ou génisse) dans le Modèle#1 a permis de réduire l'hétérogénéité de 5% , les vache traitées par les AINS ont présenté des taux G/IA supérieurs de 8% (RR=1.08, IC 95%= 1.03-1.18, P=0.04).

Dans le Modèle#2, l'hétérogénéité n'a été pas réduite après l'inclusion du type d'AINS (FM, Carprofen et meloxicam) et aucune différence significative n'a été trouvée entre ces trois sous-groupes, malgré que les taux de G/IA ont été meilleurs de 14% chez les vaches traitées par la FM et le Carprofen comparés aux résultats obtenus après traitement par le Meloxicam.

L'inclusion du type de l'induction des chaleurs (œstrus naturelle, GPG, Progestagène, et PGF2 $\alpha$ .) dans le Modèle# 3 a permis de réduire l'hétérogénéité de 4%, aucune différence significative n'a été trouvée entre les 4 groupe, les taux G/Al ont été améliorés de 50% chez les vaches dont la venue en chaleur est naturelle, les taux G/Al ont été améliorés de 31% chez les vaches qui ont été synchronisées avec le gpg , et les taux de G/Al ont été améliorés de 8% cher les vaches qui ont été synchronisées avec le Progestagène.

Dans le Modèle#4, l'hétérogénéité n'a été pas réduite après l'inclusion du type de FM dose (normale ou doublée) et aucune différence significative n'a été trouvée entre ces deux sous-groupes, les vaches traitées par la dose normale de FM ont présenté des taux G/IA supérieurs de 8%.

L'inclusion de vaches Repeat breeders dans le Modèle#5 a permis de réduire l'hétérogénéité de 6%, le traitement par les AINS a permis d'améliorer les taux de G/IA de 4% chez les vaches repeat breeders.

### 3- Discussion

La méta-analyse a été effectuée conformément aux recommandations standards (Schwarzer et al., 2015; Viechtbauer, 2010). Aucun biais de publication n'a été observé. Seul le modérateur parité a été significativement associé à l'amélioration de G/IA dans les cas d'utilisation des AINS. Pour tous les autres modérateurs, c.-à-d., molécule, Synchronisation, FM dose et Repeat breeder aucune différence significative n'a été observée dans l'association entre l'utilisation des AINS et des G/IA pour les diverses classes d'un modérateur donné. Cela signifie que l'utilisation des AINS pour améliorer la G/IA donne des résultats semblables, peu importe la classe de ces modérateurs, bien que la régression des sous-groupes montre parfois des tailles d'effet différentes. La puissance statistique limitée due au peu d'essais disponibles peut contribuer de manière importante à cette situation. Toutes les régressions des sous-groupes sans différence statistiquement significative comprenaient moins de 5 essais.

Malgré ces limites, les résultats actuels quantifient l'association entre G/IA si des AINS sont utilisés : le traitement était associé en moyenne à une probabilité de G/IA 20% plus élevée que sans traitement. Les résultats ont également mis en évidence que l'amélioration de G/IA dans les cas d'AINS utilisés a augmenté de 15% (RR = 1,08, P = 0,04) chez les vaches primipares. Étant donné que le meloxicam semblait induire cliniquement une meilleure G/IA que les autres AINS (même s'il n'est pas significatif).

Les travaux actuels montrent que le traitement par GnRH et hCG a amélioré la G/IA chez les vaches primipares. Les vaches primipares appartiennent généralement à une catégorie d'animaux de très faible fertilité. Par conséquent, la G/IA a été grandement améliorée après leur traitement. Les vaches primipares présentent de nombreuses différences physiologiques et pathologiques par rapport aux vaches multipares, notamment une production laitière très faible, moins de problèmes de reproduction, une anovulation accrue, moins de maladies et une taille réduite du corps et des organes par rapport à leurs homologues (Bamber et al., 2009).

L'inclusion des AINS, route de l'administration FM, la synchronisation du récepteur et de parité en tant que modérateurs dans la méta-régression n'ont pas mené à des associations significatives.

# **CONCLUSION**

## **Conclusion**

Quel que soit le médicament utilisé, tout effet positif possible peut être neutralisé par l'influence de certains facteurs individuels et environnementaux. L'utilisation des AINS immédiatement avant l'IA peut avoir un effet positif sur le taux de gestation des vaches, l'influence favorable de la FM sur la gestation étant la plus documentée. Les effets bénéfiques des autres AINS sur les résultats de l'IA sont moins documentés. Il semble qu'ils puissent s'appliquer à certains groupes d'animaux, par exemple les vaches à repeat breeders, mais leur utilisation chez les animaux inséminés artificiellement sans problèmes de reproduction reste inutile.

# **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## Références bibliographiques

- Abay, M., Pancarci, S. M., Gungor, O., Nak, Y., Alparslan, A. D., & Bekyurek, T. (2021). Effects of carprofen and/or CIDR administration on pregnancies per artificial insemination around pregnancy recognition in lactating dairy cows. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 72(3), 3101–3108.
- Amiridis, G. S., Tsiligianni, T., Dovolou, E., Rekkas, C., Vouzaras, D., & Menegatos, I. (2009). Combined administration of gonadotropin-releasing hormone, progesterone, and meloxicam is an effective treatment for the repeat-breeder cow. *Theriogenology*, 72(4), 542–548. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.04.010>
- Ayalon, N. (1978). A review of embryonic mortality in cattle. *Reproduction*, 54(2), 483–493. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0540483>
- Ball, P. J. (1978). The relationship of age and stage of gestation to the incidence of embryo death in dairy cattle. *Research in Veterinary Science*, 25(1), 120–122. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/705041>
- Bamber, R. L., Shook, G. E., Wiltbank, M. C., Santos, J. E. P., & Fricke, P. M. (2009). Genetic parameters for anovulation and pregnancy loss in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 92(11), 5739–5753. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2226>
- Barkhori-Mehni, S., Karami-Shabankareh, H., Masoumi, R., Kazemi-Bonchenari, M., Pezeshki, A., Badiei, A., Dirandeh, E., & Colazo, M. G. (2018). Effect of exogenous progesterone or flunixin meglumine after AI on serum progesterone concentration and pregnancy per AI in lactating dairy cows. *Animal Reproduction*, 15(2), 140–147. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2017-0014>
- Beam, S. W., & Butler, W. R. (1998). Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. *Journal of Dairy Science*, 81(1), 121–131.
- Bergh, M. S., & Budsberg, S. C. (2005). The Coxib NSAIDs: Potential Clinical and Pharmacologic Importance in Veterinary Medicine. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19(5), 633–643. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2005.tb02741.x>
- Bilby, T. R., Guzeloglu, A., Maclaren, L. A., Staples, C. R., & Thatcher,

- W. W. (2006). Pregnancy , Bovine Somatotropin , and Dietary n-3 Fatty Acids in Lactating Dairy Cows : II . Endometrial Gene Expression Related to Maintenance of Pregnancy. *Journal of Dairy Science*, 89(9), 3375–3385. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72374-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72374-8)
- Bisinotto, R. S., Ibiapina, B. T., Pontes, E. O., Fedozzi, F., Bergamaschi, M. A. C., Bertan, C. M., & Binelli, M. (2006). Aspiração folicular no período de peri-luteólise em bovinos: efeitos no crescimento folicular e duração do ciclo estral. *Acta Scientiae Veterinariae*, 34, s274.
- Burns, P. D., Engle, T. E., Harris, M. A., Enns, R. M., & Whittier, J. C. (2003). Effect of fish meal supplementation on plasma and endometrial fatty acid composition in nonlactating beef cows. *Journal of Animal Science*, 81(11), 2840–2846.
- Diaz, T., Schmitt, E.-P., De La Sota, R. L., Thatcher, M.-J., & Thatcher, W. W. (1998). Human chorionic gonadotropin-induced alterations in ovarian follicular dynamics during the estrous cycle of heifers. *Journal of Animal Science*, 76(7), 1929–1936.
- Diskin, M. G., Murphy, J. J., & Sreenan, J. M. (2006). Embryo survival in dairy cows managed under pastoral conditions. *Animal Reproduction Science*, 96(3–4), 297–311.
- Diskin, M. G., & Sreenan, J. M. (1980). Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. *Reproduction*, 59(2), 463–468.
- Divers, T. J. (2008). COX Inhibitors: Making the Best Choice for the Laminitic Case. *Journal of Equine Veterinary Science*, 28(6), 367–369. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2008.04.006>
- Dochi, O., Yamamoto, Y., Saga, H., Yoshiba, N., Kano, N., Maeda, J., Miyata, K., Yamauchi, A., Tominaga, K., Oda, Y., Nakashima, T., & Inohae, S. (1998). Direct transfer of bovine embryos frozen-thawed in the presence of propylene glycol or ethylene glycol under on-farm conditions in an integrated embryo transfer program. *Theriogenology*, 49(5), 1051–1058. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(98\)00053-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(98)00053-3)
- Dunne, L. D., Diskin, M. G., & Sreenan, J. M. (2000). *Embryo and foetal loss in beef heifers between day 14 of gestation and full term.* 39–44.
- Erdem, H., & Guzeloglu, A. (2010). Effect of meloxicam treatment during early pregnancy in holstein heifers. *Reproduction in Domestic*

*Animals*, 45(4), 625–628. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01317.x>

- Forde, N., Carter, F., Fair, T., Crowe, M. A., Evans, A. C. O., Spencer, T. E., Bazer, F. W., O’Gaora, P., McBride, R., & Boland, M. P. (2008). *Effect of pregnancy and progesterone on gene expression in the uterine endometrium of cattle*. Oxford University Press.
- Freret, S., Ponsart, C., Rai, D. B., Jeanguyot, N., Paccard, P., & Humblot, P. (2006). Facteurs de variation de la fertilité en première insémination et des taux de mortalités embryonnaires en élevages laitiers Prim’Holstein. *Rencontres Recherches Ruminants*, 13, 281–284.
- GE, M., Lamming, G. E., Robinson, R. S., & Wathes, D. C. (1998). The regulation of interferon-t production and uterine hormone receptors during early pregnancy. *Reproduction in Domestic Ruminants IV: Proceedings of the Fifth International Symposium on Reproduction in Domestic Ruminants, Colorado Springs, Colorado, USA*, 1–5.
- Gifford, C. A., Racicot, K., Clark, D. S., Austin, K. J., Hansen, T. R., Lucy, M. C., Davies, C. J., & Ott, T. L. (2007). Regulation of interferon-stimulated genes in peripheral blood leukocytes in pregnant and bred, nonpregnant dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90(1), 274–280.
- Goff, A. K. (2004). Steroid Hormone Modulation of Prostaglandin Secretion in the Ruminant Endometrium During the Estrous Cycle1. *Biology of Reproduction*, 71(1), 11–16. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.025890>
- Gustafsson, H., & Larsson, K. (1985). Embryonic mortality in heifers after artificial insemination and embryo transfer: differences between virgin and repeat breeder heifers. *Research in Veterinary Science*, 39(3), 271–274.
- Guzeloglu, A., Erdem, H., Saribay, M. K., Thatcher, W. W., & Tekeli, T. (2007). Effect of the administration of flunixin meglumine on pregnancy rates in Holstein heifers. *Veterinary Record*, 160(12), 404–406. <https://doi.org/10.1136/vr.160.12.404>
- Hanzen, C. H., Drion, P. V, Lourtie, O., Depierreux, C., & Christians, E. (1999). Embryonic mortality. 1. Clinical aspects and etiological factors in the bovine species. *Annales de Medecine Veterinaire (Belgium)*.

- Hasler, J. F. (2001). Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle. *Theriogenology*, *56*(9), 1401–1415. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00643-4](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00643-4)
- Hasler, J. F. (2014). Theriogenology Forty years of embryo transfer in cattle : A review focusing on the journal Theriogenology , the growth of the industry in North America , and personal reminiscences. *Theriogenology*, *81*(1), 152–169. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.09.010>
- Inskeep, E. K. (2004). Preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effects of concentrations of progesterone on embryonic survival in the cow. *Journal of Animal Science*, *82*(suppl\_13), E24–E39.
- Inskeep, E. K., & Dailey, R. A. (2005). Embryonic death in cattle. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, *21*(2), 437–461.
- Kastelic, J. P., & Ginther, O. J. (1991). *SPONTANEOUS EMBRYONIC DEATH ON DAYS 20 TO 40 IN HEIFERS for publication : Accepted : 35*(2).
- Komar, C. M., Berndtson, A. K., Evans, A. C. O., & Fortune, J. E. (2001). Decline in circulating estradiol during the periovulatory period is correlated with decreases in estradiol and androgen, and in messenger RNA for P450 aromatase and P450 17 $\alpha$ -hydroxylase, in bovine preovulatory follicles. *Biology of Reproduction*, *64*(6), 1797–1805.
- Kumar, R., Choudhary, P. K., Kumar, A., & Kumar, K. (2015). Improving Conception Rate in Cattle with Ovsynch Protocol along with Flunixin Meglumine. *Intas Polivet*, *16*(1).
- Kummerfeld, H. L., Oltenacu, E. A. B., & Foote, R. H. (n.d.). Embryonic Mortality in Dairy Cows Estimated by Nonreturns to Service, Estrus, and Cyclic Milk Progesterone Patterns. *Journal of Dairy Science*, *61*(12), 1773–1777. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(78\)83801-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(78)83801-6)
- Lawrence, M. S., & Sapolsky, R. M. (1994). *Glucocorticoids accelerate ATP loss following metabolic insults in cultured hippocampal neurons*. *646*, 303–306.
- Lucy, M. C. (2001). Reproductive Loss in High-Producing Dairy Cattle: Where Will It End? *Journal of Dairy Science*, *84*(6), 1277–1293. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)70158-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70158-0)

- Machado, R., Da Silva, J. C. B., Barbosa, R. T., Bisinotto, R. S., SIQUEIRA, A. E. P., & BINELLI, M. R. (2006). *Remoção farmacológica ou mecânica do folículo dominante como estratégia anti-luteolítica em bovinos.*
- Márcia, L., Lopes, J., Balbinot, M., Alves, B., Vieira, C., Araújo, D., & Rigatto, L. (2015). Theriogenology Pregnancy rates and serum 13, 14-dihydro-15-keto-PGF2 a concentrations in recipient Nelore heifers treated with meloxicam after the transfer of in vitro – produced embryos. *Theriogenology*, 84(4), 553–558.  
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.04.010>
- Marques, M. de O., & Baruselli, P. S. (2002). *Ultra-sonografia ovariana, concentração plasmática de progesterona e taxa de concepção em novilhas receptoras de embriões submetidas a diferentes tratamentos no dia 7 do ciclo estral.*
- Martal, J. (1996). Contrôle du développement embryonnaire et reconnaissance maternelle de la gestation. *Point Vétérinaire*, 28, 901–910.
- Mattos, R., Staples, C. R., Arteche, A., Wiltbank, M. C., Diaz, F. J., Jenkins, T. C., & Thatcher, W. W. (2004). The effects of feeding fish oil on uterine secretion of PGF2 $\alpha$ , milk composition, and metabolic status of periparturient Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 87(4), 921–932.
- McCracken, J. A., Schramm, W., & Okulicz, W. C. (1984). Hormone receptor control of pulsatile secretion of PGF2 $\alpha$  from the ovine uterus during luteolysis and its abrogation in early pregnancy. *Animal Reproduction Science*, 7(1–3), 31–55.
- Merangin, D. I. D., Pattiselanno, F., Mentansan, G., Nijman, V., Nekaris, K. A. I., Pratiwi, A. I. N., Studi, P., Nutrisi, I., Makanan, D. A. N., Peternakan, F., Penulisan, P., Ilmiah, K., Berbagai, P., Cahaya, I., Lapangan, D. I., Eropa, A., Geometry, R., Analysis, G., Nasution, R. D., ... Bismark, M. (2018). No  
 主観的健康感を中心とした在宅高齢者における  
 健康関連指標に関する共分散構造分析Title. , (2)2, مجلة اسبوط للدراسات البيئية, 2016.  
[https://doi.org/10.1016/j.gecco.2019.e00539%0Ahttps://doi.org/10.1016/j.foreco.2018.06.029%0Ahttp://www.cpsg.org/sites/cbsg.org/files/documents/Sunda Pangolin National Conservation Strategy and Action Plan %28LoRes%29.pdf%0Ahttps://doi.org/10.1016/j.forec](https://doi.org/10.1016/j.gecco.2019.e00539%0Ahttps://doi.org/10.1016/j.foreco.2018.06.029%0Ahttp://www.cpsg.org/sites/cbsg.org/files/documents/Sunda%20Pangolin%20National%20Conservation%20Strategy%20and%20Action%20Plan%20LoRes.pdf%0Ahttps://doi.org/10.1016/j.forec)

- Merrill, L. (2004). *Effect of flunixin meglumine on early embryonic mortality in stressed beef female Abstract* :
- Merrill, M. L., Ansotegui, R. P., Burns, P. D., Macneil, M. D., Geary, T. W., Merrill, M. L., Ansotegui, R. P., Burns, P. D., Macneil, M. D., & Geary, T. W. (2007). *Effects of flunixin meglumine and transportation on establishment of pregnancy in beef cows* The online version of this article , along with updated information and services , is located on the World Wide Web at : *Effects of flunixin meglumine and transpor.* 1547–1554. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-587>
- Moreira, F., Paula-Lopes, F. F., Hansen, P. J., Badinga, L., & Thatcher, W. W. (2002). Effects of growth hormone and insulin-like growth factor-I on development of in vitro derived bovine embryos. *Theriogenology*, 57(2), 895–907.
- Oliveira, J. F., Henkes, L. E., Ashley, R. L., Purcell, S. H., Smirnova, N. P., Veeramachaneni, D. N. R., Anthony, R. V, & Hansen, T. R. (2008). Expression of interferon (IFN)-stimulated genes in extrauterine tissues during early pregnancy in sheep is the consequence of endocrine IFN- $\tau$  release from the uterine vein. *Endocrinology*, 149(3), 1252–1259.
- Petit, H. V, & Twagiramungu, H. (2006). Conception rate and reproductive function of dairy cows fed different fat sources. *Theriogenology*, 66(5), 1316–1324.
- Pinto, A., Lucca, F. M. de, Mota, J. A. M. F., Lucacin, E., Borges, A. M., Acco, A., Fonseca, J. F. da, Silva, J. M. da, Silva, A. V. da, & Brandão, F. Z. (2008). Avaliação dos efeitos do flunixin meglumine sobre a concentração sérica de progesterona e ciclo estral em novilhas e vacas mestiças. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, 15(1), 10–14. <https://doi.org/10.4322/rbcv.2014.198>
- Rabaglino, M. B., Risco, C. A., Thatcher, M. J., Lima, F., Santos, J. E. P., & Thatcher, W. W. (2010). Use of a five-day progesterone-based timed AI protocol to determine if flunixin meglumine improves pregnancy per timed AI in dairy heifers. *Theriogenology*, 73(9), 1311–1318. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.12.012>
- Radostits, O. M., Gay, C., Hinchcliff, K. W., & Constable, P. D. (2010). *Veterinary Medicine E-Book: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats* (O. M. Radostits, C. Gay, K. W. Hinchcliff, & P. D. Constable (eds.); 10th ed.).
- Rajkumar, R., Singh, S. K., Agarwal, S. K., Mahmood, S., & Shankar, U.

- (2010). Effect of selective COX-2 inhibitor on conception rate, progesterone and PGFM profile in buffalo (*Bubalus bubalis*). *Journal of Applied Animal Research*, 38(2), 209–212.  
<https://doi.org/10.1080/09712119.2010.10539512>
- Ricciotti, E., & FitzGerald, G. A. (2011). Prostaglandins and Inflammation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 31(5), 986–1000. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.207449>
- Rogers, G. W., Banos, G., & Sander-Nielsen, U. (1999). Genetic Correlations Among Protein Yield, Productive Life, and Type Traits from the United States and Diseases Other than Mastitis from Denmark and Sweden. *Journal of Dairy Science*, 82(6), 1331–1338.  
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75357-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75357-9)
- Romano, J. E., Thompson, J. A., Forrest, D. W., Westhusin, M. E., Tomaszewski, M. A., & Kraemer, D. C. (2006). Early pregnancy diagnosis by transrectal ultrasonography in dairy cattle. *Theriogenology*, 66(4), 1034–1041.
- Rossetti, R. C., Perdigão, A., Mesquita, F. S., Sá Filho, M., Nogueira, G. P., Machado, R., Membrive, C. M. B., & Binelli, M. (2011). Effects of flunixin meglumine, recombinant bovine somatotropin and/or human chorionic gonadotropin on pregnancy rates in Nelore cows. *Theriogenology*, 76(4), 751–758.  
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.04.008>
- Santos, J. E. P., Bilby, T. R., Thatcher, W. W., Staples, C. R., & Silvestre, F. T. (2008). Long chain fatty acids of diet as factors influencing reproduction in cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, 43, 23–30.
- Scenna, F. N., Hockett, M. E., Towns, T. M., Saxton, A. M., Rohrbach, N. R., Wehrman, M. E., & Schrick, F. N. (2005). *Influence of a prostaglandin synthesis inhibitor administered at embryo transfer on pregnancy rates of recipient cows*. 78, 38–45.  
<https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2005.02.003>
- Schwarzer, G., Carpenter, J. R., & Rücker, G. (2015). Fixed effect and random effects meta-analysis. In *Meta-analysis with R* (pp. 21–53). Springer.
- Singh, S. P., Kumar, A., Bhavsar, P., Bhavsar, M., Sourya, N., Singh, A. K., & Sahu, M. (2021). Application of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) for improvement of cattle fertility. *Researchgate.Net*, 10(2), 404–407. <https://www.researchgate.net/profile/Ankesh->

Kumar/publication/354888810\_Application\_of\_non-steroidal\_anti-inflammatory\_drugs\_NSAIDs\_for\_improvement\_of\_cattle\_fertility/links/6152da9ed2ebba7be752505a/Application-of-non-steroidal-anti-inflammatory-drugs-NSA

Spencer, J. A., Carnahan, K. G., Shafii, B., Dalton, J., & Ahmadzadeh, A. (2020). Pregnancy per artificial insemination during summer in lactating dairy cows after treatment with aspirin. *Animal Reproduction Science*, 212, 106253.

<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106253>

Viechtbauer, W. (2010). *Journal of Statistical Software*. 36(3).

von Krueger, X., & Heuwieser, W. (2010). Effect of flunixin meglumine and carprofen on pregnancy rates in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 93(11), 5140–5146. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3072>

