

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Saad Dahlab-Blida-1



Faculté des sciences, de la nature et de la vie
Département de Biologie, des populations et des organismes
Option : Biologie et physiologie de la reproduction

Projet de fin d'études en vue de l'obtention du
Diplôme de Master 2

**Evaluation de la progestéronémie au cours du cycle œstral
chez la brebis**

Présenté par
Laib Meriem et Ouzani Chaima

Soutenu le 24 Septembre 2020

Devant le jury :

Présidente :	Zatra Y.	MCB	FSNV, USDBlida1
Examineur :	Sayad M.	MCB	FSNV, USDBlida1
Promoteur :	Ferrouk M.	MCB	ISV, USDBlida1
Co-promotrice :	Boukenaoui-Ferrouk N.	MCA	ISV, USDBlida1

Année : 2019-2020

Résumé

L'objectif de notre travail vise à évaluer l'évolution de progestéronémie au cours du cycle œstral chez la brebis. Après une synchronisation des chaleurs par deux injections d'un analogue de prostaglandine (Cloprosténol) avec un intervalle de 11 jours, des prélèvements sanguins ont été réalisés pendant 21 jours pour la détermination la progestéronémie par la technique immuno-enzymatique ELFA. Les résultats issus d'une synthèse bibliographique montrent que les taux de la progestéronémie au cours du cycle sexuel chez les brebis sont en dessous de 1 ng/ml (valeur minimale) lors de l'œstrus et atteint une valeur maximum en phase lutéale (avec une variation individuelle). Ces résultats montrent l'existence d'une interrelation entre plusieurs facteurs notamment la race, la prolificité (nombre et taille du corps jaune), alimentation et effet bélier et la progestéronémie. En conclusion, le profil d'évolution de la progestéronémie est comparable chez toutes les races ovines et la concentration est liée à la taille du corps jaune. L'évaluation de la progestéronémie permet de déterminer l'état fonctionnel du CJ, l'état physiologique (puberté, cyclicité et gestation) et le stade du cycle œstral.

Mot clés : Progestéronémie, brebis, cycle œstral, immunodosage.

Abstract

The objective of our work is to evaluate the evolution of progesterone concentration during the estrous cycle in ewes. After estrous synchronization by two injections of a prostaglandin analogue (Cloprostenol) with an interval of 11 days. Blood samples were collected for 21 days for the determination of progesterone concentration by the enzyme-linked immunofluorescence assay (ELFA). Results from a literature review show that the levels of progesterone concentration during the sexual cycle in ewes are below 1 ng/ml (minimum value) during estrus and reach a maximum value in the luteal phase (with individual variation). These results show an interrelation between several factors including breed, prolificity (number and size of corpus luteum), diet and ram effect, and progesterone concentration. In conclusion, the pattern of progesterone concentration evolution is comparable in all sheep breeds and the concentration is related to corpus luteum size. The evaluation of progesterone concentration makes it possible to determine the functional state of the CL, the physiological state (puberty, cyclicity, and gestation) and the stage of the estrous cycle.

Keywords : Progesterone, ewe, estrous cycle, immunoassay

ملخص

الهدف من عملنا هو تقييم تطور البروجسترون في الدم خلال الدورة الشبقية عند النعاج. بعد مزامنة فترة الاحترار أو الوداق بحقتنين من نظير البروستاغلاندين (كلوبروستينول) بفاصل 11 يوم، تم جمع عينات الدم لمدة 21 يوما لتحديد نسبة تركيز البروجسترون في الدم، بواسطة التحليل المناعي المرتبط بالأنزيم. تظهر النتائج عبر مراجعة أدبية أن مستويات البروجسترون في الدم خلال الدورة الجنسية في النعاج تكون أقل من 1 نانوغرام/مل (القيمة الأدنى) وتصل إلى قيمة قصوى في مرحلة الشبق (مع اختلاف فردي). هذه النتائج تظهر العلاقة بين البروجسترون وعدة عوامل بما في ذلك العرق، الخصوبة (عدد وحجم الجسم الأصفر)، النظام الغذائي وتأثير الذكر. في الختام، تطور البروجسترون في الدم متماثل عند جميع سلالات الأغنام ويرتبط التركيز بحجم الجسم الأصفر. تقييم البروجسترون في الدم يسمح بتحديد الحالة الوظيفية للجسم الأصفر، الحالة الفسيولوجية (البلوغ، الهورتي، الحمل) ومراحل دورة الشبق.

الكلمات الرئيسية: البروجسترون، الغنم، دورة الشبق، تحليل مناعي انزيمي.

Remerciements

A Madame ZATRA Y.

Maitre de conférences B, à la faculté des Sciences Biologiques et l'institut des sciences vétérinaires de l'université de Blida -1-, pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse, Nous lui sommes très reconnaissantes, Hommages respectueux.

A Madame SAYAD M.

Maitre de conférences B, à la faculté des Sciences Biologiques de l'université de Blida -1-, pour avoir accepté d'examiner notre travail et de faire partie de notre jury de mémoire, Nous lui sommes très reconnaissantes pour le temps qu'elle nous a consacré, Sincères remerciements.

A Monsieur FERROUK M.

Maitre de conférences B à l'institut des sciences vétérinaires Blida, Qui nous a fait l'honneur d'encadrer ce travail avec disponibilité et bienveillance, qu'il trouve ici l'expression de notre reconnaissance et de notre respect les plus sincères.

A Madame BOUKENAOUI-FERROUK N.

Maitre de conférences A à l'institut des sciences vétérinaires Blida, qui nous a aidés tout au long de la réalisation de ce travail, nous somme sincèrement reconnaissantes pour tout le temps que vous avez consacré à nous guidé, pour votre disponibilité, votre sagesse et votre gout du travail bien fait inspirent un grand respect. Sentiments respectueux.

A tous les enseignants de la faculté des sciences biologiques et de l'ISV qui ont contribué à notre.

Dédicaces



*Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour :
A celle qui m'a arrosé de tendresse et d'espoirs, à la source
d'amour*

A ma chère mère

*Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier
comme il se doit, autant de phrases aussi expressives soient-elles
ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que
j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection
tout au long de mon parcours, tu as toujours été présente à mes
côtés pour me consoler quand il fallait.*

A mon cher père

A mes chers frères Nazih et Rayene

A ma chère tante Zoulikha

A mon cher cousin Hamza

A mon binôme Meriem

*J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance
et tout mon amour.*

Chaima

Dédicaces



Je dédie ce modeste travail

A mes chers parents : Zui n'ont jamais cessé de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs. Merci pour votre soutien, vos sacrifices et votre amour et tendresse éternelle.

A mon cher frère et mes chers petits cousins et cousines (spécialement Aya, Imen, Feriel et ma petite adorable Lyna) : je vous aime tous énormément et je vous souhaite une heureuse vie plein de succès et de réussite.

A mes chères tantes, mes chers oncles et mes deux Tata Samia ; Pour leurs soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mon parcours. Vous êtes mes seconds parents.

A Sama Faiza, qui est loin mais toujours présente à tout moment de ma vie, tu me manque.

A mes cher grands parents paternel ; Papa Zui nous a quitté trop tôt et Muma qui me manque chaque jour, Que Allah vous réserve sa clémence à sa bien large miséricorde et vous accueillir dans son vaste paradis.

A mes cher grands parents maternel : Papasidou et Mamaya, Pour vos prières incessantes, votre tendresse et amour infini, que dieux les protège et leurs préserve une longue vie pleine de santé.

A mes chères amies ; Rencontrés à l'école ou de plus longue date, quasi-conscrits ou moins jeunes, à Nesrine, Zineb et Romaiassa, Pour les belles souvenirs, nos fou rires et tous les bons moments passés ensemble et qui ont beaucoup compté dans ma vie, je vous aime.

A Chaima ; la meilleure binome au monde, Merci pour ton soutien, ta patience et compréhension durant la réalisation de ce travail, je te souhaite une heureuse vie pleine de succès.

Meriem

Table de matière

Résumé	
Remerciements	
Dédicaces	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Partie bibliographique	
Chapitre I : Physiologie de la reproduction	
I. Anatomie de l'appareil reproducteur	2
I.1. Section glandulaire.....	2
I.2. Section tubulaire	2
I.2.1. Oviductes	2
I.2.2. Utérus.....	3
I.2.3. Vagin.....	3
I.2.4. Vulve et clitoris.....	3
II. Folliculogénèse.....	3
II.1. Phase de multiplication.....	3
II.2. Phase de croissance.....	3
II.3. Phase de maturation.....	5
III. Cycle sexuel de la brebis.....	6
III.1. Cycle œstral.....	6
III.2. Cycle ovarien.....	7
III.2.1. Phase folliculaire	7
III.2.2. Ovulation.....	7
III.2.3. Phase lutéale.....	7
III.2.3.1. Corps jaune.....	8
III.2.3.2. Métabolisme de la progestérone.....	9
IV. Régulation hormonale du cycle sexuel	10
Chapitre II : Méthodes de synchronisation des chaleurs	
I. Méthodes de synchronisation des chaleurs	12
I.1. Méthode zootechnique : Effet bélier.....	12
I.2. Méthodes hormonales	13
I.2.1. Utilisation de la progestérone	13

I.2.2. Prostaglandines	15
II. Détection des chaleurs	15
Chapitre III : Méthodes d'évaluation de la progestérone	
I. Étape pré-analytique : prélèvement	16
II. Méthodes de dosage de la progestérone	16
II.1. Méthode radio-immunologique	17
II.2. Méthodes immuno-enzymatiques	18
II.2.1. ELISA	18
II.2.2. ELFA	19
Partie expérimentale	
Matériel et méthodes	
I. Objectif de l'étude.....	21
II. Lieu et période d'étude	21
III. Matériel animal	21
IV. Méthodes utilisées.....	21
IV.1. Protocole de synchronisation des chaleurs.....	21
IV.2. Prélèvement sanguin	21
IV.3. Protocole de dosage de la progestéronémie par la technique ELFA.....	22
IV.3.1. Principe du dosage	22
IV.3.2. Composition du kit de dosage.....	22
IV.3.3. Méthode opératoire	24
IV.3.3.1. Saisie des données MLE	24
IV.3.3.2. Calibration.....	25
IV.3.3.3. Réalisation du dosage.....	25
IV.3.3.4. Calcul et expression des résultats.....	27
IV.4. Validité de la technique de dosage.....	27
IV.4.1. Spécificité.....	27
IV.4.2. Sensibilité.....	28
IV.4.3. Précision et exactitude	28
V. Analyse statistique des résultats	29
Résultats et discussion.....	30
Conclusion.....	44
Références bibliographiques	48

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification et caractéristiques des follicules ovariens	4
Tableau 2 : Composition et reconstitution des réactifs du Kit de dosage la progestérone	23
Tableau 3 : Description de la cartouche PRG du kit	24
Tableau 4 : Pourcentages de réactions croisées de quelques stéroïdes avec l'anticorps anti-progestérone	28
Tableau 5 : Paramètres de précision et d'exactitude.....	28
Tableau 6 : Synthèse des articles bibliographiques sur l'évolution de la P4 au cours du cycle œstral chez les ovins.....	31

Liste des figures

Figure 1 : Localisation et anatomie du tractus reproducteur de la brebis	2
Figure 2 : Illustrations schématiques de trois et quatre vagues de croissance des follicules ovariens antraux durant le cycle œstral chez la brebis	5
Figure 3 : Saisonnalité de la reproduction chez la brebis.....	6
Figure 4 : Evolution du corps jaune chez la brebis	8
Figure 5 : Biosynthèse et sécrétion de progestérone	9
Figure 6 : Contrôle endocrinien de l'activité sexuelle chez la brebis	10
Figure 7 : Variations hormonales lors d'un cycle sexuel chez la brebis.....	11
Figure 8 : Représentation schématique de la réponse à l'effet bélier chez la brebis.....	13
Figure 9 : Photo d'un CIDR et de son principe d'action	14
Figure 10 : Photo de mise place de l'éponge de FGA dans son applicateur et de son principe d'action	14
Figure 11 : Comportement sexuel et le phénomène de «flehen» chez le bélier.....	15
Figure 12 : Différents marqueurs et systèmes de révélation utilisés en immunoanalyse.....	17
Figure 13 : Principe fondamental de la réaction de compétition anticorps-antigène dans le cas de la méthode RIA	17
Figure 14 : Représentation schématiques des principaux des différents types de dosage par ELISA.....	18
Figure 15 : Brebis de race D'Man.....	20
Figure 16 : Principe de dosage ELFA	22
Figure 17 : Représentation schématique de la réaction enzymatique de la phosphatase alcaline	22
Figure 18 : Composition du kit de dosage	23
Figure 19 : Cône progestérone Vidas.....	23
Figure 20 : Cartouche Vidas.....	24
Figure 21 : Lecteur de code-barres.....	25
Figure 22 : Distribution d'échantillon de calibrateur et de contrôle	26
Figure 23 : Placement des cônes et des cartouches «PRG» dans le vidas	26
Figure 24 : Appareil vidas.....	26
Figure 25 : Courbe d'étalonnage.....	27
Figure 26 : Evolution théorique de la concentration de progestérone plasmatique périphérique au cours du cycle sexuel puis de la gestation.....	32
Figure 27 : Concentration de P4 sérique (ng/ml) à différents jours du cycle œstral chez les brebis indigènes.....	32
Figure 28 : Concentration de progestérone sérique (ng/ml) à différents jours du cycle œstral chez la brebis White Karaman.....	33
Figure 29 : Concentration sérique quotidienne moyenne de progestérone et volume total du tissu lutéal chez six brebis à face Western white-faced.....	33
Figure 30 : Concentration de progestérone sérique (ng/ml) dans les trois races de brebis.....	34
Figure 31 : Variations quotidiennes des concentrations sériques moyennes de progestérone (ng/ml) et du volume moyen du tissu lutéal (mm ³) chez des brebis non prolifiques de race Western White Face et prolifiques de race Finn, au milieu de la saison de reproduction	35
Figure 32 : Surface moyenne du corps jaune en mm ² et concentration moyenne de progestérone plasmatique en ng/ml chaque jour de cycle œstral des brebis Mérinos espagnoles.....	35

Figure 33 : Volume moyen de tissu lutéal (mm ³) et concentration moyenne de P4 plasmatique (ng/ml) pendant le cycle œstral des brebis de Sanjabi. Valeurs en moyens ± S.D	36
Figure 34 : Concentration plasmatique de la P4 (ng/ml) chez les brebis Farafra au cours des saisons	37
Figure 35 : Concentrations moyennes de P4 plasmatique et fécale au cours du cycle œstral des brebis soumis à différents niveaux de régime alimentaire	37
Figure 36 : Profil de la progestéronémie (ng/ml) pendant la phase d'œstrus du cycle œstral chez les brebis de race Javanese Thin-Tailed soumises à différents niveau de régimes alimentaire....	38
Figure 37 : Changement de la P4 chez la brebis après introduction du bélier sexuellement actif	38
Figure 38 : Résultats des dosages EIA et RIA direct et par extraction de progestérone pour 3 brebis A, B et C, avec en abscisse le nombre de jours après l'introduction du bélier	39

Liste des abréviations

Ac : Anticorps

Ag : Antigène

CG : Cellules de la granulosa

CIDR : Control Internal Drug Release

CJ : Corps jaune

ELISA : Enzyme linked immunosorbant assay

E2 : Œstradiol

FGA : Acétate de fluorogestone

FSH : Follicle-stimulating hormone

GnRH : Gonadotropin-releasing hormone

LDL : Lipoprotéine de basse densité

LH : Luteizing hormone

MAP : Acétate de médroxyprogestérone

PGF2 α : Prostaglandine F2 α

PMSG : Pregnant Mare's Serum Gonadotrophin

PRG : Progestérone

P4 : Progestérone

RIA : Radioimmunoassay

EIA : Enzyme immunoassay

SNC : Système nerveux central

% : Pourcentage

Introduction

En Algérie, l'élevage ovin a toujours occupé une place significative dans l'économie nationale. Afin de satisfaire les besoins alimentaires des consommateurs en protéine animale, des objectifs et des stratégies de production ont été définis (Bessaoud *et al.*, 2019).

Chez les espèces animales dont la reproduction est saisonnière, comme les ovins, la connaissance de l'activité sexuelle est essentielle aussi bien pour la connaissance des potentiels de reproduction des races que pour des pratiques d'élevage (Maton *et al.*, 2010). L'expression de cette activité sexuelle dépend de facteurs internes notamment le taux d'hormones stéroïdiennes sexuelles (Fabre-Nys, 2000).

L'évaluation de la concentration plasmatique de la progestérone au cours du cycle sexuel est nécessaire pour déterminer la cyclicité d'une brebis (Meyer et Yesso, 1991), réaliser un diagnostic précoce de gestation, induire l'œstrus et l'ovulation à un moment choisi par l'éleveur et il est ainsi possible d'avancer la période des saillies ou des inséminations artificielles (De-Fontaubert, 1988).

Dans la partie bibliographique, nous aborderons en quelques rappels sur la physiologie de la reproduction des brebis, notamment les événements ovariens et endocriniens du cycle sexuel. Nous présenterons plus particulièrement le métabolisme et la régulation physiologique de la progestérone ainsi les techniques utilisées pour le dosage de progestérone et son intérêt d'utilisation dans la conduite de reproduction chez les ovins.

Dans la partie expérimentale, nous présenterons le matériel et les méthodes qui devaient être utilisés pour déterminer le profil d'évolution de la concentration plasmatique de la progestérone chez la brebis vivant en zone aride. En raison des conditions sanitaires due au Covid-19, la partie résultats et discussion résulte en une synthèse des travaux réalisés chez d'autres races ovines.

Partie bibliographique

Chapitre I : Physiologie de la reproduction

La fonction de la reproduction joue un rôle important dans l'économie, elle assure le renouvellement des troupeaux et aussi la production de viande et de lait. Elle est assurée par un certain nombre d'organes dont l'ensemble forme l'appareil reproducteur (Castonguay, 2002).

I. Anatomie de l'appareil reproducteur

L'appareil génital de la brebis est situé dans la cavité abdominale (Figure 1a) et divisé en deux parties : section glandulaire et section tubulaire (Figure 1b).

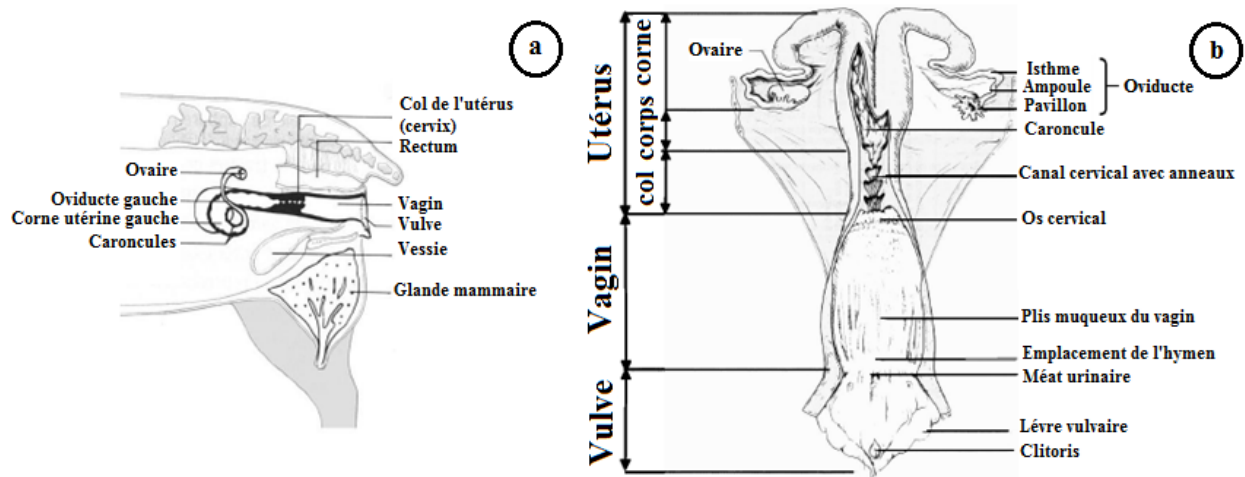


Figure 1 : Localisation (a) et anatomie (b) du tractus reproducteur de la brebis (Bonnes *et al.*, 1988)

I.1. Section glandulaire

La section glandulaire comprend deux ovaires, glandes mixtes en forme d'amande ayant deux fonctions : endocrines et exocrine (libération d'ovule) (Constantinescu, 2007).

Chaque ovaire est composé de deux tissus distincts :

- le cortex, partie superficielle renfermant des follicules ovariens et/ou corps jaune à divers stade de leur développement.
- et le stroma (médullaire), partie centrale, composé d'un tissu conjonctif fibroblastique et de vaisseaux sanguins nourrissant les cellules ovariennes (Baril *et al.*, 1993).

I.2. Section tubulaire

I.2.1. Oviductes

Lieu de fécondation, deux structures tubulaires circonvolutionnés. Dans le cas de fécondation, l'oviducte permet la capture, le transport, les modifications et la survie des ovules ovulés, ainsi que le transport et les modifications des spermatozoïdes juste avant la fécondation (Bazer, 2020).

I.2.2. Utérus

Lieu de gestation, chez la brebis l'utérus est de type bicorné composé de trois segments distincts : deux cornes utérines, un corps utérin et un cervix constitué d'environ 5 à 7 anneaux cervicaux qui obstruent le passage et séparent l'utérus du vagin et donc l'isoler de l'environnement extérieur, limitant ainsi les possibilités d'infection (Castonguay, 2018).

I.2.3. Vagin

C'est le lieu d'accouplement. Il a la forme d'un canal unique situé entre le col de l'utérus et l'orifice urétral externe. Son apparence intérieure change en fonction du stade du cycle sexuel (Constantinescu, 2017a).

I.2.4. Vulve et clitoris

Organes érectiles sensibles, sont considérés comme les parties externes de l'appareil génital femelle. La vulve est située en position subanale et est formée par une paire de lèvres dont chacune est constituée par deux revêtements cutané et muqueux (Barone, 1990).

II. Folliculogénèse

C'est l'ensemble des processus par lesquels un follicule primordial évolue vers un follicule mûr prêt à ovuler. Le développement des follicules se fait en trois phases : Phase de multiplication, phase de croissance et phase de maturation (Leborgne *et al.*, 2013).

II.1. Phase de multiplication

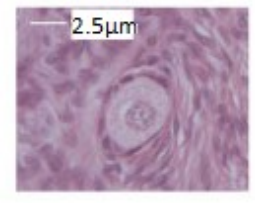
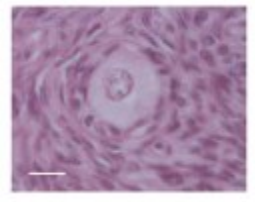
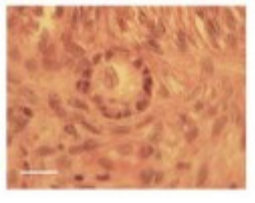
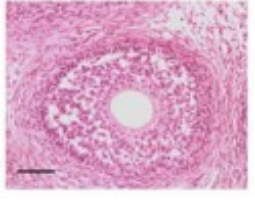

A 35 jours d'âge fœtal chez la brebis, les cellules germinales se différencient en ovogonies, ces dernières se multiplient et forment un stock limité de follicules primordiaux (environ 50000 follicules) constitués d'ovocytes bloqués en prophase I de la méiose jusqu'à la puberté (Baril *et al.*, 1993).

II.2. Phase de croissance

Une fois constituée, la réserve ovarienne de follicules primordiaux subit deux de mécanismes, l'un conduisant à l'apoptose ovocytaire durant la vie fœtale et l'autre conduisant au développement folliculaire. Chez la brebis, très peu de follicules atteindront finalement l'ovulation, d'environ 50 à 200 follicules au maximum (Fair, 2003).

La croissance folliculaire est caractérisée par l'augmentation du volume ovocytaire et la prolifération des cellules de granulosa qui acquièrent une forme cuboïdale et se développent en couches formant ainsi des follicules primaires, secondaires, tertiaires puis antraux (de De Graaf) (Tableau 1) (Monniaux *et al.*, 2009).

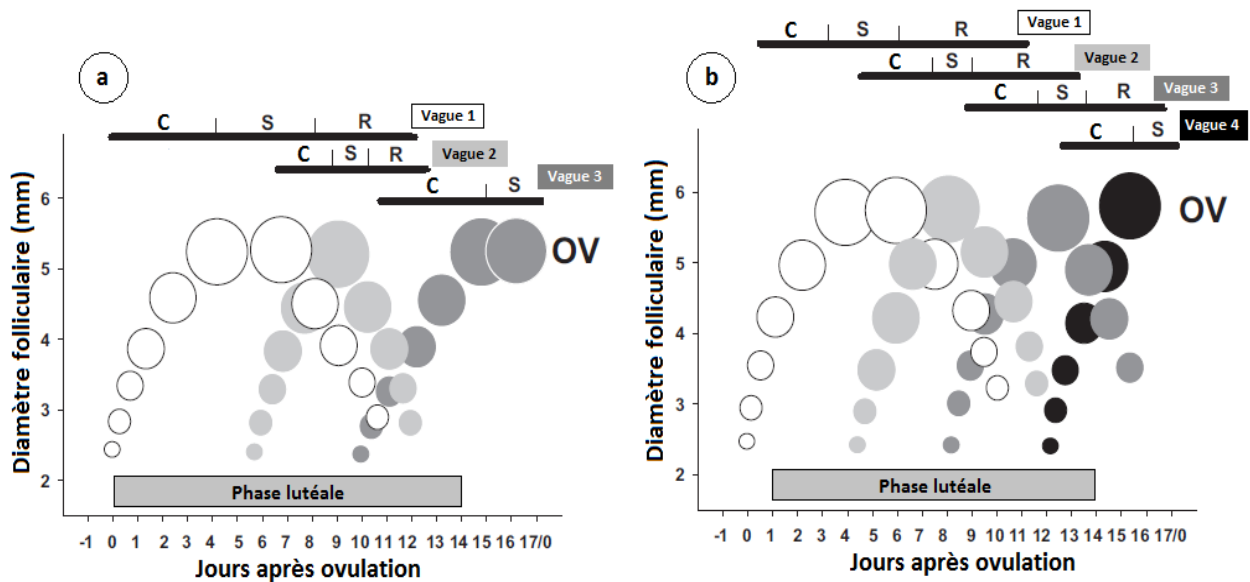
Tableau 1 : Classification et caractéristiques des follicules ovariens (Mescher, 2010; Bartlewski *et al.*, 2011)

Catégorie de follicules	Caractéristiques des follicules	Structures histologiques
Primordiale	Ovocyte entouré d'une couche partielle ou complète de cellules folliculaires squameuses	
Intermédiaire (transitoire)	Follicules contenant à la fois des cellules folliculaires squameuses et cuboïdes	
Primaire	Follicule avec une seule couche (partielle ou complète) de cellules cuboïdes de la granulosa	
Secondaire	Follicule avec plusieurs couches de cellules de la granulosa entouré d'une zone pellucide	
Antral (De Graaf)	Follicule avec une seule cavité remplie de fluide situé au centre	

Chez la brebis, la croissance folliculaire se présente en forme de **vagues folliculaires**, il y a généralement 3 ou 4 vagues d'émergence de follicule par intervalle inter-ovulatoire (Figure 2). Une vague folliculaire comprend un recrutement, une sélection et une dominance. Chez les brebis, entre le 13^{ème} et 15^{ème} jour du cycle, un nombre important de follicules à antrum de 2 mm

de diamètre démarrent leur croissance, c'est le **recrutement** (McGee et Hsueh, 2000). A la fin de cette phase, certains follicules sont sélectionnés et poursuivent leurs croissance, les autres follicules s'atrophient, c'est la **phase de sélection**. Un ou plusieurs follicules sélectionnés poursuivent leur croissance jusqu'à leur maturation finale, c'est la phase de **dominance** (Seekallu *et al.*, 2010).

Cependant, plusieurs études ont montré l'absence d'identification réelle d'une dominance forte chez la brebis, par rapport à celle observée dans l'espèce bovine, à l'exception de celle exercée par le follicule préovulatoire (Ravindra *et al.*, 1994).



OV : ovulation ; C : croissance ; S : statique ; R : régression

Figure 2 : Illustrations schématiques de trois (a) et quatre (b) vagues de croissance des follicules ovariens antraux durant le cycle œstral chez la brebis (Bartlewski *et al.*, 2011)

II.3. Phase de maturation

Durant cette phase, les follicules ovariens augmentent de taille (1 à 2mm) et l'ovocyte subit des modifications cytologiques et métaboliques qui lui permettent d'être reconnu et pénétré par les spermatozoïdes (Paulini *et al.*, 2014).

Les follicules deviennent aussi sensibles aux hormones gonadotrophiques, ceci est une condition préalable à la croissance et un signe de maturation. Après la puberté, les follicules de De Graaf entrent dans l'étape préovulatoire durant laquelle la méiose continue en métaphase II et le follicule est prêt à ovuler (Campbell *et al.*, 1995).

III. Cycle sexuel de la brebis

Le cycle sexuel regroupe le cycle œstral et le cycle ovarien (Legan et Winans, 1981).

La brebis est une espèce polyœstrienne saisonnière, présente une succession d'œstrus pendant toute la saison de reproduction correspondant à la période de jours courts de l'année. Au cours de la période de jours longs, les animaux sont en repos sexuel, c'est l'anoestrus saisonnier (contre saison sexuelle) (Figure 3) (Dudouet, 2003; Abecia *et al.*, 2011).

Le cycle sexuel de la brebis est contrôlé par les activités des voies neuronales et endocriniennes reliant le système nerveux central, les ovaires et l'utérus (Henderson et Robinson, 2008).

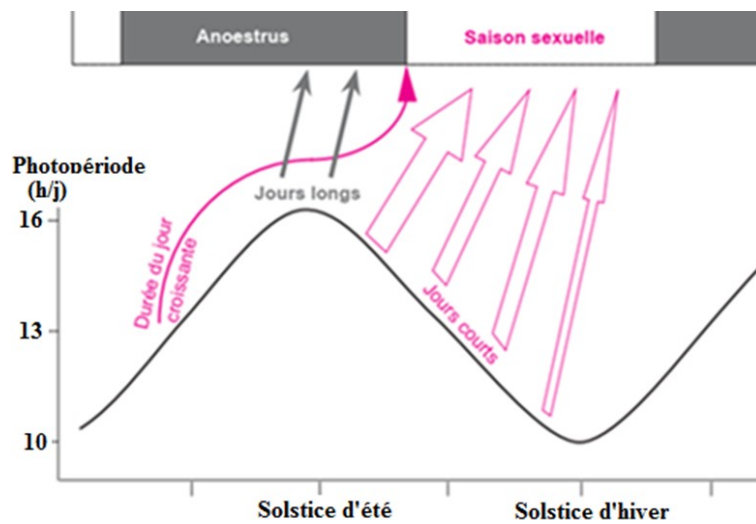


Figure 3 : Saisonnalité de la reproduction chez la brebis (Malpaux *et al.*, 1996)

III.1. Cycle œstral

Le cycle œstral chez la brebis est défini comme l'intervalle de temps qui sépare deux œstrus consécutifs. Sa durée moyenne est de 17 jours et varie selon la race, l'âge, les individus et la période de l'année. Il comporte plusieurs modifications anatomo-physiologiques et comportementales (Mbahaga, 2001; Castonguay, 2018).

Par convention, le jour 0 du cycle correspond arbitrairement au jour du début des chaleurs (œstrus). Le cycle œstral peut être divisé en quatre phases (Bazer, 2020).

➤ **œstrus** : Période pendant laquelle la femelle accepte le chevauchement par le mâle. La durée de l'œstrus varie avec l'âge de l'animal (plus courte chez les agnelles et plus longue chez les brebis), la race (les races prolifiques ont des chaleurs plus longues) (Dudouet, 2003). Pendant cette phase, un follicule dominant présent dans l'ovaire sécrète les œstrogènes. Ces hormones exercent un rétrocontrôle positif sur l'hypothalamus, stimulant ainsi la libération de GnRH

induisant un pic de LH provoquant l'ovulation. La durée des chaleurs varie entre 36 et 40 h (Dunlap, 2018).

- **Pro-œstrus** : Au cours de cette phase, un ou plusieurs follicules sont en voie de maturation. Elle dure 3 à 4 jours (Gayrard, 2018a).
- **Metœstrus** : Cette phase correspond à la formation du corps jaune (CJ) à partir de follicule qui a déjà ovulé. Elle dure 2 jours environ (Gayrard, 2018a).
- **Dioestus** : Au cours de cette phase, il y a la régression du corps jaune et dure en moyenne 10 à 12 jours (Gayrard, 2018a).

III.2. Cycle ovarien

Chez les brebis pubères, l'évolution cyclique des structures ovariennes comprend deux phases distinctes séparées par l'ovulation : une phase folliculaire (ou oestrogénique) et une phase lutéale (ou progestéronique) (Bartlewski *et al.*, 2011).

III.2.1. Phase folliculaire

La phase folliculaire correspond à la croissance accélérée de plusieurs follicules de différentes tailles sous l'effet de différentes hormones hypophysaires. Ceci induit l'augmentation de la sécrétion de l'œstradiol (E2) sécrétée par les follicules, responsable de l'apparition du comportement œstral (chaleurs). Elle dure 3 à 4 jours (Castonguay, 2018).

III.2.2. Ovulation

C'est la libération des ovules contenus dans les follicules matures. Elle se produit entre 20 et 40 h après le début des chaleurs (Castonguay, 2018). Environ 24 heures avant l'ovulation, le pic préovulatoire de LH va provoquer la libération de l'ovocyte et la reprise de sa méiose et provoque le début de la lutéinisation des cellules folliculaires (Baril, 1993).

III.2.3. Phase lutéale

Elle s'étend de l'ovulation jusqu'à la régression fonctionnelle du CJ et dure 13 à 14 jours (Henderson et Robinson, 2008).

L'ovulation est suivie de la transformation des cellules de la granulosa en cellules lutéales formant le CJ qui sécrète de la progestérone (P4) (Cognié *et al.*, 2007). A la fin de cette phase et en absence de fécondation, l'endomètre amorce une sécrétion pulsatile de prostaglandine F2 α (PGF2 α) qui induit la régression fonctionnelle du CJ entre le 13^{ème} et 15^{ème} jour du cycle et induit une diminution de la sécrétion de la P4 (Driancourt *et al.*, 2014).

III.2.3.1. Corps jaune

Le CJ est une glande endocrine qui se forme à partir de la paroi du follicule ovulant. En cas de non gestation, sa régression permet l'apparition d'un nouveau cycle ovulatoire (Sangha *et al.*, 2002). La formation du CJ est issue de la transformation morphologique et fonctionnelle (lutéinisation) des CG et de la thèque interne du follicule ayant ovulé. Cette lutéinisation se traduit par une augmentation très importante de la sécrétion de P4 (Figure 4) (Driancourt *et al.*, 2014).

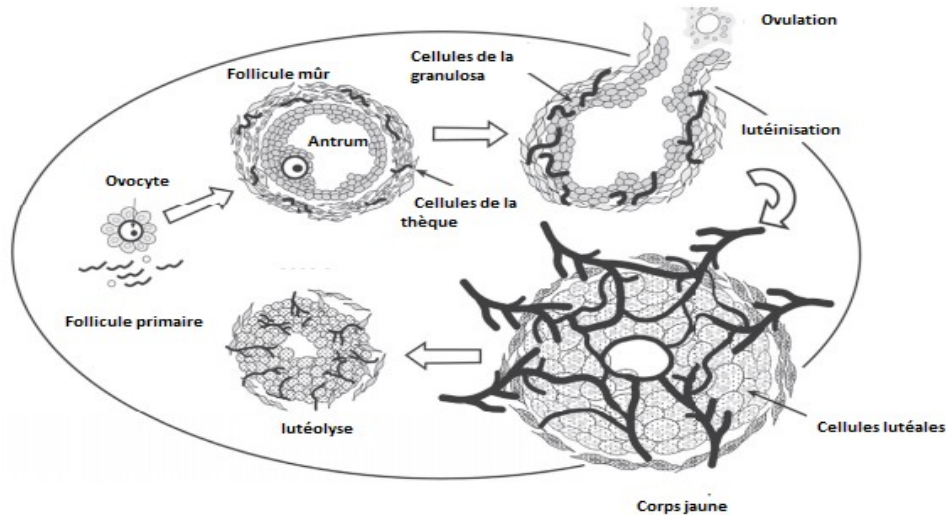


Figure 4 : Evolution du corps jaune chez la brebis (Stouffer et Hennebold, 2006)

La structure du CJ est constituée de deux types de cellules stéroïdiennes : les grandes cellules sont issues des CG et les petites cellules proviennent des cellules de la thèque interne. Les deux types de cellules sont identifiables lors de la formation du CJ. Chez la brebis, les grandes cellules représentent 25 à 35% du volume total du CJ et les petites cellules 12 à 18% et le reste est composé d'éléments vasculaires, de tissu conjonctif et de fibroblastes (Drion *et al.*, 1996).

Chez la brebis, le CJ assure la régulation du cycle œstral et joue un rôle déterminant dans la mise en place et le maintien de la gestation.

Il est qualifié de CJ cyclique, en absence de fécondation. A la fin du cycle, il régresse spontanément par l'action de PGF2 α . Au cours de sa régression, une oblitération des capillaires, une dégénérescence des cellules lutéales et une prolifération du tissu conjonctif. Sa régression aboutit à la formation du *corpus albicans*, conjonctivo-fibreux, de couleur blanchâtre ou jaunâtre, qui persiste sur l'ovaire. En cas de gestation, il est qualifié de CJ gestatif et assure le maintien de cette dernière (Drion *et al.*, 1996).

La principale hormone sécrétée par le CJ est la P4. Il assure également la production d'autres hormones : l'inhibine, l'ocytocine, 17β -œstradiol et la relaxine (Drion *et al.*, 1996).

III.2.3.2. Métabolisme de la progestérone

III.2.3.2.1. Biosynthèse

La P4 est une hormone stéroïdienne à 21 atomes de carbone, de formule chimique $C_{21}H_{30}O_2$ (Taieb et Lachgar, 2011b) (Figure 5a). Elle est synthétisée principalement par le CJ après l'ovulation et sécrétée, à un moindre degré, par la zone fasciculée de la corticosurrénale et le placenta au cours de la gestation (Driancourt, 2001).

Par la stimulation des cellules lutéales, la LH induit la synthèse de la progestérone à partir du cholestérol (Figure 5a et b), apporté par les lipoprotéines de type LDL (Low Density Lipoprotein), qui va être converti en P4 par une chaîne de réactions enzymatiques (Gayrard, 2018b).

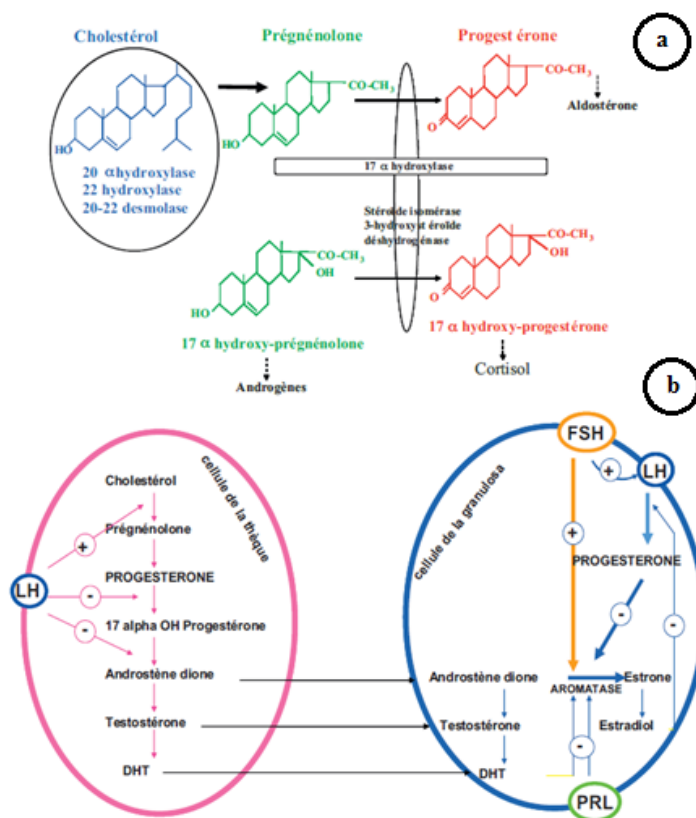


Figure 5 : Biosynthèse (a) et sécrétion (b) de progestérone (Taieb et Lachgar, 2011b)

III.2.3.2.2. Transport

Libérée par les cellules lutéales du CJ, la P4 passe dans la circulation sanguine et est transportée soit sous forme libre et/ou soit liée à des protéines de transport, tel que la transcortine et l'albumine (Hooker et Forbes, 1949).

III.2.3.2.3. Stockage

La P4 liée aux protéines de transport constitue une forme de stockage dans la circulation sanguine. Vu sa nature liposoluble, elle peut être également stocker dans le tissu adipeux (Fotherby, 1964).

III.2.3.2.4. Catabolisme

Le catabolisme de la P4 s'effectue essentiellement dans le foie où, sous l'influence de plusieurs enzymes, elle est transformée en prégnanediol qui sera glycuronoconjugué et éliminée par voies urinaire et biliaire (Taieb et Lachgar, 2011b; Mattos *et al.*, 2017).

IV. Régulation hormonale du cycle sexuel

Les événements physiologiques du cycle sexuel chez la brebis sont contrôlés par la régulation endocrinienne de l'axe hypothalamo-hypophysaire, des glandes sexuelles (ovaires et endomètre utérin) (Norris et Lopez, 2011) (Figure 6) et des glandes annexes (surrénales, foie et glande pinéale) (Constantinescu, 2017b).

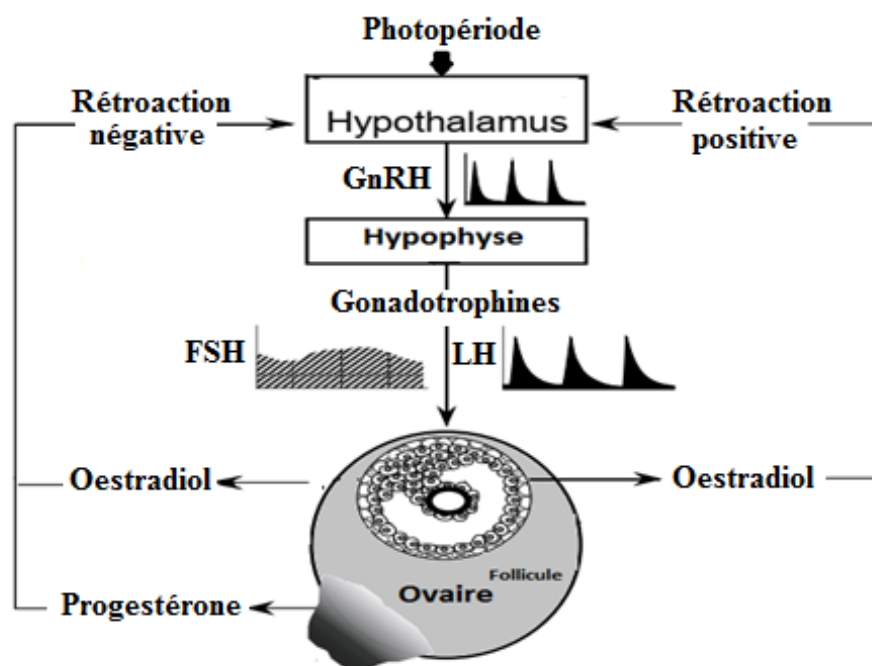


Figure 6 : Contrôle endocrinien de l'activité sexuelle chez la brebis (Blanc *et al.*, 2001)

L'hypothalamus reçoit des informations du cortex cérébral pour libérer la gonadolibérine (GnRH), induisant la libération des hormones folliculostimulantes (FSH) qui atteignent l'ovaire via le sang et stimulent ainsi la croissance folliculaire (Counis *et al.*, 2001).

Les follicules ovariens produisent des E2 qui entraînent des modifications physiologiques et comportementales permettant l'entrée en chaleurs (œstrus) (Monniaux *et al.*, 2009). Après un certain seuil, les E2 exercent un rétrocontrôle positif sur l'hypothalamus induisant le pic de LH qui provoque la maturation finale du follicule ovulatoire et l'ovulation (Norris et Lopez, 2011).

Après l'ovulation, les follicules ovulés se transforment en CJ produisant de la P4 qui exerce un rétrocontrôle négative sur l'hypothalamus en inhibant la sécrétion de la GnRH et en empêchant ainsi la croissance finale des autres follicules (Castonguay, 2018).

A la fin du cycle, PGF2 α synthétisée par l'utérus provoque la régression des CJ en inhibant la sécrétion de la P4, permettant ainsi le démarrage d'un nouveau cycle (Abecia *et al.*, 2012).

Les principales hormones de régulation du fonctionnement ovarien durant le cycle œstral sont représentées par la (Figure 7).

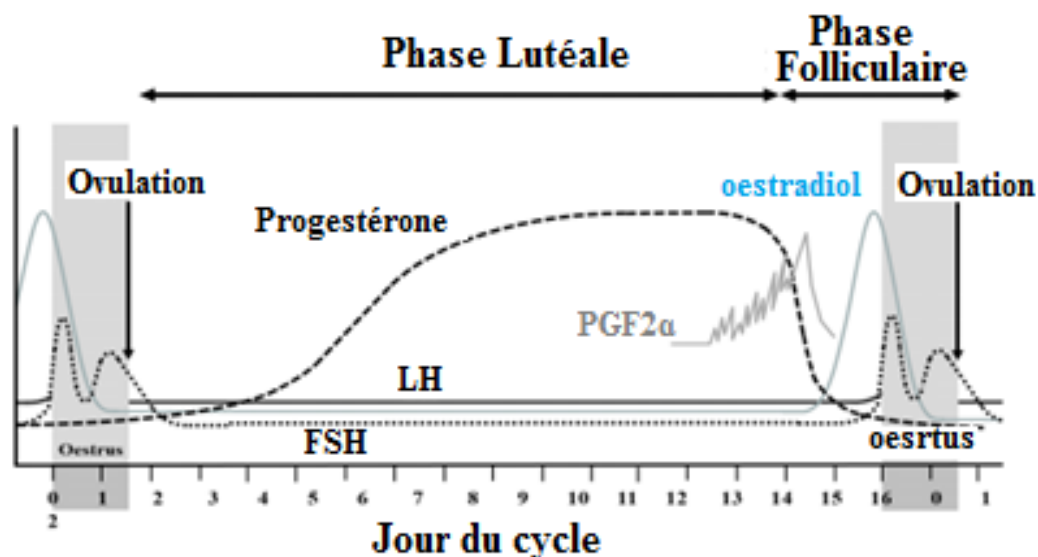


Figure 7 : Variations hormonales lors d'un cycle sexuel chez la brebis (Castonguay, 2018)

Chapitre II : Méthodes de synchronisation des chaleurs

Chez les ovins, la présence d'une période de repos sexuel constitue une contrainte à la conduite de la reproduction. Néanmoins, pendant l'ancestrus, des techniques particulières ont été mise au point pour maîtriser l'activité sexuelle des femelles et de provoquer l'apparition des chaleurs et l'ovulation. Les stratégies de maîtrise de la reproduction (Deblay, 1995; Thimonier *et al.*, 2000; Leborgne et Tanguy, 2014; Lurette *et al.*, 2016) ont pour objectifs :

- L'optimisation de la fertilité, de la fécondité et de la taille de portée (prolificité).
- Le choix de la période, de la fréquence et le groupage des mises bas.
- La diminution des périodes improductives.
- L'amélioration génétique des caractères de production et des caractères fonctionnels via les schémas de sélection.
- Pratiquer l'insémination artificielle.

I. Méthodes de synchronisation des chaleurs

Les techniques de synchronisation des chaleurs regroupent principalement la méthode zootechnique (effet bélier) et les méthodes hormonales (Prache *et al.*, 2014).

I.1. Méthode zootechnique : Effet bélier

Le principe de cette méthode repose sur le fait qu'après une séparation des 2 sexes pour une durée au moins d'un mois, l'introduction des béliers dans le troupeau de brebis en fin de période d'ancestrus saisonnier vont pouvoir réactiver l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique de la brebis, via des signaux sensoriels (notamment olfactifs). Cette introduction de béliers entraîne dans une grande partie des femelles des ovulations silencieuses dans les 2 à 4 jours après son introduction. Ce premier moment d'ovulation peut être suivi environ 17 jours plus tard, d'un second moment d'ovulation associé à un comportement de chaleurs. Cependant, dans certains cas, ce premier moment d'ovulation est suivi d'un cycle ovulatoire de durée courte et constante (environ 6 jours) puis d'un nouveau moment d'ovulation généralement silencieux également. Ce n'est qu'après un deuxième cycle ovulatoire de durée normale qu'apparaissent alors l'œstrus et l'ovulation. Ainsi, il existe deux pics d'apparition des chaleurs, respectivement 18-20 jours et 24-26 jours après introduction des béliers. L'intérêt de cette méthode est d'avancer la saison sexuelle et surtout de grouper les chaleurs sur une période de 8 à 10 jours (Figure 8) (Thimonier *et al.*, 2000; Lurette *et al.*, 2016; Pellicer-Rubio *et al.*, 2019).

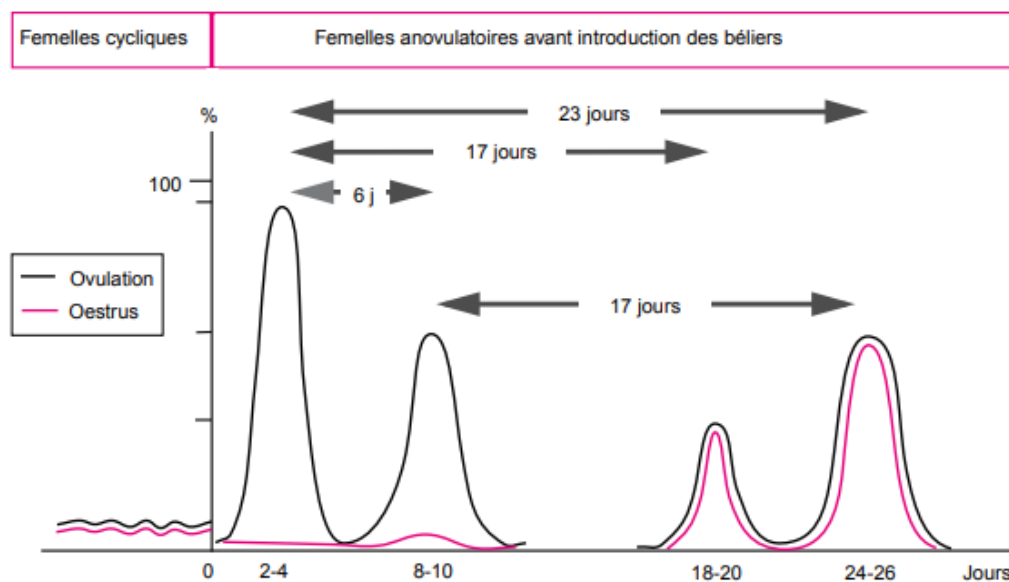


Figure 8 : Représentation schématique de la réponse à l'effet bélier chez la brebis (Thimonier *et al.*, 2000)

I.2. Méthodes hormonales

Les connaissances sur la régulation hormonale du développement folliculaire, au cours du cycle œstral ont permis de mettre au point plusieurs méthodes de synchronisation des chaleurs. Leurs principes d'utilisation sont principalement les suivants :

- Blocage du retour normal de l'oestrus et de l'ovulation par l'utilisation de la progestérone ou des progestagènes.
- Raccourcissement de la phase lutéale par l'utilisation d'agents lutéolytiques.

Il existe plusieurs types et combinaisons possibles de traitement de synchronisation des chaleurs. Par conséquent, seulement les principaux traitements seront présentés (Fierro *et al.*, 2013).

I.2.1. Utilisation de la progestérone

La progestérone commercialisée sous la dénomination de CIDR (Control Internal Drug Release) et les progestagènes sous forme d'éponge imprégnée de progestagènes. Les traitements à base de progestagène sont utilisés surtout en contre saison sexuelle (anœstrus) mais aussi en saison sexuelle (Fierro *et al.*, 2013).

➤ **CIDR :** C'est un dispositif contenant de la P4 naturelle (Figure 9a). Le CIDR est inséré dans le vagin de la brebis pour une période de 7 à 14 jours. Une fois inséré, le CIDR libère de la P4 qui est absorbée par la muqueuse vaginale et bloque l'ovulation. On simule ainsi les conditions

hormonales de la phase lutéale du cycle sexuel. Au moment du retrait du CIDR, une injection d'eCG (equine chorionic gonadotropine) (PMSG = Pregnant Mare's Serum Gonadotrophin) est réalisée pour favoriser la croissance et l'ovulation. Les chaleurs apparaissent entre 12 à 48h après retrait (Figure 9b) (Castonguay, 2004).

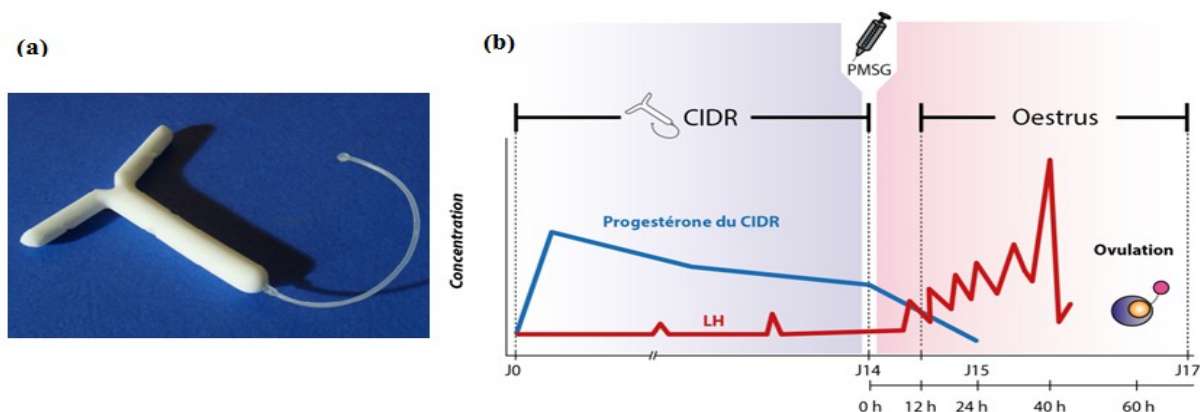


Figure 9 : Photo d'un CIDR (a) et de son principe d'action (b) (Castonguay, 2004)

➤ **Eponge vaginale** : C'est une éponge en polyuréthane imprégnée d'un analogue de synthèse de P4, MAP (acétate de médroxyprogestérone) ou FGA (acétate de fluorogestone) (Figure 10a) utilisée pour bloquer l'ovulation (Cognié, 1988). C'est la méthode la plus utilisée pour contrôler le cycle sexuel chez la brebis (Castonguay, 2004). L'utilisation d'une éponge vaginale associée à une dose de PMSG est la plus courante dans nos élevages (Lassoued, 2011). Après une pose intravaginale d'une durée de 12 à 14 jours, une injection intramusculaire d'eCG (PMSG) est réalisée au moment de retrait de l'éponge (Figure 10b) (Brice *et al.*, 2002; Fatet *et al.*, 2008) pour favoriser la croissance folliculaire et l'ovulation (Cognié, 1988). Les chaleurs apparaissent entre 24 à 48h après retrait.

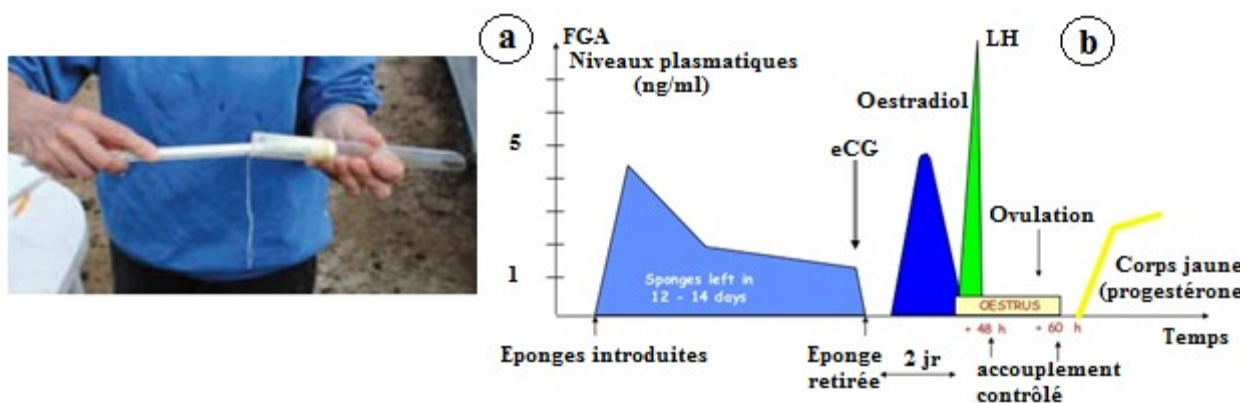


Figure 10 : Photo de mise place de l'éponge de FGA dans son applicateur (Sagot et Pottier, 2011) (a) et de son principe d'action (b) (Rekik, 2014)

I.2.2. Prostaglandines

L'action lutéolytique de la prostaglandine ne peut s'exercer qu'en présence d'un corps jaune fonctionnel. En effet, chez les ovins, deux jours après ovulation, le CJ est réfractaire à l'action lutéolytique des prostaglandines (Fierro *et al.*, 2013).

L'administration de prostaglandines F2 α (PGF2 α) ou d'un de ses analogues entre le 5^{ème} et 14^{ème} jour du cycle œstral induit la lutéolyse. Les protocoles de synchronisation des chaleurs d'un lot de brebis qui sont à différents stade du cycle nécessite donc en 2 injections avec un intervalle de 7 à 12 jours (Yu *et al.*, 2019). Les brebis seront en œstrus en moyenne 48 heures après la deuxième injection de PGF2 α (Baril *et al.*, 1993; Grimard *et al.*, 2003; Fierro *et al.*, 2013). Ce traitement est indiqué chez les brebis uniquement en saison sexuelle.

II. Détection des chaleurs

Les signes d'œstrus chez la brebis sont relativement peu visibles. La détection des chaleurs nécessite la présence d'un bélier détecteur. Une brebis en chaleurs est souvent agitée, cherche la compagnie du mâle et se laisse renifler, en agitant souvent la queue afin de répandre son odeur (figure 11a) (Ortman, 2000). La vulve peut être tuméfiée, congestionnée et présentée un écoulement muqueux. Le mâle flaire les femelles en chaleurs et fait un rictus en relevant les lèvres supérieures (Hanzen, 1981). C'est l'effet Flehmen (Figure 11b) qui permet à partir de l'organe voméro-nasal de détecter les phéromones sexuelles présentes dans les urines des brebis (Blissitt *et al.*, 1994; Gelez et Fabre-Nys, 2006; Meyer, 2009).

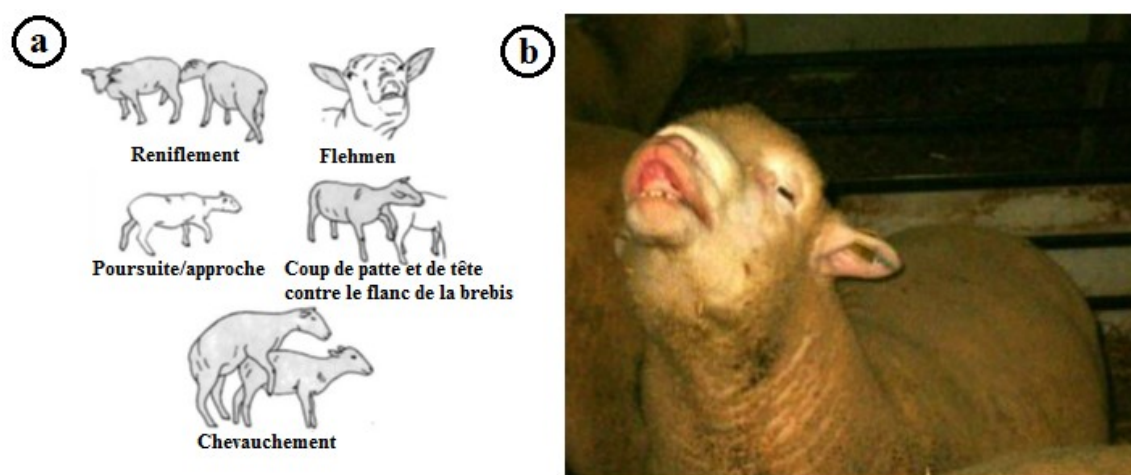


Figure 11 : Comportement sexuel (a) et le phénomène de «flehmen» (b) chez le bélier (Gordon, 1997)

Toutefois, l'acceptation du chevauchement avec immobilisation est le signe le plus caractéristique d'une brebis en œstrus (Gayraud, 2018b).

Chapitre III : Méthodes d'évaluation de la progestérone

L'évaluation des niveaux de P4 dans l'organisme constitue un paramètre important pour connaître le statut physiologique, l'identification et le suivi du cycle œstral chez la brebis.

I. Étape pré-analytique : prélèvement

Les prélèvements biologiques peuvent être obtenus au niveau du sang (Gao *et al.*, 1988; Mekonnin *et al.*, 2017), du lait (Gao *et al.*, 1988; Moore et Spahr, 1991; Mekonnin *et al.*, 2017), de la salive (Sorgo *et al.*, 1983; Gao *et al.*, 1988), des urines (Stanczyk *et al.*, 1997; Mekonnin *et al.*, 2017) et des fèces (Čebulj-Kadunc *et al.*, 2000) pour déterminer le taux de P4.

Le prélèvement sanguin est effectué après une bonne contention de l'animal soit au niveau de la veine jugulaire ou de la veine coccygienne constituant ainsi une méthode invasive et moins facile pour l'éleveur qu'un prélèvement de lait. Par contre, les autres types de prélèvement sont réalisés facilement par l'éleveur et sont non invasifs pour l'animal.

Puis son dosage peut être réalisé par des kits qui permettent d'estimer le taux à partir soit du plasma ou du sérum (Eckersall et Harvey, 1987).

De préférence, la P4 est dosée dans le sérum. Cependant, en fonction de la technique de dosage (traceur), le plasma peut être utilisé (héparine, EDTA, etc...). Attention, l'héparine peut perturber la réaction antigène-anticorps ; l'EDTA, le fluorure de sodium, le citrate sont à proscrire pour les techniques révélées en fluorescence ; l'EDTA inhibe la phosphatase alcaline.

➤ Prétraitement avant analyse : Conditions de transport et de conservation

La P4 est stable, aussi bien dans le sang total que dans le sérum, durant au moins 72 heures à 20-25°C ou à 4°C. Congelée à -20 °C ou -80 °C, elle est stable pendant plusieurs mois. Les congélations et décongélations répétées sont à proscrire.

Les taux de P4 peuvent être influencés par l'hémolyse, la lipémie ou la turbidité de l'échantillon.

II. Méthodes de dosage de la progestérone

Le dosage de progestérone n'est donc possible qu'à l'aide de techniques d'immunodosages (immunoessais) (Figure 12) telle que la technique radio-immunoassay (RIA) et la technique immuno-enzymatique assay (IEA) (Fèvre *et al.*, 1966; Thimonier, 2000; Kozicki *et al.*, 2018).

Ces techniques sont basées sur la compétition entre une quantité définie immunologiques d'antigène (Ag) marqué et l'Ag à doser pour un nombre limité de sites anticorps (Ac), il est nécessaire que le traceur et l'Ag à doser aient une immunoréactivité analogue (affinité identique pour l'Ac). Les premières méthodes utilisent des traceurs radioactifs (^{125}I , ^3H). Aujourd'hui, on a

plutôt recours à toute une série de traceurs non isotopiques qui ont permis le développement de différentes méthodes dont certaines sont automatisées. La figure 12 présente les différents systèmes, plus ou moins automatisés qui existent actuellement sur le marché. Ces systèmes sont classés en fonction du système de révélation utilisé (Taieb et Lachgar, 2011a).

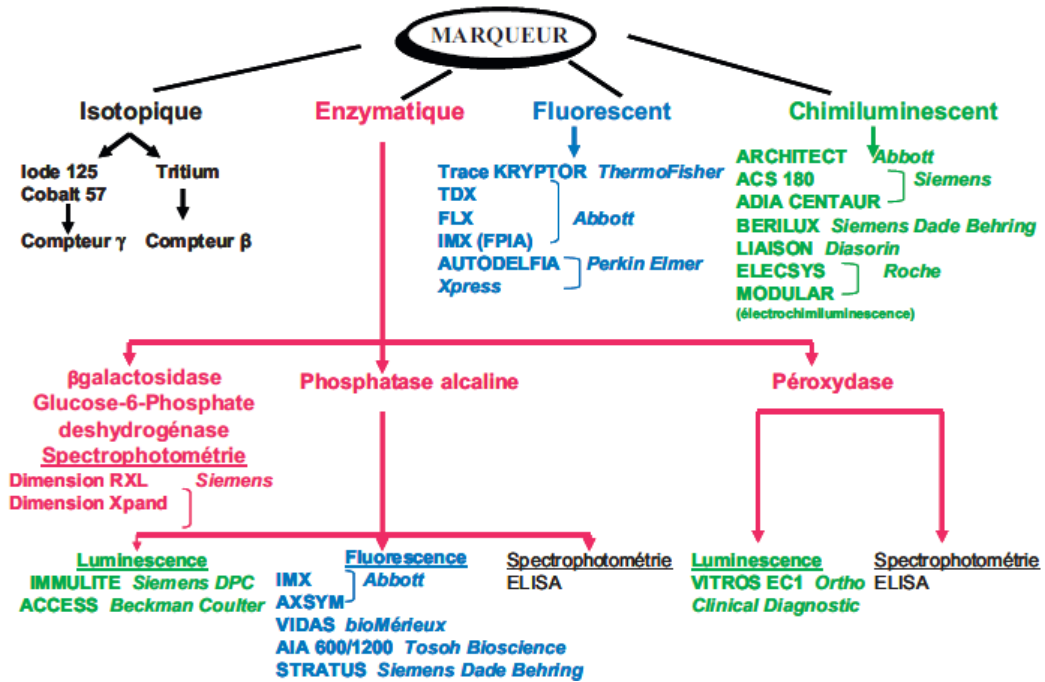
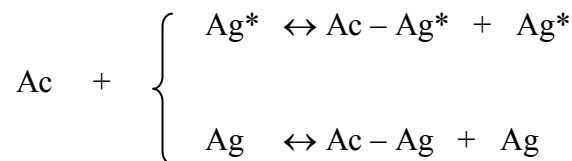


Figure 12 : Différents marqueurs et systèmes de révélation utilisés en immunoanalyse (Taieb et Lachgar, 2011a)

II.1. Méthode radio-immunologique

Les dosages radio-immunologiques(RIA) sont des méthodes sensibles et spécifiques des hormones à doser. Ils nécessitent d'utilisation des Ac ou des Ag spécifiques radioactif (Janeway *et al.*, 2018).

Le principe de la technique RIA est basé sur le déplacement d'un équilibre établi entre l'Ac et l'Ag qui est, soit l'hormone marquée soit l'hormone froide connue (courbe d'étalonnage) soit l'hormone à doser contenue dans l'échantillon biologique (Figure 13).



* : radioactivité ; Ag : Antigène ; Ac : anticorps

Figure 13 : Principe fondamental de la réaction de compétition anticorps-antigène dans le cas de la méthode RIA

II.2. Méthodes immuno-enzymatiques

Les dosages immuno-enzymatiques sont couplés à une réaction catalysée par une enzyme en utilisant un substrat enzymatique qui peut donner un signal colorimétrique (ELISA : Enzyme-Linked Immuno-sorbent Assay) ou un signal fluorescent (ELFA : Enzyme Linked Fluorescent Assay) (Paolicchi *et al.*, 2020).

II.2.1. ELISA

Dans les années 1970, une nouvelle technique s'est développée permettant de remplacer la radioactivité par l'utilisation de l'activité enzymatique. C'est le concept de la méthode ELISA : enzyme linked immuno-sorbent assay qui permet l'utilisation de substrats chromogène et une visualisation de la présence de complexes Ag-Ac par l'apparition de produits colorés pouvant être quantifiés au spectrophotomètre (Talbot, 1989; Goethe, 2017).

Il existe quatre principaux types de test ELISA : direct, indirect, compétitif et sandwich (Figure 14).

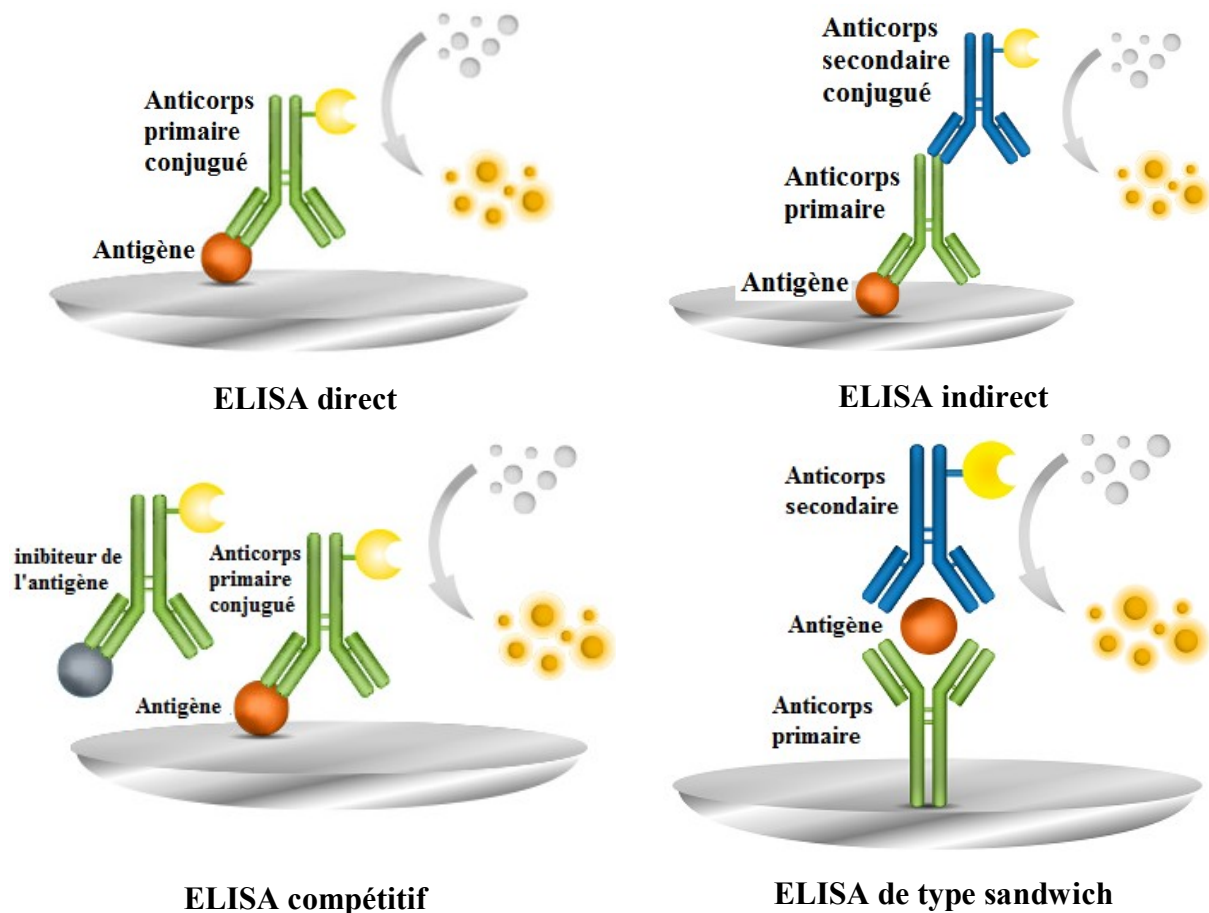


Figure 14 : Représentation schématisques des principaux des différents types de dosage par ELISA (<https://fr.moleculardevices.com/applications/enzyme-linked-immunosorbent-assay-elisa#gref>)

II.2.2. ELFA

C'est une technique qui permet de quantifier des signaux de fluorescence et d'obtenir des résultats plus sensibles, elle met en œuvre une enzyme qui convertit un substrat enzymatique fluorogène en un produit de réaction fluorescent (Paolicchi *et al.*, 2020) .

Cette technique est mise au point par le groupe Biomérieux. L'hormone en question est dosée à l'aide d'un automate d'immunoanalyses multiparamétrique, mondialement reconnu, le VIDAS. C'est un automate de laboratoire qui s'appuie sur la technologie approuvée ELFA.

Le principe VIDAS consiste en l'interaction de deux éléments : le cône (phase solide) **SPR®** dont la surface interne est recouverte d'antigènes ou d'anticorps et les **Barrettes**, composées de plusieurs puits et contenant la quantité exacte de réactifs nécessaires pour le test.

Les réactions se produisent dans le cône en deux étapes clés :

- réaction immunologique
- réaction enzymatique

L'opération complète est totalement automatisée : de l'incubation, aux lavages et à la lecture finale. Le temps d'incubation et le nombre de cycle de lavage sont optimisés pour chaque paramètre afin d'assurer une performance optimale.

La gamme VIDAS® est appréciée dans le monde entier pour sa simplicité, sa souplesse, sa précision et son large menu de paramètres (Puel et Mansuy, 2001).

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

Les ovins sont des animaux grégaires par excellence ; ce caractère permet de constituer des troupeaux de plusieurs centaines de têtes. Leur principale caractéristique est l'excellente résistance et adaptation à des conditions difficiles du milieu (Feliachi, 2003). Les moutons domestiques semblent dériver des moutons sauvages asiatiques (Mouflon). Ils sont présents dans la zone saharienne depuis l'Holocène (Le Berre, 1990).

En Algérie, le cheptel ovin avec un effectif de 26,4 millions (MADRP, 2017), représente un important patrimoine animal et source de protéines.

• **Systématique des ovins** (El-Hentati *et al.*, 2014)

Embranchement	: Vertébrés
Classe	: Mammifères
Super ordre	: Ongulés
Ordre	: Artiodactyles
Famille	: <i>Bovidae</i>
Genre	: <i>Ovis</i> (Linnaeus, 1758)
Espèce	: <i>Ovis ovis</i>

• **Description de la race D'Man**

Cette race est caractérisée par (Figure 15) :

- Une laine grossière couvrant le haut du corps et la queue
- Couleur de la laine : noire ou brun foncé
- Cornes : petites, fines, ou n'existe pas
- Oreilles : grandes et pendantes
- Profil : convexe
- Queue : fine, longue à extrémité blanche
- Taille : petite, conformation défectueuse
- Laine : ne couvre ni la poitrine, ni le ventre, ni les pattes
- Premier agnelage : 10-12 mois
- Prolificité : 150 à 250%
- Absence d'œstrus saisonnier ou de lactation (Berger *et al.*, 1989; Benmessaoud, 1992; Chellig, 1992)



Figure 15 : Brebis de race D'Man

L'aire géographique de répartition de cette race est la région Sud Marocaine et une grande partie du Sud-ouest du Sahara Algérien (Béchar, Saoura, Gourara, Touat et El-Menia).

I. Objectif de l'étude

L'objectif de notre étude est d'évaluer la progestéronémie au cours du cycle œstral, afin de déterminer la durée et la concentration de P4 aux différents stades du cycle.

II. Lieu et période d'étude

Notre travail porte sur un élevage ovin, semi-intensif de la station expérimentale d'El-Meniaa (anciennement appelée El Goléa) (30° 34' N., 02° 52' E.), commune située à 267 km au sud-ouest de Ghardaïa.

III. Matériel animal

Pour notre expérimentation, un lot de brebis de la race ovine D'Man a été mis en place. Les brebis sont soumises aux conditions de température et de lumière naturelles et nourries à l'orge, luzerne fraîche et paille d'orge. L'eau et la pierre à lécher sont mises à leur disposition en *ad libitum*.

IV. Méthodes utilisées

IV.1. Protocole de synchronisation des chaleurs

Le protocole de synchronisation appliqué en saison de reproduction sur 5 antenaises de race D'Man, âgées d'un an et demi. Le protocole consiste en 2 injections intramusculaires (I.M.) de 125 µg de cloprosténol (Estrumate), analogue de synthèse des PGF2 α , avec un intervalle de 11 jours.

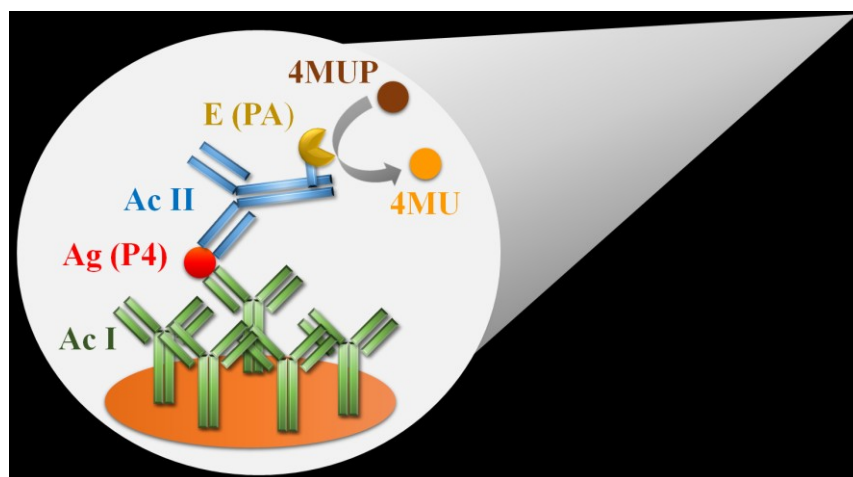
IV.2. Prélèvement sanguin

Des prélèvements sanguins sont réalisés au niveau de la veine jugulaire, à 10 h (afin d'éviter l'influence du rythme nyctéméral), une fois par jour durant 21 jour à partir du 2^{ème} jour après la dernière injection des PGF2 α . Le sang recueilli, dans des tubes "vacutainer" (sous vide et contenant de l'héparinate de sodium), est immédiatement centrifugé à 4000 tours/min pendant 10 min. Le plasma est aliquoté et ensuite congelé à -20°C, puis transporté dans de l'azote liquide jusqu'à Alger au LRZA (Laboratoire de Recherche sur les Zones Arides).

IV.3. Protocole de dosage de la progestéronémie par la technique ELFA

IV.3.1. Principe du dosage

Le principe de dosage associe la méthode immuno-enzymatique par compétition à une détection finale en fluorescence (ELFA).



Ac I : Anticorps primaire, Ac II : Anticorps secondaire dérivé de la progestérone, Ag (P4) : Antigène (progestérone), E (PA) : Enzyme phosphate alcaline, 4 MUP : 4-méthyl-umbelliferyl phosphate, 4 MU : 4-méthyl-umbellifère

Figure 16 : Principe de dosage ELFA

La figure 17 schématise une réaction connue d'activation d'un substrat enzymatique fluorogène qui est le 4-méthyl-umbelliferyl phosphate (4-MUP) en 4-méthyl-umbellifère (4-MU) et en ion hydrogénophosphate HPO_4^{2-} (Pi pour phosphate inorganique sous toutes ses formes) par l'enzyme phosphatase alcaline (Fatet *et al.*).

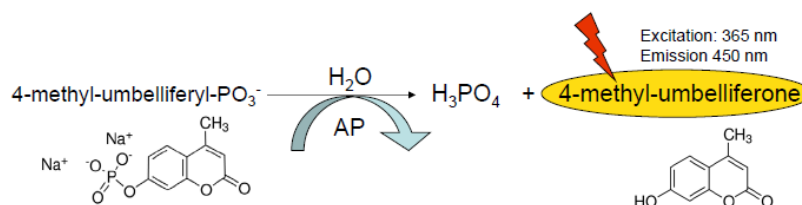


Figure 17 : Représentation schématique de la réaction enzymatique de la phosphatase alcaline

IV.3.2. Composition du kit de dosage

La composition (Figure 18) et la reconstitution des réactifs du Kit de dosage de la P4 sont rapportés dans les tableaux 2 et 3.

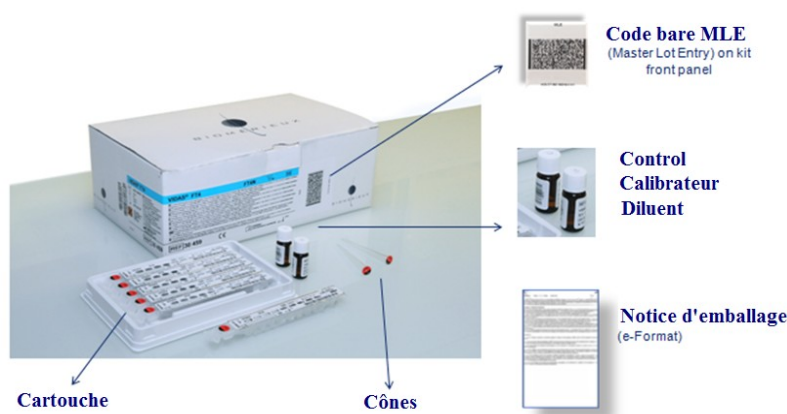


Figure 18 : Composition du kit de dosage de la P4 (Biomérieux)

Tableau 2 : Composition et reconstitution des réactifs du Kit de dosage de la P4

60 cartouches PRG	STR	Prêtes à l'emploi
60 cônes PRG 2 x 30	STR	Prêts à l'emploi. Cônes sensibilisés par des <i>immunoglobulines monoclonales de souris anti-progestérone</i> .
Contrôle PRG 1 x 3 ml (lyophilisé)	C1	Reprendre par 3 ml d'eau distillée. Attendre 5 à 10 minutes puis homogénéiser. Après reprise, stable 2 semaines à 2-8°C, ou jusqu'à la date de péremption du coffret à -25 ± 6 °C. Les données MLE fournissent l'intervalle de confiance en <i>ng/ml</i> ("Control C1 Dose Value Range").
Calibrateur PRG 2 x 4 ml (lyophilisé)	S1	Reprendre par 4 ml d'eau distillée. Attendre 5 à 10 minutes puis homogénéiser. Après reprise, stable 2 semaines à 2-8°C, ou jusqu'à la date de péremption du coffret à -25 ± 6 °C. Les données MLE fournissent la concentration en <i>ng/ml</i> ("Calibrator (S1) Dose Value") ainsi que l'intervalle de confiance en "Relative Fluorescence Value (RFV)" (Calibrator (S1) RFV Range).

- **Cône**

Le cône est sensibilisé au moment de la fabrication par des *immunoglobulines monoclonales de souris anti-progestérone*. Chaque cône est identifié par le code PRG (Figure19). Retirer du sachet uniquement le nombre de cônes nécessaires et refermer complètement le sachet après ouverture.



Figure 19 : Cône progestérone Vidas (Biomérieux)

• Cartouche

La cartouche est composée de 10 puits (Figure 20) recouverts d'une feuille d'aluminium scellée et étiquetée (Tableau 3). L'étiquette comporte un code à barres reprenant principalement le code du test, le numéro de lot et la date de péremption du coffret. Le premier puits comporte une partie prédécoupée pour faciliter l'introduction de l'échantillon. Le dernier puits est une cuvette permettant la lecture en fluorimétrie. Les différents réactifs nécessaires à l'analyse sont contenus dans les puits intermédiaire

Tableau 3 : Description de la cartouche PRG du kit

Puits	Réactifs
1	Echantillon.
2- 3 -4	Puits vides.
5	Conjugué : dérivé de la progestérone marqué à la phosphatase alcaline + azoture de Na 0,9 g/l (600µl)
6	Tampon de lavage : Tris-NaCl (0,05 mol/l) pH 7,4 + azotures de Na 0,9 g/l (600µl)
7	Tampon de lavage : Phosphate de sodium (0,1 mol/l) + NaCl (0,3 mol/l) pH 7,5 + azoture de Na 0,9 g/l (600µl).
8	Diluant : Phosphate de Na (0,1 mol/l) pH 7,5 + sérum de veau + azoture de Na 0,9 g/l (600µl).
9	Tampon de lavage : diéthanolamine DEA* (1,1 mol/l soit 11,5 %) pH 9,8 + azoture de Na 1 g/l (600µl).
10	Cuvette de lecture avec substrat : 4-Méthyl-umbelliferyl phosphate (0,6 mmol/l) + DEA** (0,62 mol/l soit 6,6 %, pH 9,2) + azoture de Na 1 g/l (300µl).



SPR* : Solid Phase Receptacle (phase solide)

Figure 20 : Cartouche Vidas (Biomérieux)

* et ** : Danger

IV.3.3. Méthode opératoire

La méthode opératoire consiste à :

- saisir les données du code barre du kit (MLE ou **Master Lot Entry**),
- réaliser une calibration de l'instrument vidas
- réaliser le dosage de l'échantillon inconnu.

IV.3.3.1. Saisie des données MLE

A l'ouverture du kit, lisez le code-barres MLE (les spécifications) avec un lecteur de code-barres externe (Figure 21), de gauche à droite, jusqu'au signal de validation.



Figure 21 : Lecteur de code-barres (Biomérieux)

Note : ces spécifications ne sont entrées qu'une seule fois pour chaque lot.

IV.3.3.2. Calibration

La calibration, à l'aide du calibrateur fourni dans le kit, doit être effectuée à l'ouverture de chaque nouveau lot après entrées des spécifications du lot puis tous les 14 jours. Cette opération permet d'ajuster la calibration à chaque instrument et à l'évolution éventuelle du réactif dans le temps.

Le calibrateur, identifié par S1, est analysé en triple (Tableau 2). La valeur du calibrateur doit être comprise dans les limites de RFV ("Relative Fluorescence Value") fixées. Si ce n'est pas le cas, refaire la calibration.

IV.3.3.3. Réalisation du dosage

Les étapes du dosage de la P4 dans le plasma sont comme suit :

1. Sortir du réfrigérateur uniquement les réactifs nécessaires et les laisser 30 minutes à température ambiante avant utilisation.
2. Utiliser un cône "PRG" et une cartouche "PRG" pour chaque échantillon, contrôle ou calibrateur à tester. Vérifier que le sachet de cônes a été refermé complètement après chaque utilisation.
3. Le test est identifié par le code "PRG" sur l'instrument. Le calibrateur identifié obligatoirement par 'S1', doit être utilisé en triple et le contrôle est identifié par "C1".
4. Homogénéiser à l'aide d'un agitateur de type vortex le calibrateur, le contrôle et les échantillons plasmatiques.
5. Distribuer **200 µl** d'échantillon, de calibrateur et de contrôle dans le puits échantillon (Figure 22).



Figure 22 : Distribution d'échantillon de calibrateur et de contrôle (Biomérieux)

- Placer dans le vidas les cônes "PRG"(Figure 23a) et les cartouches "PRG" (Figure 23b) aux emplacements indiqués à l'écran.



Figure 23 : Placement des cônes (a) et des cartouches (b) «PRG» dans le vidas (Biomérieux)

- Démarrer l'analyse (voir Manuel d'utilisation du Vidas). Toutes les étapes sont alors gérées automatiquement par le Vidas.
- Reboucher les flacons et les remettre à la température préconisée après pipetage.
- Les résultats sont obtenus en 45 minutes environ. A la fin de l'analyse, retirer les cônes et les cartouches de l'instrument.
- Eliminer les cônes et cartouches utilisés dans un récipient approprié.
- La fluorescence est lue directement dans l'appareil Vidas (Figure 24).



Figure 24 : Appareil vidas (Biomérieux)

IV.3.3.4. Calcul et expression des résultats

Dès que le test est terminé, les résultats sont analysés automatiquement par le système informatique. L'appareil effectue deux mesures de fluorescence dans la cuvette de lecture pour chacun des tests. La première lecture prend en compte le bruit de fond dû à la cuvette substrat avant mise en contact du substrat avec le cône. La seconde lecture est effectuée après incubation du substrat dans le cône. Le calcul de la concentration après extrapolation de la valeur relative de fluorescence (RFV) à partir de la courbe d'étalonnage (Figure 25) ajustée autrement dit le RFV de l'échantillon est comparé à l'étalonnage stocké en mémoire (même numéro de lot) et traduit quantitativement en concentration.

Le résultat final de l'échantillon est exprimé en ng/ml sur la feuille de résultats.

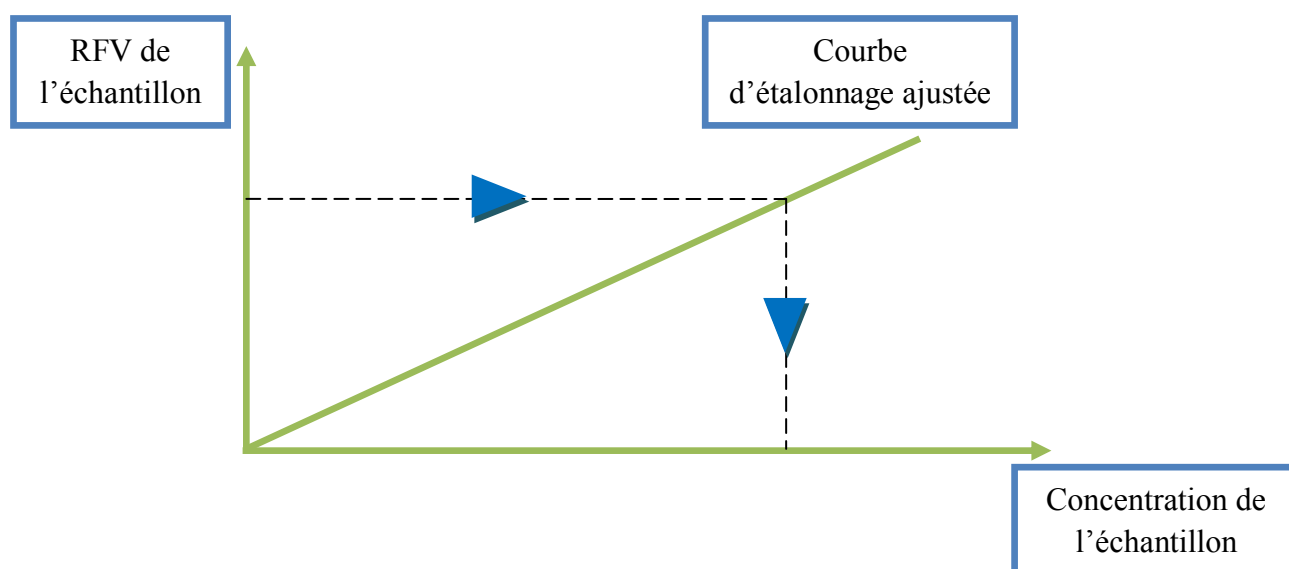


Figure 25 : Courbe d'étalonnage

IV.4. Validité de la technique de dosage

Le domaine de mesure du réactif VIDAS Progestérone s'étend de 0,25 à 80 ng/ml.

Les critères de validité de la technique sont :

IV.4.1. Spécificité

Un dosage est spécifique si aucune autre substance présente dans l'extrait à doser ne modifie son exactitude et ceci est démontré par les tests de réactions croisées de la molécule spécifique (qui peut être un Ac ou une protéine liante) avec d'autres stéroïdes.

- Le dosage de P4 est dit spécifique car l'Ac anti-progestérone utilisé croise 100% avec la progestérone (Tableau 4).

Tableau 4 : Pourcentages de réactions croisées de quelques stéroïdes avec l'anticorps anti-progestérone

Composés testés	Pourcentages de réactions croisées de l'anticorps anti-progestérone
Progestérone	100,00
20 α -Hydroxyprogestérone	0,03
6 β -Hydroxyprogestérone	0,29
16 α -Hydroxyprogestérone	0,20
17 α - Hydroxyprogestérone	1,18
Déoxycorticostérone	1,15
Corticostérone	0,09
Testostérone	0,01

IV.4.2. Sensibilité

La sensibilité (ou limite de détection) est définie comme étant la plus petite concentration en progestérone significativement différente de la concentration zéro avec une probabilité de 95% : 0,25 ng/ml. Cette sensibilité dépend du courbe étalon.

IV.4.3. Précision et exactitude

Une méthode est précise et exacte si ses coefficients de variations ne dépassent pas 15% (Auletta *et al.*, 1974; Orczyk *et al.*, 1974).

L'expression pour calculer le coefficient de variation (C.V.) est la suivante :

$$CV = \frac{\text{Déviation standard}}{\text{Moyenne}} \times 100$$

Les valeurs obtenues sont de 12,05% pour les coefficients de variations intra-dosages et de 10,45% pour les coefficients de variations inter-dosages (Tableau 5).

Tableau 5 : Paramètres de précision et d'exactitude

Paramètres	Coefficients de variations			
	Intra-dosage		Inter-dosage	
	Moyenne (ng/ml)	CV (%)	Moyenne (ng/ml)	CV (%)
Echantillons				
1	2,21	5,7	2,22	6,2
2	10,14	3,8	3,84	4,8
3	21,66	3,8	9,97	3,7
4	45,10	4,0	21,93	3,8
5	/	/	44,96	3,1
Moyenne	12,05		10,45	

V. Analyse statistique des résultats

Les résultats numériques sont représentés sous forme de moyenne arithmétique accompagnée de l'erreur standard à la moyenne (ESM)

- **Moyenne arithmétique** : $X = \frac{\sum x_i}{n}$

- **Erreur standard à la moyenne** : $ESM = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$ avec $\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$

Où : x_i : valeurs individuelles ; n : nombre de valeurs ; σ : écart-type

- La validité statistique des différences entre les moyennes de deux séries expérimentales, est calculée par le **test «t» de Fisher-Student**

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \text{ Avec } S^2 = \sqrt{\frac{\sum (x_{1i} - \bar{x}_{1i})^2 + \sum (x_{2i} - \bar{x}_{2i})^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

Où : \bar{X}_1 et \bar{X}_2 : valeurs moyennes arithmétiques de chaque série

x_{1i} : valeurs individuelles de la première série

x_{2i} : valeurs individuelles de la deuxième série

n_1 et n_2 : nombre de valeurs de chaque série

- La probabilité «p» est déterminée sur la table de distribution des «t» en fonction du degré de liberté ($n_1 + n_2 - 2$) ; si :
 - $p > 0,05$: résultat non significatif
 - $p < 0,05$: résultat significatif (*)
 - $p < 0,01$: résultat très significatif (**)
 - $p < 0,001$: résultat hautement significatif (***)

Résultats et discussion

Les résultats et discussion du présent travail sont obtenus à partir d'une analyse et synthèse de plusieurs articles scientifiques (Tableau 6) qui traitent de l'évolution de la P4 et de la durée du cycle œstral chez la brebis.

Tableau 6 : Synthèse des articles bibliographiques sur l'évolution de la P4 au cours du cycle œstral chez les ovins

Références bibliographiques	Races	Technique de dosage	Relation progestéronémie
El Amiri <i>et al.</i> (2003)	-	RIA et EIA	Profil théorique
Zohara <i>et al.</i> (2014)	Indigène	ELISA	Conditions normal
Arsoy et Sağmanlıgil (2018)	White Karaman	ELISA	
Bartlewski <i>et al.</i> (1999a)	Western white-faced	RIA	
Ijabo <i>et al.</i> (2014)	Yankasa	ELISA	
Deghedey <i>et al.</i> (2017)	Rahmani, Romanov et croisées (Rah x Rom)	RIA	
Bartlewski <i>et al.</i> (1999b)	Pure-bred Finn et Western white-faced	RIA	Prolificité
Gonzalez-Bulnes <i>et al.</i> (2001)	Mérinos	RIA	
Shabankareh <i>et al.</i> (2009)	Sanjabi	ELISA	
El-Sayed (2017)	Farafra	RIA	
Kandiwa <i>et al.</i> (2019)	Swakara et Damara	ELISA	
Muzvondiwa <i>et al.</i> (2012)	Sabi	RIA	Alimentation
Socheh <i>et al.</i> (2019)	Thin-tailed	ELISA	
Thimonier <i>et al.</i> (2000)	-	-	
Adib <i>et al.</i> (2014)	Île-de-France	EIA	
Fabre-Nys <i>et al.</i> (2015)	-	-	
Canepa <i>et al.</i> (2008)	Lacaune, Limousine, Romane	ELISA et RIA	Techniques de dosages

ELISA: Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay. **EIA:** Enzyme Immuno Assay. **RIA :** Radio Immuno Assay.

Un **profil théorique de la progestéronémie** au cours du cycle œstral chez la brebis (Figure 26) a été établi par El Amiri *et al.* (2003).

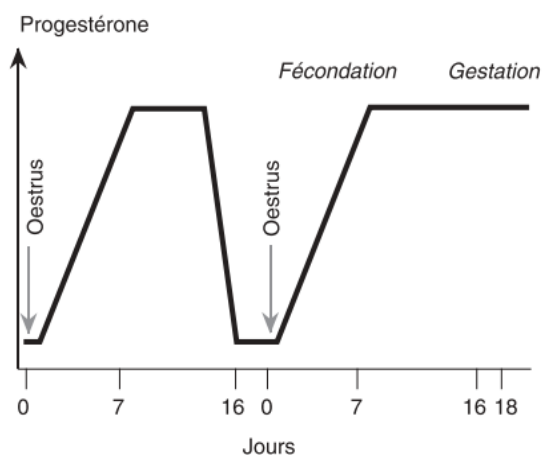


Figure 26 : Evolution théorique de la concentration de progestérone plasmatique périphérique au cours du cycle sexuel puis de la gestation (El Amiri *et al.*, 2003)

A partir d'une synthèse bibliographique des travaux réalisés sur l'évolution de la progestéronémie au cours des différentes phases du cycle œstral chez la brebis, El Amiri *et al.* (2003) ont rapporté que la P4 est minimale pendant l'oestrus (0,2 à 0,3 ng/ml), s'élève progressivement à partir du 3^{ème} et 4^{ème} jour du cycle, pour atteindre un maximum (environ de 2 ng/ml) entre le 7^{ème} et le 10^{ème} jour. Cette concentration reste stable jusqu'au 14^{ème} ou 15^{ème} jour, pour diminuer rapidement suite à la lutéolyse du CJ induite par la PGF2 α .

La détermination de la durée de chaque phase du cycle œstral ne peut être obtenue que lorsque les prélèvements sont réalisés quotidiennement.

Chez les brebis indigènes du Bangladesh (non prolifique), avec une **fréquence de prélèvement tous les 5 jours**, Zohara *et al.* (2014) montrent toujours une variation de la P4 caractérisée par de faibles valeurs pendant la phase folliculaire, suivie d'une augmentation brutale pour atteindre un maximum au cours de la phase lutéale, puis d'une diminution rapide avant le pic de LH déclenchant l'ovulation (Figure 27).

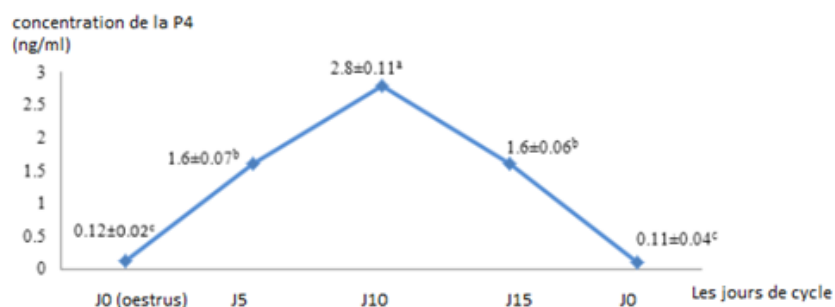


Figure 27 : Concentration de P4 sérique (ng/ml) à différents jours du cycle œstral chez les brebis indigènes (Zohara *et al.*, 2014)

Chez les brebis la brebis White Karaman (non prolifique), avec une **fréquence de prélèvement bihebdomadaire**, (Arsoy et Sağmanlıgil, 2018) montrent, au cours du cycle œstral, que la concentration de P4 sérique de $0,3 \pm 0,2$ ng/ml à l'œstrus, augmente durant le metoestrus. Après le 4^{ème} jour, il y a une augmentation accélérée jusqu'au dioestrus avec un maximum atteint au 11^{ème} jour ($3,73 \pm 1,5$ ng/ml). Entre le 11^{ème} et le 15^{ème} jour, la concentration de P4 reste élevée. Après le 15^{ème} jour, il y a une diminution rapide à une concentration basale au proestrus (Figure 28).

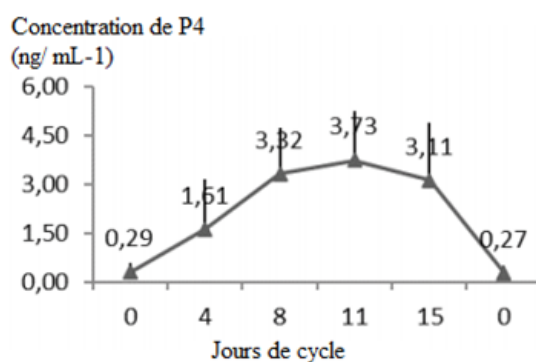


Figure 28 : Concentration de progestérone sérique (ng/ml) à différents jours du cycle œstral chez la brebis White Karaman (Arsoy et Sağmanlıgil, 2018)

A partir de **prélèvements quotidiens**, Bartlewski *et al.* (1999a) rapportent, Chez les brebis de race Western white-faced (non prolifique), que la concentration sérique moyenne de P4 augmente de J0 (ovulation) à une valeur maximale de $2,92 \pm 0,30$ ng/ml au 9^{ème} jour après l'ovulation. Les concentrations sériques de progestérone diminuent à $1,10 \pm 0,60$ ng/ml au 14^{ème} jour, pour atteindre une valeur minimale de $0,08 \pm 0,03$ ng/ml au 16^{ème} jour après l'ovulation. Entre le 9^{ème} et le 11^{ème} jour, il n'y a pas de variation significative (Figure 29).

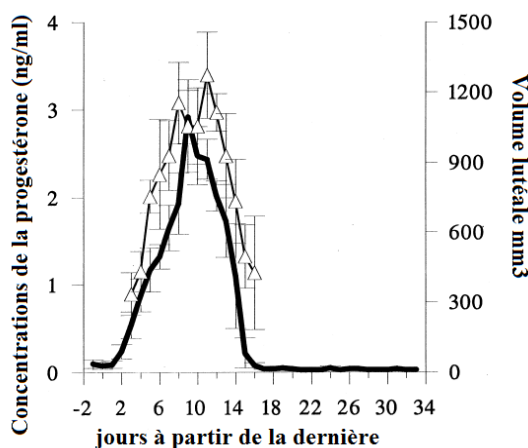


Figure 29 : Concentration sérique quotidienne moyenne de progestérone (-) et volume total du tissu lutéale (Δ) chez six brebis à face Western white-faced (Bartlewski *et al.*, 1999a)

Un même profil d'évolution de la P4 au cours du cycle œstral a été rapporté chez les bovins (Gómez-Seco *et al.*, 2017) et les caprins (Arashiro *et al.*, 2010). L'augmentation de la P4, au cours de la phase lutéale, correspond à l'hyperplasie et à l'hypertrophie des cellules stéroïdogènes du CJ associées à un débit sanguin le plus élevé (Sangha *et al.*, 2002) et la diminution de la P4, en phase folliculaire, est due la régression du CJ caractérisée par des changements dégénératifs et de remodelage du tissu de CL (Pate, 1994).

Des travaux rapportent l'existence de variations individuelles dans la **durée du cycle œstral au sein d'une même race**. En effet, les résultats de Ijabo *et al.* (2014) montrent que la durée du cycle œstral chez les brebis de race Yankasa, déterminées à partir des valeurs de la P4 sérique, varie entre 11 (cycles courts) et 25 jours (cycles longs).

Des études portent sur l'évolution de la progestéronimie au cours du cycle œstral montrent qu'il existe des variations de concentration de la progestérone observées sous l'influence de différents facteurs.

➤ Relation entre progestéronémie et race

La relation entre la concentration de la P4 et la race des brebis est démontrée par Deghedy *et al.* (2017). Les résultats obtenus montrent que les brebis de race Romanov ont une concentration en P4 plus élevée que les brebis de race Rahmani et les brebis croisées (Rahmani x Romanov) (Figure 30). Cette différence est liée au nombre et à la taille du CJ, plus élevée chez la race Romanov. En effet, ces auteurs rapportent une corrélation positive significative entre le nombre et diamètre du CJ et la concentration de la P4.

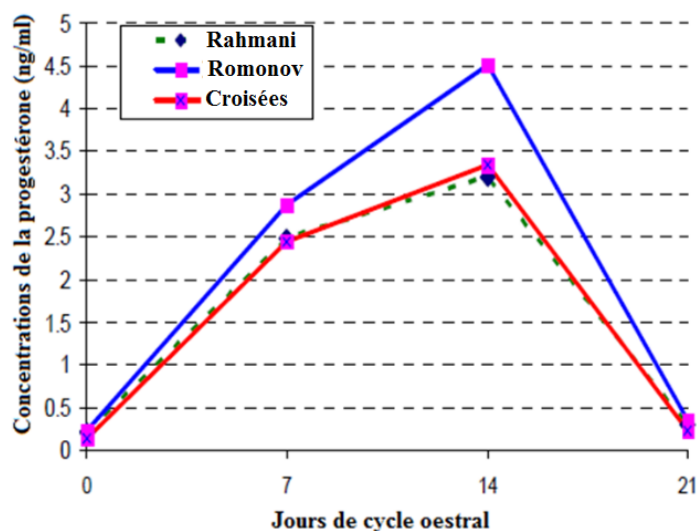


Figure 30 : Concentration de progestérone sérique (ng/ml) dans les trois races de brebis (Deghedy *et al.*, 2017)

➤ Relation entre progestéronémie et prolificité

En fonction de la **prolificité** de la race, le taux de P4 varie au cours du cycle œstral. Les travaux de Bartlewski *et al.* (1999b) chez les brebis non prolifiques de race Western White Face et prolifiques de race Finn montrent que la races ovine non prolifique produit plus de P4 pendant le metœstrus et le dioestus que la race prolifique (Figure 31). Cette différence est liée à la taille du CJ. En effet, la race Finn prolifique engendre des CJ de petite taille par rapport à la taille importante du CJ de la race non prolifique.

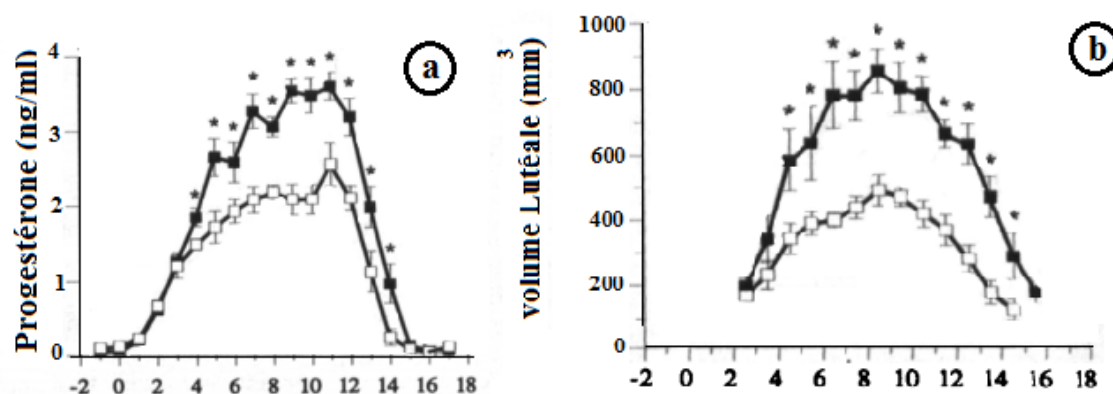


Figure 31 : Variations quotidiennes des concentrations sériques moyennes de progestérone (ng/ml) (a) et du volume moyen du tissu lutéale (mm^3) (b) chez des brebis non prolifiques de race Western White Face (■) et prolifiques de race Finn (□), au milieu de la saison de reproduction (Bartlewski *et al.*, 1999b)

L'étude de Gonzalez-Bulnes *et al.* (2001) sur le suivi échographique de la taille du CJ apprécié par sa surface chez les brebis Mérinos espagnoles, révèle que les variations de la surface du CJ sont corrélées avec la progestéronémie (Figure 32). Les même résultats sont observés dans les travaux de plusieurs auteurs (Bartlewski *et al.*, 1999b; Duggavathi *et al.*, 2003; Davies *et al.*, 2006)

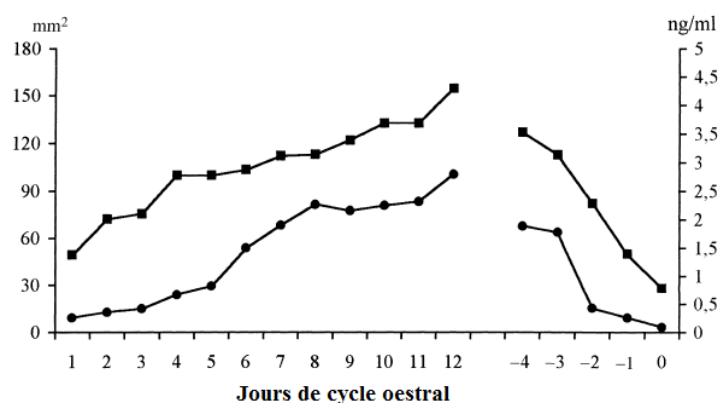


Figure 32 : Surface moyenne du corps jaune en mm^2 (■) et concentration moyenne de progestérone plasmatique en ng/ml (●) chaque jour de cycle œstral des brebis Mérinos espagnoles (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2001)

Des résultats similaires des suivis échographiques du volume du CJ rapportés par Shabankareh *et al.* (2009), chez les brebis de race Sanjabi, montrent l'existence d'une corrélation positive ($r=0,715$; $p<0,01$) entre le volume lutéal total et la concentration sérique de P4 au cours cycle œstral (Figure 33). L'évolution de ces deux paramètres au cours du cycle œstral montre une maturation morphologique (volume du CJ) plus précoce que la maturation fonctionnelle (P4) et une régression fonctionnelle (P4) plus précoce et rapide que la régression morphologique du CJ.

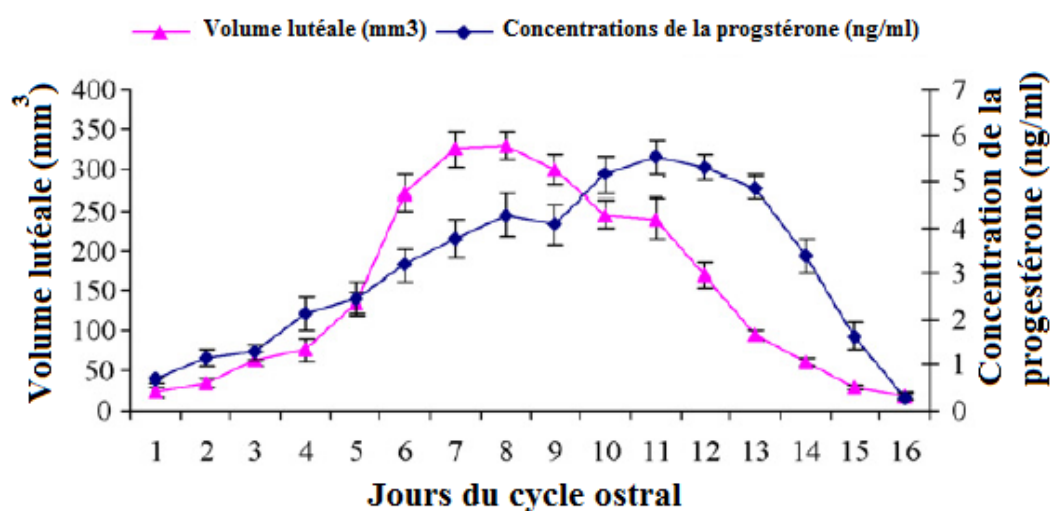


Figure 33 : Volume moyen de tissu lutéal (mm³) et concentration moyenne de P4 plasmatique (ng/ml) pendant le cycle œstral des brebis de Sanjabi. Valeurs en moyens \pm S.D (Shabankareh *et al.*, 2009)

➤ Relation entre progestéronémie et saison

L'effet de la saison sur les caractéristiques du cycle œstral dépend de la photopériode (durée du jour), du niveau nutritionnel et de la race.

Chez les brebis égyptienne de race Farafra, les travaux de El-Sayed (2017) montrent que la saison n'a pas d'effet significatif sur la durée du cycle œstral (Figure 34). La concentration plasmatique de progestérone est faible au début de l'œstrus, augmente progressivement jusqu'à un niveau maximal au 8^{ème} jour et persiste jusqu'au 14^{ème} jour (phase lutéale), puis diminue au 16^{ème} jour en hiver, au printemps et en été et au 18^{ème} jour en automne. Le pic de P4 au cours du cycle œstral varie en fonction de la saison, avec une valeur maximale observée en automne et une valeur minimale au printemps. Des résultats sont similaires ont été rapporté par Kandiwa *et al.* (2019) chez la race Swakara par contre chez la race Dakara, non saisonnière, aucune variation dans le pic de P4 n'a été observée.

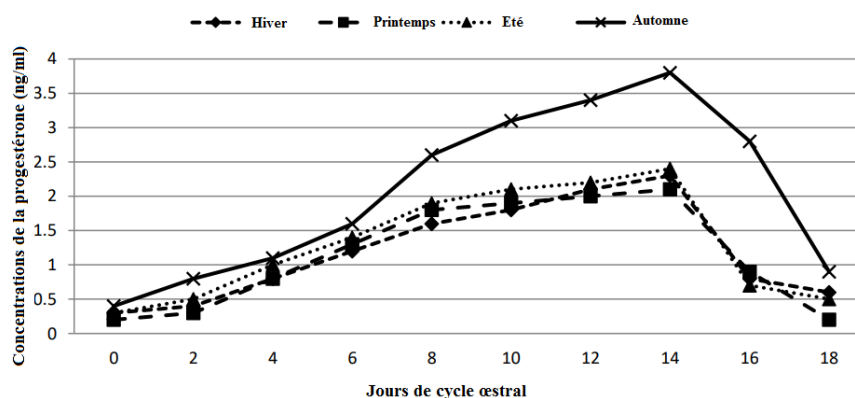


Figure 34 : Concentration plasmatique de la P4 (ng/ml) chez les brebis Farafra au cours des saisons (El-Sayed, 2017)

➤ Relation entre progestéronémie et alimentation

L'effet du niveau énergétique et protéique de la ration alimentaire sur la P4 au cours du cycle œstral chez les brebis de race Sabi a été rapporté par Muzvondiwa *et al.* (2011). Les trois régimes expérimentaux utilisés sont comparables aux changements saisonniers de la disponibilité et de la qualité des aliments (protéines et énergie) dans la région d'étude. Le régime alimentaire L (Low ou faible) fournit 0,5 fois d'énergie et de protéines nécessaires à l'entretien des brebis. Le régime M (Medium ou moyen) fournit un niveau de nutriments moyen et le régime H (High ou riche) fournit 1,5 fois plus de protéines et d'énergie nécessaires à la brebis (Flushing). Les résultats indiquent que le **régime alimentaire** à forte teneur en nutriments a un effet significatif sur les concentrations de la P4 entre le 6^{ème} et le 18^{ème} jour du cycle œstral (Figure 35). Alors que pendant l'œstrus, le flushing n'a pas d'effet significatif sur la concentration de la P4 comme rapporté par Socheh *et al.* (2019) chez la brebis Javanese Thin-Tailed (Figure 36).

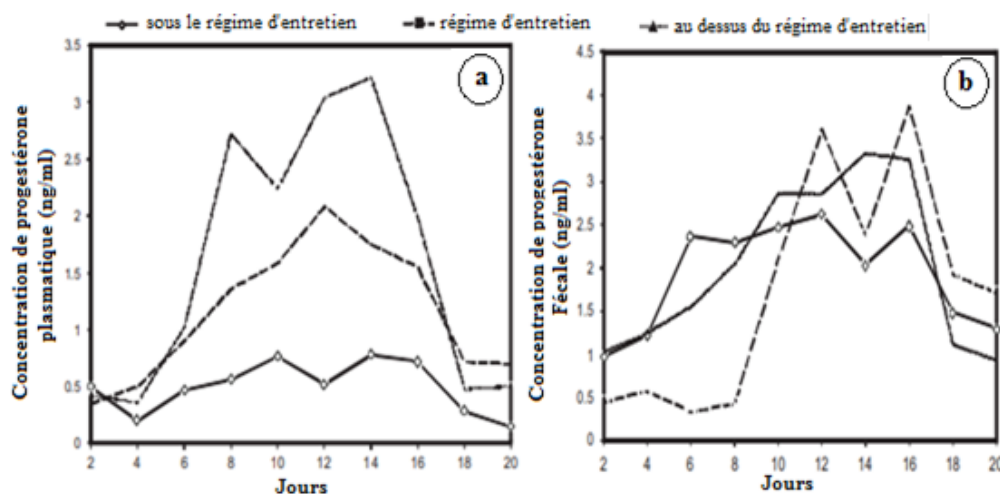
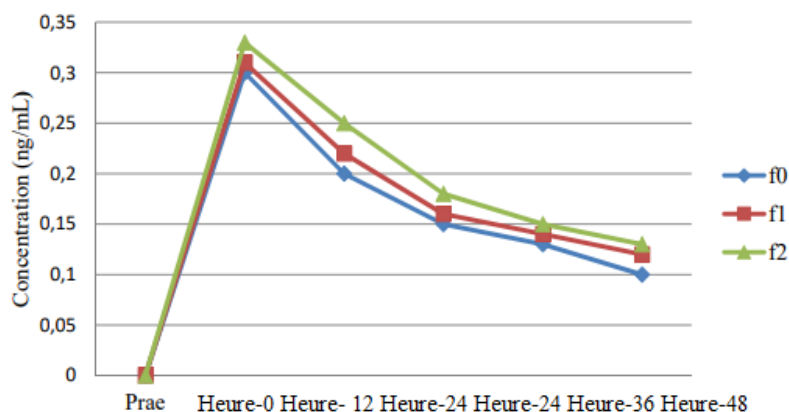


Figure 35 : Concentrations moyennes de P4 plasmatique (a) et fécale (b) au cours du cycle œstral des brebis soumises à différents niveaux de régime alimentaire (Muzvondiwa *et al.*, 2012)



f0: Aucun flushing = 1,01Mcal/kg EM, **f1**: flushing de 2,13Mcal/kg EM, **f2** : flushing de 2,31Mcal/kg EM ; EM : Energie métabolisable

Figure 36 : Profil de la progestéronémie (ng/ml) pendant la phase d'œstrus du cycle œstral chez les brebis de race Javanese Thin-Tailed soumises à différents niveaux de régimes alimentaire (Socheh *et al.* (2019))

➤ Relation entre progestéronémie et effet bélier

Chez les brebis, l'exposition au mâle induit une première ovulation silencieuse (pas accompagnée de comportement d'œstrus) 2-3 jours après, associée à un cycle court ou normal (Figure 37). Les cycles courts produits par l'effet mâle se traduisent par une régression prématurée du CJ avec une concentration de P4 très faible et d'une deuxième ovulation silencieuse aura lieu environ 5 à 6 jours après la première, avec la mise en place d'un CJ d'une durée de vie similaire de celle observé en saison sexuelle (cycle normal) (Thimonier *et al.*, 2000; Adib *et al.*, 2014; Fabre-Nys *et al.*, 2015). Les chaleurs apparaissent lors d'une troisième ovulation environ 25 jours après l'exposition aux béliers (Thimonier *et al.*, 2000).

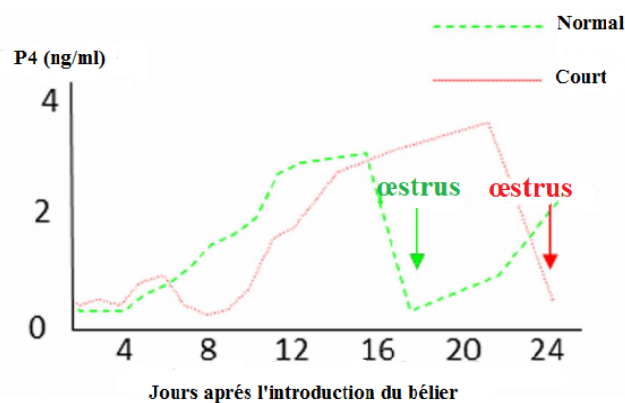


Figure 37 : Changement de la P4 chez la brebis après introduction du bélier sexuellement actif (Fabre-Nys *et al.*, 2015)

➤ Relation entre progestéronémie et technique de dosage

Une étude comparative entre deux techniques de dosage de la P4 par RIA et IEA a été réalisée par Canepa *et al.* (2008). Les résultats obtenus montrent :

- L'existence d'une corrélation positive entre les deux techniques utilisées ($R=0,84$).
- La validité importante de la RIA qui est sensible, précise et exacte. Cette technique est peu automatisable et la détection se fait par un traceur radioactif, qui est toujours dangereux. Par contre, IEA permet d'analyser de façon simple, rapide, automatisée et peu coûteuse avec un grand nombre d'échantillons par série de dosage. Mais elle est aussi sensible, spécifique, précise et exacte.

Les résultats des dosages de P4 par RIA et EIA montrent des variations synchrones au cours du cycle œstral (Figure 38). Les deux types de dosages sont validés pour l'évaluation de la progestéronémie dans le plasma des ovins et chez d'autres espèces (Canepa *et al.*, 2008).

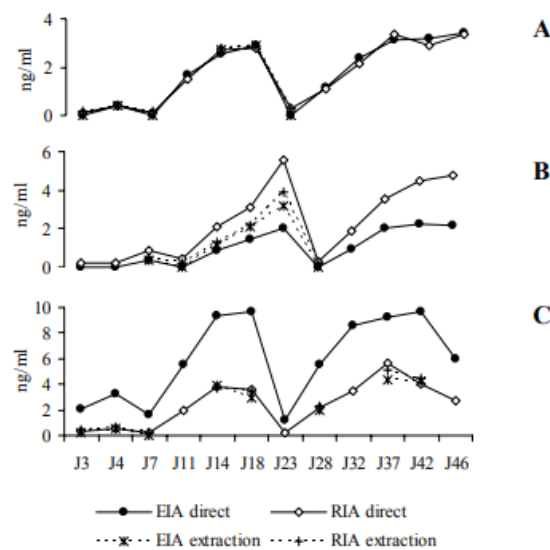


Figure 38 : Résultats des dosages EIA et RIA direct et par extraction de progestérone pour 3 brebis A, B et C, avec en abscisse le nombre de jours après l'introduction du bélier (Canepa *et al.*, 2008)

Conclusion

Conclusion

L'évaluation de la progestéronémie est un des moyens utilisé pour déterminer la phase du cycle œstral (phase folliculaire ou lutéale), l'activité sexuelle et l'état de gestation ou de non gestation précoce des ovins.

Plusieurs méthodes de dosage de la P4 sont utilisées, tel que les méthodes radio-immunologiques et les méthodes immuno-enzymatiques simples et rapides, confirmées par des critères de validité à savoir la spécificité, la sensibilité, l'exactitude et la précision.

L'analyse des travaux réalisés par de nombreux auteurs chez plusieurs races ovines montre que le profil d'évolution de la P4 est comparable au cours du cycle œstral. Les concentrations de P4 et la durée du cycle œstral varient en fonction de différents facteurs tels que la race, la prolificité, la saison, l'alimentation et l'effet de bélier.

Références bibliographiques

1. Abecia, J.A., Forcada, F., Gonzalez-Bulnes, A., 2011. Pharmaceutical control of reproduction in sheep and goats. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 27, 67-79.
2. Abecia, J.A., Forcada, F., González-Bulnes, A., 2012. Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Anim Reprod Sci* 130, 173-179.
3. Adib, A., Fréret, S., Touze, J.L., Lomet, D., Lardic, L., Chesneau, D., Estienne, A., Papillier, P., Monniaux, D., Pellicer-Rubio, M.T., 2014. Progesterone improves the maturation of male-induced preovulatory follicles in anoestrous ewes. *Reproduction* 148, 403-416.
4. Arashiro, E.K., Fonseca, J.F., Siqueira, L.G.B., Fernandes, C.A., Brandao, F.Z., Oba, E., Viana, J.H., 2010. Assessment of luteal function in goats by ultrasonographic image attribute analysis. *Small Ruminant Research* 94, 176-179.
5. Arsoy, D., Sağmanlıgil, V., 2018. Reproductive cycles in white Karaman ewes: comparison of ovarian hormone secretion and reproductive behavior in non-pregnant and pregnant ewes in semi-intensive conditions. *Acta Scientiarum. Animal Sciences* 40.
6. Auletta, F.J., Caldwell, B.V., Hamilton, G.L., 1974. Androgens : testosterone and dihydrotestosterone. In "Methods of hormone radioimmunoassay" 21, 359-370.
7. Baril, G., 1993. Chapitre I : Caractéristiques de reproduction des ovins et des caprins. In, Manuel de formation pour l'insemination artificielle chez les ovins et les caprins. FAO, pp. 44-45.
8. Baril, G., Brebion, P., Chesné, P., 1993. Chapitre VI : Traitements hormonaux des donneuses et receveuses. In, Manuel de formation pratique pour la transplantation embryonnaire chez la brebis et la chèvre. FAO, p. 34.
9. Barone, R., 1990. Appareil génital femelle. In, Anatomie comparée des mammifères domestique, tome 4, Splanchnologie II : appareil uro-génital. Fœtus et ses annexes. Péritoine et topographie abdominale, Vol. 4. Vigot Maloine, rue de l'école de Médecine 75006 Paris, pp. 251-417.
10. Bartlewski, P.M., Baby, T.E., Giffin, J.L., 2011. Reproductive cycles in sheep. *Animal Reproduction Science* 124, 259-268.
11. Bartlewski, P.M., Beard, A.P., Rawlings, N.C., 1999a. Ovarian function in ewes during the transition from breeding season to anoestrus. *Animal Reproduction Science* 57, 51-66.
12. Bartlewski, P.M., Beard, A.P., Rawlings, N.C., 1999b. An ultrasonographic study of luteal function in breeds of sheep with different ovulation rates. *Theriogenology* 52, 115-130.
13. Bazer, F.W., 2020. Chapter XI : Reproductive physiology of sheep (*Ovis aries*) and goats (*Capra aegagrus hircus*). In: Bazer, F.W., Lamb, G.C., Wu, G. (Eds.), *Animal Agriculture*. Academic Press, pp. 199-209.

14. Benmessaoud, N., 1992. Etude saisonnière, par radioimmunos dosage de la progestéronémie et par endoscopie, de l'activité ovarienne de la brebis D'Man, en Algérie. Thèse de Magister, INA (El-Harrach), Alger, 131.
15. Berger, Y.M., Bradford, G.E., Essaadi, A., Johnson, D.W., Bourfia, M., Lahlou-Kassi, A., 1989. Performance of D'Man and Sardi sheep on accelerated lambing III. Lamb mortality, growth and production per ewe. *Small Ruminant Research* 2, 307-321.
16. Bessaoud, O., Pellissier, J.P., Rolland, J.P., Khechimi, W., 2019. Rapport de synthèse sur l'agriculture en Algérie. In: Rapport de recherche, C.-I. (Ed.), City, p. 82.
17. Biomérieux.
18. Blanc, F., Martin, G.B., Bocquier, F., 2001. Modelling reproduction in farm animals: a review. *Reproduction, Fertility and Development* 13, 337-353.
19. Blissitt, M.J., Bland, K.P., Cottrell, D.F., 1994. Detection of oestrous-related odour in ewe urine by rams. *Reproduction, Fertility and Development* 101, 189-191.
20. Bonnes, G., Desclaude, J., Drogoul, C., Gadoud, R., Jussiau, R., Le Loc'h, A., Montméas, L., Robin, G., 1988. Reproduction des mammifères d'élevage. In. Collection INRAP, p. 239.
21. Brice, G., Leboeuf, B., Perret, G., 2002. Reproduction ovine et caprine sans hormones: utopie ou perspective réaliste. *Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants* 9, 135-141.
22. Campbell, B.K., Scaramuzzi, R.J., Webb, R., 1995. Control of antral follicle development and selection in sheep and cattle. *Journal of reproduction and fertility Supplement* 49, 335-350.
23. Canepa, S., Laine, A., Bluteau, A., Fagu, C., Flon, C., Monniaux, D., 2008. Validation d'une méthode immunoenzymatique pour le dosage de la progestérone dans le plasma des ovins et des bovins. *Cahier des Techniques de l'INRA* 64, 19-30.
24. Castonguay, F., 2002. Utilisation du MGA pour la maîtrise de la reproduction chez la brebis. In, CDAQ. Syndicat des producteurs de moutons du Saguenay-Lac-St-Jean, City, p. 59.
25. Castonguay, F., 2004. Utilisation des techniques de reproduction à contre-saison au Canada. Dans le cahier des conférences du 17e Congrès Mondial du Mouton et de la Laine Québec, . In. QC : Université Laval, City, pp. 2-16.
26. Castonguay, F., 2018. Chapitre I : Anatomie et physiologie des systèmes reproducteurs. In, La reproduction chez les ovins, pp. 10-14.
27. Čebulj-Kadunc, N., Snoj, T., Cestnik, V., 2000. Faecal gestagen, serum and milk progesterone concentrations in ewes of the Jezersko-Solchava breed. *Acta Veterinaria Brunensis* 69, 33-37.
28. Chellig, R., 1992. Les races ovines algériennes. OPU, 92.
29. Cognié, J., Baril, G., Touze, J.L., Petit, J.P., 2007. Suivi coelioscopique des corps jaunes cycliques chez la brebis. *Revue de Médecine Vétérinaire* 158, 447-451.

30. Cognié, Y., 1988. Nouvelles méthodes utilisées pour améliorer les performances de reproduction chez les ovins. *INRA Productions Animales* 1, 83-92.
31. Constantinescu, G.M., 2007. Chapitre I : Anatomy of Reproductive Organs. In, Schatten, H. (Ed.), comparative reproductive biology. Blackwell publishing, Department of Biomedical Sciences, College of Veterinary Medicine, University of Missouri-Columbia, Columbia, USA, pp. 5-48.
32. Constantinescu, G.M., 2017a. Chapitre I : Anatomy of the Reproductive System. In: Constantinescu, G.M., Schatten, H. (Eds.), *Animal Models and Human Reproduction*. John Wiley & Sons, Inc., pp. 1-56.
33. Constantinescu, G.M., 2017b. Chapitre II : Anatomy of mammalian (Endocrine) glands controlling the reproduction. In: Constantinescu, G.M., Schatten, H. (Eds.), *Animal Models and Human Reproduction*. John Wiley & Sons, Inc., pp. 56-63.
34. Counis, R., Combarous, Y., Chabot, V., Tragnat, C., 2001. Régulation de la synthèse et de la libération des gonadotropines hypophysaire. In: Thibault, C., Levasseur, M.C. (Eds.), *La reproduction chez les mammifères et l'homme*, pp. 65-85.
35. Davies, K.L., Bartlewski, P.M., Pierson, R.A., Rawlings, N.C., 2006. Computer-assisted image analyses of corpora lutea in relation to peripheral concentrations of progesterone: a comparison between breeds of sheep with different ovulation rates. *Animal reproduction science* 96, 165–175.
36. De-Fontaubert, Y., 1988. La maîtrise des cycles sexuels chez les bovins. *Le point en 1988*. *Productions animales* 1, 179-185.
37. Deblay, S., 1995. La reproduction chez les ovins. In, *Mémento de la reproduction des mammifères d'élevage (édition 2002)*. Educagri, pp. 45-46.
38. Deghedy, A.M., El Badawy, A.A., El-Maghraby, M.M., Shamiah, S.M., Abdel-Hafez, M.A.M., Abuel Ella, A.A., Aboufandoud, E.I., 2017. Reproductive Performance of Rahmani, Romanov and their Crosses Ewes in Reference with Progesterone Concentration. *Journal of Animal and Poultry Production* 8, 101-104.
39. Driancourt, M.A., 2001. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology* 55, 1211-1239.
40. Driancourt, M.A., Fréret, S., Saint-Dizier, M., 2014. Chapitre XII : Les cycles oestriens. In, *La reproduction animale et humaine*. Quae, pp. 219-222.
41. Drion, P.V., Ectors, F.J., Hanzen, C., Houtain, J.Y., Lonergan, P., Beckers, J.F., 1996. Régulation de la croissance folliculaire et lutéale: 2. Ovulation, corps jaune et lutéolyse. *Point Vétérinaire* 28, 49-56.

42. Dudouet, C., 2003. Chapitre VII : La reproduction. In, La production du mouton. France agricole, pp. 63-66.
43. Duggavathi, R., Bartlewski, P.M., Pierson, R.A., Rawlings, N.C., 2003. Luteogenesis in cyclic ewes: echotextural, histological and functional correlates. *Biology of Reproduction* 69, 634–639.
44. Dunlap, K.A., 2018. Sheep. In: Skinner, M.K. (Ed.), *Encyclopedia of Reproduction* (Second Edition). Academic Press, Oxford, pp. 656-666.
45. Eckersall, P.D., Harvey, M.J., 1987. The use of a bovine plasma progesterone ELISA kit to measure progesterone in equine, ovine and canine plasmas. *Veterinary Record* 120, 5-8.
46. El-Hentati, H., Hamouda, M., Chriki, A., 2014. A review on the species *Ovis aries* (Linnaeus, 1758). *Life Science Journal* 11(4), 158-162.
47. El-Sayed, E.H., 2017. Seasonal changes of some reproductive traits in Farafra ewes under Egyptian environmental condition. *Egyptian Journal of Sheep and Goats Sciences* 12, 1-12.
48. El Amiri, B., Karen, A., Cognie, Y., Sousa, N.M., Hornick, J.L., Szenci, O., Beckers, J.F., 2003. Diagnostic et suivi de gestation chez la brebis: réalités et perspectives. *INRAE Productions Animales* 16, 79-90.
49. Fabre-Nys, C., 2000. Le comportement sexuel des caprins: contrôle hormonal et facteurs sociaux. *Productions animales* 13, 11-23.
50. Fabre-Nys, C., Kendrick, K.M., Scaramuzzi, R.J., 2015. The “ram effect”: new insights into neural modulation of the gonadotropic axis by male odors and socio-sexual interactions. *Frontiers in Neuroscience* 9, 111.
51. Fair, T., 2003. Follicular oocyte growth and acquisition of developmental competence. *Anim Reprod Sci* 78, 203-216.
52. Fatet, A., Leboeuf, B., Freret, S., Druart, X., Bodin, L., Caillat, H., David, I., Palhière, I., Boué, P., Lagriffoul, G., 2008. L’insémination dans les filières ovines et caprines. *Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants* 15, 355-358.
53. Feliachi, K., 2003. Rapport national sur les ressources génétiques animales. Commission nationale AnGR, 46.
54. Fèvre, J., Rombauts, P., Lépine, G., 1966. Étude de l'excrétion urinaire des œstrogènes chez la brebis pendant la gestation. *Annales de biologie animale* 6, 165-177.
55. Fierro, S., Gil, J., Viñoles, C., Olivera-Muzante, J., 2013. The use of prostaglandins in controlling estrous cycle of the ewe: A review. *Theriogenology* 79, 399-408.
56. Fotherby, K., 1964. The Biochemistry of Progesterone. In: Harris, R.S., Wool, I.G., Loraine, J.A., Marrian, G.F., Thimann, K.V. (Eds.), *Vitamins & Hormones*, Vol. 22. Academic Press, pp. 153-204.

57. Gallienne, J., Gregg, C., LeBlanc, E., Yaakob, N., Wu, D., Davies, K., Rawlings, N., Pierson, R., Deardon, R., Bartlewski, P., 2012. Correlations between ultrasonographic characteristics of corpora lutea and systemic concentrations of progesterone during the discrete stages of corpora lutea lifespan and secretory activity in cyclic ewes. *Experimental Biology and Medicine* 237, 509-515.
58. Gao, Y., Short, R.V., Fletcher, T.P., 1988. Progesterone concentrations in plasma, saliva and milk of cows in different reproductive states. *British Veterinary Journal* 144, 262-268.
59. Gayrard, V., 2018a. Chapitre I : Cycle œstral. In, *Physiologie de la reproduction des mammifères domestiques*. Ecole nationale vétérinaire de Toulouse Toulouse, France pp. 5-28.
60. Gayrard, V., 2018b. Chapitre II : Endocrinologie de la reproduction : l'axe gonadotrope. In, *Physiologie de la reproduction des mammifères domestiques*, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse 23, Chemin des Capelles 31076 Toulouse cedex, pp. 37-71.
61. Gelez, H., Fabre-Nys, C., 2006. Role of the olfactory systems and importance of learning in the ewes' response to rams or their odors. *Reproduction Nutrition Development* 46, 401-415.
62. Goethe, J., 2017. Chapitre III : Méthodes et techniques d'étude du métabolisme énergétique à l'exercice. In, *Biochimie des activités physiques et sportives*. De Boeck supérieur, p. 49.
63. Gómez-Seco, C., Alegre, B., Martínez-Pastor, F., Prieto, J.G., González-Montaña, J.R., Alonso, M.E., Domínguez, J.C., 2017. Evolution of the corpus luteum volume determined ultrasonographically and its relation to the plasma progesterone concentration after artificial insemination in pregnant and non-pregnant dairy cows. *Veterinary Research Communications* 41, 183-188.
64. Gonzalez-Bulnes, A., Santiago-Moreno, J., Brunet, A.G., Sebastian, A.L., 2001. Relationship between ultrasonographic assessment of the Corpus Luteum and plasma progesterone concentration during the oestrous cycle in Monovular ewes. *Reproduction in Domestic Animals* 35, 65-68.
65. Gordon, I., 1997. The ewe's oestrus cycle and seasonal breeding activity. In, *Controlled reproduction in sheep and goats*, Vol. 2. CAB international, pp. 53-77.
66. Grimard, B., Humblot, P., Ponter, A., Chastant-Maillard, S., Constant, F., Mialot, J.P., 2003. Efficacité des traitements de synchronisation des chaleurs chez les bovins. *Productions animales* 16, 211-227.
67. Hanzen, C., 1981. L'oestrus : Manifestations comportementales et méthodes de détection. *Annales de Médecine Vétérinaire* 125, 617-633.
68. Henderson, D.C., Robinson, J.J., 2008. Chapitre VII : The reproductive cycle and its manipulation. In, *Diseases of Sheep*. Wiley, pp. 43-45.

69. Hooker, C.W., Forbes, T.R., 1949. The transport of progesterone in blood. *Endocrinology* 44, 61-66.
70. Ijabo, H.M., Jatfa, J.W., Oyedipe, E.O., Bawa, E.K., Dawuda, P.M., 2014. Serum progesterone profiles during the estrous cycle, pregnancy and postpartum periods in Yankasa ewes. *Nigerian Veterinary Journal* 35, 921-927.
71. Janeway, C.A., Murphy, K., Masson, P.L., 2018. Annexes In, *Immunobiologie de Janeway*. De Boeck supérieur, pp. 753-755.
72. Kandiwa, E., Mushonga, B., Madzingira, O., Samkange, A., Bishi, A., Tuaandi, D., 2019. Characterization of Oestrus Cycles in Namibian Swakara and Damara Sheep through Determination of Circannual Plasma Progesterone Levels. *Journal of Veterinary Medicine* 2019.
73. Kozicki, L.E., Weber, S.H., Bacher, L.H., Ramos, I.S., Gaievski, F.R., Schaus, M.V., Talini, R., Weiss, R.R., Bergstein-Galan, T., Segui, M.S., 2018. Determination of progesterone concentration during the estrous cycle in dairy cows using a chemiluminescence assay. *Revista Acadêmica: Ciência Animal* 16.
74. Lassoued, N., 2011. Méthodes de maîtrise de la reproduction ovine selon le système d'élevage. Mutations des systèmes d'élevage des ovins et perspectives de leur durabilité. Zaragoza: CIHEAM/IRESA/OEP 97, 103-110.
75. Le Berre, M., 1990. Faune du Sahara. 2. Mammifères. Le Chevalier & Chabaud, 218-220.
76. Leborgne, M.C., Tanguy, J.M., 2014. Chapitre XI : Les ovins. In, *Reproduction des animaux d'élevage* (édition 2013). Educagri, p. 339.
77. Leborgne, M.C., Tanguy, J.M., Foisseau, J.M., Selin, I., Vergonzanne, G., Wimmer, E., Montméas, L., 2013. La physiologie de l'activité sexuelle de la femelle non gestante. In, *Reproduction des animaux d'élevage*. Educagri, pp. 66-79.
78. Legan, S.J., Winans, S.S., 1981. The photoneuroendocrine control of seasonal breeding in the ewe. *General and Comparative Endocrinology* 45, 317-328.
79. Lurette, A., Fréret, S., Chanvallon, A., Experton, C., Frappat, B., Gatien, J., Dartois, S., Martineau, C., Le Danvic, C., Ribaud, D., 2016. La gestion de la reproduction en élevages ovins et caprins, conventionnels et biologiques: état des lieux, intérêt et acceptabilité de nouveaux outils dans six bassins de production en France. *INRA Productions Animales* 29, 163-184.
80. MADRP, 2017. Rapport de Ministère de l'agriculture, du développement rural et de la pêche.
81. Malpaux, B., Viguie, C., Thiéry, J.C., Chemineau, P., 1996. Contrôle photopériodique de la reproduction. *Productions animales* 9, 9-23.

- 82.** Maton, C., Bocquier, F., Debus, N., Bodin, L., Teyssier, J., 2010. Suivi automatisé des chaleurs et différence de saisonnalité entre brebis Texel et Mérinos dans un environnement méditerranéen. *Rencontres Recherches Ruminants* 17, 125-128.
- 83.** Mattos, F., Canavessi, A.M.O., Wiltbank, M.C., Bastos, M.R., Lemes, A.P., Mourão, G.B., Susin, I., Coutinho, L.L., Sartori, R., 2017. Investigation of mechanisms involved in regulation of progesterone catabolism using an overfed versus underfed ewe-lamb model. *Journal Animal Science* 95, 5537-5546.
- 84.** Mbayahaga, J., 2001. Chapitre V : Performances de reproduction. In, *Le Mouton et la chèvre d'Afrique de l'Est: Performances de croissance, de reproduction et de production*. Presses universitaires de Namur, pp. 91-94.
- 85.** McGee, E.A., Hsueh, A.J., 2000. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocrine Reviews* 21, 200-214.
- 86.** Mekonin, A.B., Howie, A.F., Riley, S.C., Gidey, G., Tegegne, D.T., Desta, G., Ashebir, G., Gebrekidan, B., Harlow, C.R., 2017. Serum, milk, saliva and urine progesterone and estradiol profiles in crossbred (Zebu x Holstein Friesian) dairy cattle. *Animal Husbandry, Dairy and Veterinary Science* 1, 1-10.
- 87.** Mescher, A.L., 2010. Chapter XXII : The female reproductive system. In, *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas University School of Medicine Bloomington, Indiana*, pp. 460-489.
- 88.** Meyer, C., 2009. Les phéromones et la reproduction chez les ruminants domestiques. Note bibliographique Montpellier : CIRAD Systèmes d'élevage (FRA), 17.
- 89.** Meyer, C., Yesso, P., 1991. Courbe de progestérone plasmatique du cycle oestral chez les races taurines trypanotolérantes de Côte-d'Ivoire. *Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux* 44, 193-198.
- 90.** Monniaux, D., Caraty, A., Clement, F., Dalbiès-Tran, R., Dupont, J., Fabre, S., Gérard, N., Mermillod, P., Monget, P., Uzbekova, S., 2009. Développement folliculaire, ovarien et ovulation chez les mammifères. *INRA Production Animal* 22, 59-76.
- 91.** Moore, A.S., Spahr, S.L., 1991. Activity monitoring and an enzyme immunoassay for milk progesterone to aid in the detection of estrus. *Journal of dairy science* 74, 3857-3862.
- 92.** Muzvondiwa, J.V., Kamanda, M.T., Nyamukanza, C.C., Mutisi, C., 2011. Effect of protein and energy levels on faecal progesterone concentration in Sabi ewes during oestrus cycle. *Livestock Research for Rural Development* 23, 2011.
- 93.** Muzvondiwa, J.V., Kamanda, M.T., Nyamukanza, C.C., Mutisi, C., 2012. Effect of protein and energy levels on faecal progesterone concentration in Sabi ewes during oestrus cycle. *Midlands State University Journal of Science, Agriculture and Technology* 3(1), 31-42.

94. Norris, D.O., Lopez, K.H., 2011. The endocrinology of the mammalian ovary. In, *Hormones and reproduction of vertebrates*, Vol. 5-Mammals. Elsevier Science, pp. 59-72.
95. Orczyk, G.P., Caldwell, B.V., Behrman, H.R., 1974. Estrogens: estradiol, estrone and estriol. In, Jaffe, B.M., Behrman, H.R. (Eds.), *Methods of Hormone Radioimmunoassay*, Academic Press, New York, pp. 333-358.
96. Ortman, R., 2000. Monitoring of estrous cycle of ewes by ram-seeking behavior. *Small Ruminant Research* 37, 73-84.
97. Paolicchi, A., Sanesi, A., Rossi, V.L., Ienco, A., Susini, V., 2020. Composition for enzyme immunoassay using immunofluorescence and uses thereof. In. Google Patents, City.
98. Pate, J.L., 1994. Cellular components involved in luteolysis. *Journal of animal science* 72, 1884-1890.
99. Paulini, F., Silva, R.C., Rôlo, P., Lucci, C.M., 2014. Ultrastructural changes in oocytes during folliculogenesis in domestic mammals. *Journal of ovarian research* 7, 1-12.
100. Pellicer-Rubio, M.T., Boissard, K., Grizelj, J., Vince, S., Fréret, S., Fatet, A., López-Sebastián, A., 2019. Vers une maîtrise de la reproduction sans hormones chez les petits ruminants. *INRA Productions Animales* 32, 51-66.
101. Prache, S., Benoît, M., Boutonnet, J.P., François, D., Sagot, L., 2014. Chapitre VI :Ovins allaitants. In, *Les filières animales françaises - caractéristiques, enjeux, perceptives*. Lavoisier, pp. 167-168.
102. Puel, J., Mansuy, J.M., 2001. Evaluation de l'automate Vidas®. *Annales de Biologie Clinique* 59 (5), 52-53.
103. Ravindra, J.P., Rawlings, N.C., Evans, A.C., Adams, G.P., 1994. Ultrasonographic study of ovarian follicular dynamics in ewes during the oestrous cycle. *Journal of reproduction and fertility Supplement* 101, 501-509.
104. Rekik, M., 2014. Control means for estrous cycle control in sheep. EIAR-DBARC-ICARDA-ILRI (LIVES)-FAO Training on Reproduction in Sheep and Goat, Debre Berhan, Ethiopia, 13-15 October 2014.
105. Sagot, L., Pottier, E., 2011. Conduite de la reproduction : La pose et la dépose des éponges en images. *Institut de l'élevage (IDELE)*, 2.
106. Sangha, G.K., Sharma, R.K., Guraya, S.S., 2002. Biology of corpus luteum in small ruminants. *Small Ruminant Research* 43, 53-64.
107. Seekallu, S.V., Toosi, B.M., Grazul-Bilska, A.T., Rawlings, N.C., 2010. Markers of ovarian antral follicular development in sheep: comparison of follicles destined to ovulate from the final or penultimate follicular wave of the estrous cycle. *Reproduction* 140, 559-568.

108. Shabankareh, H.K., Habibizad, J., Torki, M., 2009. Corpus luteum function following single and double ovulation during estrous cycle in Sanjabi ewes. *Anim Reprod Sci* 114, 362-369.
109. Socheh, M., Saleh, D., Purbojo, S., Setyaningrum, A., 2019. Concentration of Estrogen and Progesterone during Estrus and the 14 th Day of Mating in the Javanese Thin-Tailed Ewes. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 372, 12-21.
110. Sorgo, W., Manella, B., Zachmann, M., 1983. Radioimmunoassay of progesterone in saliva. *Hormone Research in Paediatrics* 17, 153-159.
111. Stanczyk, F.Z., Gentschein, E., Ary, B.A., Kojima, T., Ziogas, A., Lobo, R.A., 1997. Urinary progesterone and pregnanediol. Use for monitoring progesterone treatment. *The Journal of reproductive medicine* 42, 216.
112. Stouffer, R.L., Hennebold, J.D., 2006. Chapitre XXIII : Structure, fonction, and regulation of the corpus luteum. In, *Knobil and Neill's physiology of reproduction*. Elsevier Inc., pp. 475-526.
113. Taieb, J., Lachgar, K.M., 2011a. L'estradiol: caractéristiques immunoanalytiques. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée* 26, 280-286.
114. Taieb, J., Lachgar, K.M., 2011b. La progestérone : caractéristiques immunoanalytiques. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée* 26, 182-189.
115. Talbot, P.J., 1989. Chapitre XV : ELISA. In, *Manuel de techniques virologiques*. Presses de l'Université du Québec, p. 149.
116. Thimonier, J., 2000. Détermination de l'état physiologique des femelles par analyse des niveaux de progestérone. *Productions animales* 13, 177-183.
117. Thimonier, J., Cognié, Y., Lassoued, N., Khaldi, G., 2000. L'effet mâle chez les ovins: une technique actuelle de maîtrise de la reproduction. *INRAE Productions Animales* 13, 223-231.
118. Yu, X.J., Wang, J., Bai, Y.Y., 2019. Estrous synchronization in ewes: The use of progestogens and prostaglandins. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A — Animal science*, 1-12.
119. Zohara, B.F., Azizunnesa, R., Islam, M.F., Alam, M.G.S., Bari, F.Y., 2014. Exfoliative vaginal cytology and serum progesterone during the estrous cycle of Indigenous Ewes in Bangladesh. *Journal of Embryo Transfer* 29, 183-188.