

TABLE DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX.....	3
LISTE DES FIGURES.....	4
INTRODUCTION.....	5
PREMIERE PARTIE : MATERIEL ET METHODES.....	13
I/. EXAMEN ECHOGRAPHIQUE DES OVAIRES.....	13
II/. NOTATION DE L'ETAT CORPOREL.....	14
III/. DOSAGE DE LA PROGESTERONE.....	14
IV/. SELECTION DES VACHES ENTRANT DANS L'ETUDE.....	15
V/. PROTOCOLE EXPERIMENTAL.....	15
VI/. ANALYSE STATISTIQUE.....	19
DEUXIEME PARTIE: RESULTATS.....	21
I/. INDUCTION DE L'OVULATION.....	21
II/. STATUT OVARIEN DES VACHES A J12.....	21
III/. FORMATION ET ACTIVITE DU CORPS JAUNE ACCESSOIRE.....	22
a) Echographies.....	22
b) Progestéronémie.....	23
IV/. SURVIE DU CORPS JAUNE ACCESSOIRE.....	25
TROISIEME PARTIE : DISCUSSION.....	29
CONCLUSION.....	37
BIBLIOGRAPHIE.....	39
ANNEXES.....	45

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Notes d'état corporel et structures ovariennes présentes le jour de l'inclusion. (page 20).

Tableau 2 : Localisation du follicule pré-ovulatoire. (page 22).

Tableau 3 : Evolution de la progestéronémie entre J14 et J30 suite à l'injection d'hCG à J12 pour les 22 vaches. (page 29).

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Protocole expérimental. (page 21).

Figure 2 : Evolution de la progestéronémie moyenne des 22 vaches en fonction de la réponse à l'hCG. Abcisses : 0=J10 après ovulation ; ■ vaches n'ayant pas formé de corps jaune secondaire (n=9) ; ♦ vaches ayant formé un corps jaune secondaire (n=13). (page 28).

INTRODUCTION

La fertilité, définie comme l'aptitude d'une vache à être gestante après une insémination, diminue chez les races laitières dans le monde entier depuis 20 à 30 ans (Barbat et Le Mézec, 2008). En France, une étude retrospective sur 10 ans portant sur 37 millions d'inséminations artificielles réalisée Barbat et Le Mézec (2008) a montré une chute de la fertilité dans les trois principales races laitières (Prim' Holstein, Normande et Montbéliarde). Cette baisse de la fertilité a été observée aussi bien chez les génisses que chez les vaches laitières, tout particulièrement depuis le début des années 2000. La chute la plus importante est observée en race Prim' Holstein (-3,6% de réussite en première IA entre 2000 et 2004 pour les vaches laitières et -2,5% pour les génisses). La part de la génétique dans la baisse des performances de reproduction est évaluée entre 30 et 50% avec des variations selon la conduite de troupeau, la race et le niveau de production. En plus de la sensibilisation des éleveurs à la conduite du troupeau et notamment en ce qui concerne le délai de mise à la reproduction, la détection des chaleurs et le rationnement, la sélection génétique a été améliorée. Depuis 1998, une indexation des taureaux sur la fertilité de leurs filles a été mise en place et le critère de fertilité inclus dans le calcul de l'ISU. En 2007, le nombre de paramètres de cet index a été augmenté des caractères fonctionnels en tant que prédictors. Cette prise en compte des déterminants génétiques des taureaux reproducteurs la fertilité dans la sélection génétique a permis de stabiliser les performances de reproduction des femelles avec des effets visibles depuis 2004 (Barbat et Le Mézec, 2008).

Une autre des causes principales de la chute de la fertilité observée depuis 20 ans chez les bovins est la mortalité embryonnaire. Selon le moment où elle intervient, on distingue la mortalité embryonnaire précoce survenant avant le 16^{ème} jour de gestation et la mortalité embryonnaire tardive qui correspond à une mortalité ayant lieu entre le 16^{ème} et le 42-45^{ème} jour après l'ovulation. Puisqu'elle survient avant l'émission du signal embryonnaire de gestation, la mortalité embryonnaire précoce ne perturbe pas la cyclicité tandis que la mortalité embryonnaire tardive s'accompagne d'un allongement de la durée du cycle (Humblot, 1986). Cliniquement, la mortalité embryonnaire précoce ne se distingue donc pas de la non-fécondation. La baisse de la fertilité observée à l'échelle mondiale semble majoritairement liée à une augmentation de l'indice de la mortalité embryonnaire précoce. Actuellement, en race Prim' Holstein, on estime à 10% le taux de non fécondation, 43% le taux de mortalité embryonnaire précoce et à 10% le taux d'avortement

(mortalité du conceptus plus de 45 jours après l'insémination artificielle), le taux de mise bas est donc de l'ordre de 40% (Ledoux *et al.*, 2006 ; Diskin et Morris, 2008). Il apparaît alors important de travailler sur la diminution de la mortalité embryonnaire afin d'améliorer les résultats de reproduction en exploitation laitière.

La progestérone est indispensable dès le début de la gestation, immédiatement après la fécondation, et le reste pour toute la durée de la gestation. Elle accélère le transit de l'embryon depuis l'oviducte jusqu'au lieu de son implantation dans l'utérus. La progestérone stimule également les sécrétions utérines qui vont nourrir l'embryon avant son implantation et ainsi permettre sa survie dans le tractus génital (Thatcher *et al.*, 2000). La progestérone possède également un rôle dans le dialogue mère / conceptus : sa présence à de fortes concentrations à l'interface fœto-maternelle permet l'inhibition de la cytolyse en faisant intervenir la prostaglandine E2 (PGE2), l'interféron tau (IFN τ) et le Progesterone Induced Blocking Factor (PIBF). Cette intrication des processus immunologiques et endocrines, indispensable au maintien de l'embryon, constitue la clé de sa protection contre son rejet immunologique par les tissus maternels. Avant que le placenta ne prenne le relais, vers 100 jours de gestation, c'est le corps jaune qui sécrète la progestérone. Le maintien de la fonction lutéale pendant cette période est donc indispensable à la poursuite d'une gestation et implique deux mécanismes qui sont l'inhibition de la sécrétion de l'hormone lutéolytique qu'est la prostaglandine 2 α (PGF2 α) ainsi que la diminution de la sensibilité du corps jaune à l'action de cette dernière. Le facteur antilutéolytique sécrété par le conceptus âgé de 16 à 25 jours est une protéine : la trophoblastine ou IFN τ et qui possède des propriétés antivirales, anti-prolifératives et immunomodulatrices (Thatcher *et al.*, 2000 ; Humblot, 1988). L'injection intra-utérine quotidienne à des brebis à partir du douzième jour du cycle d'homogénats de conceptus âgés de 14-16 jours induit le maintien du corps jaune et de la sécrétion de progestérone. En revanche, la lutéolyse n'est pas inhibée lorsque les conceptus sont âgés de plus de 21 jours. Il existe donc une période critique pour la production de l'IFN τ . Cette période critique se situe entre J14 et J17 chez la vache. L'IFN τ induit localement l'inhibition des sécrétions de PGF2 α et diminue la sensibilité du corps jaune à l'action lutéolytique de cette dernière. Le mécanisme d'action de l'IFN τ est complexe et fait intervenir une suite de réactions en chaîne qui font diminuer le nombre de récepteurs endométriaux à l'ocytocine, favorisent la synthèse de PGE2 aux dépens de celle de PGF2 α . De plus, l'action lutéotrope de la PGE2 antagonise l'action lutéolytique de la PGF2 α , ce qui pourrait expliquer la diminution de sensibilité du corps jaune à l'action de la PGF2 α pendant la gestation (Humblot 1988 ; Thatcher *et al.*, 2000 ; Geisert *et al.*, 2000). La reconnaissance de la gestation par l'organisme maternel nécessite une synchronisation précise entre le stade de

développement du blastocyste et l'état de réceptivité endométriale : la lutéolyse peut intervenir même en présence d'un embryon si la sécrétion d'IFN τ est insuffisante ou trop tardive par rapport à la période de réceptivité utérine, l'IFN τ n'étant sécrété que par les conceptus âgés d'entre 16 et 25 jours. Une étude réalisée à J17 sur des multipares portant un embryon de taille inférieure à sa taille théorique de 15mm de long a induit une augmentation de la progestéronémie ainsi qu'une production d'IFN τ non détectable dans le liquide utérin (Hagen-Picard *et al.*, 2002). Dès les premiers jours après l'insémination artificielle, la progestérone d'origine lutéale favorise l'élongation du blastocyste (Hafez 2000 ; Geisert *et al.*, 2000 ; Thatcher *et al.*, 2000). Or le trophoctoderme est le tissu responsable de la synthèse d'interféron tau qui est lui responsable de l'inhibition de la synthèse endométriale de PGF2 α . Cette inhibition permet le maintien du corps jaune et donc la synthèse de progestérone indispensable au maintien de la gestation. La progestérone favorise l'élongation du trophoblaste, et donc aussi l'apposition du trophoctoderme sur l'endomètre améliorant ainsi le transfert de l'IFN τ par contact de cellule à cellule. Ainsi, le déroulement normal d'une gestation nécessite un développement embryonnaire suffisant, lui-même soutenu par une production de progestérone adéquate. Ces données concernant la physiologie de la gestation et donc la physiopathologie de la mortalité embryonnaire ont permis de réfléchir à différentes stratégies pour lutter contre cette dernière, parmi lesquelles l'augmentation du taux de progestérone maternelle.

L'alimentation peut être utilisée afin de limiter la synthèse de PGF2 α en modifiant les réactions enzymatiques dans l'utérus. Certains acides polyinsaturés tels que les acides linoléique, linolénique, eicosapentanoïque (AEP), docosahexanoïque (ADH) peuvent inhiber la synthèse utérine de PGF2 α , en entrant en compétition avec l'acide arachidonique et en empêchant ainsi sa conversion en PGF2 α par la cyclooxygénase. Si certains essais de supplémentation ont ensuite montré une diminution de la mortalité embryonnaire après la première comme à la seconde insémination artificielle, d'autres études sont venues contredire ces résultats (Mialot *et al.*, 2004). L'administration pendant 25 à 50 jours d'huile de poisson riche en acides gras polyinsaturés a quant à elle provoqué une diminution de la synthèse de PGF2 α (Mialot *et al.*, 2004). Cette stratégie, d'efficacité non systématique, ne permet que d'intervenir à long terme. D'autres techniques permettant de traiter des problèmes de mortalité embryonnaire à court terme sont également étudiées. La stratégie majeure pour lutter contre la mortalité embryonnaire est de lutter contre la lutéolyse, c'est-à-dire soit de diminuer la synthèse de PGF2 α , soit d'augmenter la progestéronémie. Les stratégies anti-lutéolytiques ayant pour but de diminuer la synthèse de PGF2 α visent à la diminution de l'œstradiolémie lors de la période critique : il s'agit de réduire la sécrétion

d'œstradiol (E2) par le follicule dominant. Ceci s'explique par le fait que l'E2 est responsable de l'apparition sur l'endomètre des récepteurs sur lesquels va se fixer l'ocytocine produite par le corps jaune engendrant ainsi la synthèse de PGF2 α . La destruction des follicules dominant par une irradiation par rayons X retarde la lutéolyse (Binelli *et al.*, 2001). Cette technique n'est cependant pas reproductible en clientèle. La molécule permettant la disparition des follicules dominant est la releasing gonadotropine hormone (GnRH). Injectée en milieu de cycle, la GnRH, provoque l'ovulation du follicule dominant, sa lutéinisation ou son atrophie en fonction de son stade lors de l'administration. Après une injection d'un analogue de la GnRH entre J12 et J16, l'œstradiolémie diminue ainsi de 30% par rapport à des animaux témoins (Mialot *et al.*, 2004).

La diminution de la synthèse de PGF2 α peut également être obtenue en augmentant le signal antilutéolytique du conceptus. On peut envisager d'administrer directement l'IFN τ ou d'en augmenter la synthèse endogène. Deux injections d'IFN τ à J14 et à J24 (J0 étant le jour de l'ovulation) d'un cycle provoquent une augmentation significative de la durée de vie du corps jaune (Thatcher *et al.*, 2001). Cependant, on ne dispose encore que de peu de données et les injections sont réalisées par voie intra-utérine ce qui reste une manipulation extrêmement risquée à une période où le risque de mortalité embryonnaire est élevé. Les stratégies antilutéolytiques consistant à augmenter la progestéronémie sont multiples (Mialot *et al.*, 2004). Le principe général est d'accélérer l'élongation du conceptus pour obtenir une sécrétion d'IFN τ suffisamment précoce et suffisamment importante. Avant l'ovulation, on cherche augmenter la taille du follicule pré-ovulatoire afin d'obtenir un corps jaune de taille augmentée sécrétant plus de progestérone. Cependant, la corrélation entre le gros diamètre du corps jaune mesuré par échographie et l'élévation de la progestéronémie est discutée car les résultats obtenus sont variables (Mann, 2009). D'autres stratégies antilutéolytiques existent mais elles sont mises en place après l'ovulation. La première est assez similaire à celle avant l'ovulation et consiste en l'augmentation de la croissance du corps jaune. La différenciation et la vitesse de croissance du corps jaune sont reliées à la durée et à l'amplitude du pic de LH. Une libération prolongée de GnRH induit un pic de LH plus long qui stimule la croissance et le fonctionnement du corps jaune. L'utilisation d'implants d'agonistes de la GnRH a permis donné des résultats intéressants chez des vaches laitières hors lactation (Mialot *et al.*, 2004). Tout comme l'injection de GnRH en début de chaleurs sur des vaches *repeat-breeders* (infertiles à chaleurs normales) ou lors de deuxième insémination. Une méta-analyse regroupant 40 essais soit 19019 vaches, conclut à des résultats similaires sur la mortalité embryonnaire lors de l'utilisation de GnRH ou d'un de ses analogues (Morgan et Lean, 1993). Cependant l'étude de Mann en 2009 montrant l'absence de corrélation entre le diamètre du corps jaune mature et la

progestéronémie remet en cause cette stratégie. La deuxième stratégie utilisée après l'ovulation est d'augmenter la progestéronémie en phase lutéale : on peut alors soit apporter de la progestérone, soit en augmenter la production. L'apport de progestérone exogène donne des résultats très variables. Pour être efficace, le traitement doit être long et couvrir la période critique soit 15 à 17 jours après l'insémination (Mialot *et al.*, 2004). De plus, la pose d'un implant ou d'un dispositif vaginal nécessite deux interventions qui sont responsables de stress pour l'animal pendant une période où le risque de mortalité embryonnaire est élevé. Le rapport bénéfice / risque est alors faible. Des études récentes ont cependant montré que l'efficacité de ce protocole est variable selon l'élevage et qu'il peut s'avérer intéressant si la supplémentation est mise en place avant J6 post insémination dans des troupeaux à faible fertilité dont la progestéronémie moyenne de l'ensemble des vaches est inférieure à 2ng/mL à J5 (McMillan *et al.*, 1991 ; Starbuck *et al.*, 1999). L'apport endogène de progestérone peut se faire en augmentant la production de progestérone par le corps jaune existant ou bien en créant un second corps jaune dit accessoire. L'utilisation d'hormone chorionique gonadotrope humaine (hCG) à J5 après insémination a montré des résultats intéressants dans cette voie malgré des résultats controversés quant à la diminution de la mortalité embryonnaire. Pour Thatcher *et al.* (2001), l'injection d'hCG à J5 augmente la progestéronémie périphérique de 6,3ng/mL chez les multipares et de 3,1ng/mL chez les primipares. Cette augmentation a eu lieu uniquement chez les vaches ayant formé un corps jaune accessoire suite à l'injection d'hCG, soit chez 86,2% des vaches traitées. Elle est associée à celle des taux de gestation de 7,1% à 28 jours de gestation, 4,1% à 45 jours et 6,5% à 90 jours. Inversement, Schmitt *et al.* (1996) n'ont pas montré d'augmentation des taux de gestation après l'injection de 3000 UI d'hCG à J5 du cycle, et ce, malgré une augmentation significative de la progestéronémie suite à cette injection : $9,7 \pm 1,2$ ng/mL avant injection à $18 \pm 1,2$ ng/mL. La GnRH agit selon le même mode d'action que l'hCG en provoquant la formation d'un corps jaune accessoire. Selon l'étude de Karimi *et al.* l'injection à J5 et J12 de 5mL ou de 10mL de GnRH est associée à une augmentation de la progestéronémie respectivement de $9,24 \pm 2,2$, $8,6 \pm 1,96$, $9,43 \pm 2,15$ et $9,42 \pm 2,14$ (Karimi *et al.*, 2007). Cependant, la méta-analyse sur 19 études portant sur l'injection de GnRH entre J11 et J14 réalisée par Peters *et al.* (2000) a mis en évidence une importante disparité dans les résultats concernant la diminution de la mortalité embryonnaire. En effet, bien qu'une étude ait rapporté une diminution de 22,1% de la mortalité embryonnaire, d'autres ont noté une mortalité embryonnaire plus élevée (de l'ordre de 3,3%) chez les animaux traités. Seules des tendances ont pu être mises en lumière par cette étude avec notamment une diminution de la mortalité embryonnaire plus importante dans le cadre des études portant sur des vaches laitières hautes productrices.

L'environnement hormonal et plus précisément le rôle positif de la progestérone dans l'implantation constitue actuellement un axe majeur de la recherche pour la lutte contre la mortalité embryonnaire. Les résultats obtenus par l'hCG à J5 ont ouvert la voie à d'autres essais dont le but est également de créer un corps jaune accessoire en faisant lutéiniser un follicule dominant afin d'augmenter la progestéronémie en début de gestation. Une autre voie d'exploration de l'augmentation de la synthèse maternelle de progestérone, qui est celle de notre étude, est l'injection d'hCG à J12 après l'insémination. A cette date, le follicule de la seconde vague folliculaire, dans le cas de cycles à trois vagues folliculaire, présente un diamètre suffisant pour répondre à l'hCG (diamètre supérieur à 10mm). L'hypothèse de ce travail est donc la suivante : l'injection d'hCG à J12 entraîne la lutéinisation ou l'ovulation du follicule dominant présent. Un deuxième corps jaune se forme alors. Le taux de progestérone maternelle pourrait donc augmenter, stimulant l'élongation de l'embryon, ce qui est favorable à sa survie. Mais surtout, ce second corps jaune formé vers J13-14 ne serait pas sensible aux prostaglandines qui pourraient être libérées si l'embryon n'inhibe pas assez leur sécrétion. Donc même si le premier corps jaune est lysé, le second devrait persister agissant ainsi sur le maintien de la gestation. La durée de vie normale d'un corps jaune est de 16 jours : le second corps jaune devrait donc être présent vers J30, moment du diagnostic de gestation par échographie. Ainsi, si la vache est diagnostiquée non gestante, il est possible à d'injecter de façon systématique une PGF2 alpha, puisqu'un corps jaune est systématiquement présent et qu'il y est sensible. La vache pourrait alors être inséminée sur chaleurs observées après administration d'un produit peu coûteux, uniquement chez les vaches qui le nécessitent.

Actuellement, le gain de temps pour la réinsémination des vaches diagnostiquées non gestantes est obtenu par la mise en place d'un traitement GPG anticipé (RESYNCH ; Fricke *et al.*, 2001). Une première injection de GnRH est pratiquée 7 jours avant le jour du diagnostic de gestation chez toutes les femelles en l'absence de connaissance de leur statut. Cette injection permet d'obtenir des vagues folliculaires synchronisées le jour du diagnostic de gestation. Ainsi, les vaches diagnostiquées comme non gestantes à J30 pourront recevoir une injection de PGF2 α le même jour puis une nouvelle injection de GnRH 48 heures plus tard et être inséminées sans détection des chaleurs. Il semble que les taux de gestation soient plus importants lorsque le protocole GPG est initié à J33 (diagnostic de gestation à J40 donc tardif) plutôt qu'à J26 (diagnostic de gestation à J33) ou encore à J19 (diagnostic de gestation à J26) après l'ovulation précédente (Bartolome *et al.*, 2009). L'utilisation de progestagènes en plus de ce type de protocole a également été étudiée. La mise en place d'un implant de progestérone de J14 à J23 après une ovulation, suivie d'une injection de GnRH à J23 puis d'une injection de PGF2 α à J30, n'augmente pas le taux de gestation suite à

l'insémination réalisée à J33 et engendrerait même des taux de gestation inférieurs à ceux observés chez les vaches n'ayant pas reçu d'implant. La présence d'un corps jaune à J30 ou encore une progestéronémie élevée à J14 (J0 étant le jour de l'ovulation) ont cependant été montrées comme reliées à un taux de gestation plus élevé (Bartolome *et al.*, 2009). Or, les vaches ayant reçu à J12 une injection d'hCG sont supposées présenter une progestéronémie augmentée à J14 ainsi qu'un corps jaune à J30, on se retrouve donc dans le même schéma hormonal que dans l'étude de Bartolome. Ainsi, avec uniquement une injection de PGF2 α toutes les vaches diagnostiquées vides peuvent être immédiatement resynchronisées lorsqu'elles ont reçu de l'hCG à J12, et ce pour un coût très faible. L'injection d'hCG à J12 permettrait en plus de diminuer la mortalité embryonnaire, de réduire l'intervalle entre deux inséminations avec le coût supplémentaire d'une seule injection de PGF2 α .

PREMIERE PARTIE : MATERIEL ET METHODES

I/. EXAMEN ECHOGRAPHIQUE DES OVAIRES

L'examen échographique des ovaires a été réalisé par voie transrectale au moyen d'un échographe portable (Tringa, ESAOTE Pie Medical, Poisy, France) équipé d'une sonde linéaire de 7,5MHz. Chacun des examens a été réalisé selon le même mode, par le même manipulateur sur les bovins attachés au cornadis après la traite du matin une fois la ration distribuée, après exploration préalable par palpation transrectale de l'appareil génital. Les différentes structures présentes ont été identifiées selon les critères décrits par Kähn (1994). Les structures ovalaires ou rondes à paroi fine et dont le contenu anéchogène ne dépasse pas 2cm de diamètre ont été identifiées comme des follicules. Les structures ovalaires d'échogénicité tissulaire, grossièrement granuleuse, se différenciant nettement du stroma ovarien, plus clair, ont été identifiées comme des corps jaunes. Lorsque l'échographie montrait au sein de ce même type de structure une collection de liquide anéchogène de diamètre inférieur à 2cm, cette structure a été identifiée comme un corps jaune cavaire. Lorsque cette cavité anéchogène dépassait les 2cm de diamètre avec une paroi de plus de 3mm, cette structure a été identifiée comme un kyste lutéal. Les kystes lutéaux ont été différenciés des kystes folliculaires par l'épaisseur et le type d'échogénicité de leur paroi, les kystes folliculaires ont également une cavité contenant un liquide anéchogène de plus de 2cm de diamètre, mais, leur paroi est très fine (moins de 3mm) et apparaît plus échogène que celle des kystes lutéaux. Les diamètres de la plus grande structure folliculaire et de la plus grande structure lutéale présentes sur les deux ovaires ont été mesurées. Les mesures ont été réalisées en traçant la droite passant par le centre de la structure et en mesurant par la fonction ad hoc de l'échographe la distance séparant les deux faces externes de la paroi les plus éloignées. Les images ont été enregistrées dans la mémoire numérique de l'échographe puis identifiées par le numéro de la vache et la latéralisation de l'ovaire. Les fichiers ont été ensuite transférés sur ordinateur sous logiciel d'exploitation Bitmap (Microsoft, Issy les Moulineaux, France). Les résultats ont ensuite été enregistrés sous forme de tableau via le logiciel Excel (Microsoft, Issy les Moulineaux, France), afin d'obtenir des données par jour ainsi que par vache. Les données enregistrées étaient le type de structure présente sur chaque ovaire (follicule, corps jaune, kyste folliculaire et lutéal) ainsi que son diamètre. Pour les follicules, seul le diamètre du plus gros follicule présent a été enregistré. Pour les kystes, le diamètre du kyste ainsi

que celui de sa cavité ont été enregistrés. La date de lyse du corps jaune a été fixée au jour de la disparition totale à l'échographie du corps jaune accessoire, disparition faisant suite à la diminution du diamètre de ce dernier observée au cours des jours précédents.

II/. NOTATION DE L'ETAT CORPOREL

Une note d'état corporel a été attribuée le jour de l'inclusion à chaque animal, selon la grille de notation ITEB (Annexe 1). L'échelle va de 0 à 5, la note minimale correspondant à un animal très maigre, la note maximale correspondant à une vache très grasse. La note finale est obtenue par la moyenne de deux notes évaluant la vache de profil et l'autre évaluant la vache caudalement. A chaque échographie ou prise de sang, la note d'état corporel a été ré-évaluée afin de pouvoir contrôler l'évolution de l'état corporel des vaches au cours du protocole.

III/. DOSAGE DE LA PROGESTERONE

Les prélèvements sanguins ont été réalisés à la veine coccygienne sur tube sec (Vacutainer, Becton-Dickinson, Franklin Lakes, New Jersey, Etats Unis). Les tubes ont été centrifugés dix par dix dès le retour de l'exploitation à 12,000 g pendant 150 secondes. Le sérum a ensuite été prélevé au moyen d'un micro-pipeteur afin d'obtenir 2 aliquots qui ont ensuite été congelés à une température de -20°C dans deux congélateurs différents.

Des sérums témoins ont été dosés simultanément aux sérums du protocole afin de pouvoir contrôler l'absence de variabilité entre chaque lot de dosage. Afin de réaliser ces sérums témoins, 50 mL de sang ont été prélevés sur un veau pré-pubère de deux semaines afin d'obtenir un sérum avec une concentration nulle en progestérone. Le dosage de progestérone a ensuite été réalisé par ELISA automatisé et détection par chemiluminescence (Elecsys 2010 Hitachi Boeringher®, Reims, France) munie de kits Progestérone II ® (Roche, Neuilly sur Seine, France). Un seul des deux aliquots réalisés pour chaque tube a été décongelé, d'abord à température ambiante puis au bain marie à 37°C. Les sérums décongelés ont ensuite été homogénéisés, puis répartis en deux échantillons de 300microlitres, échantillons sur lesquels les dosages ont été effectués. La moyenne de ces deux concentrations a ensuite été prise en compte.

IV/. SELECTION DES VACHES ENTRANT DANS L'ETUDE

L'étude s'est déroulée du 20 Octobre au 5 Décembre 2008 à l'EARL de Bissy à Bonnelles dans les Yvelines (78830). Les vaches recrutées étaient des vaches laitières multipares de race Prim'Holstein, entre 34 et 75 jours post-partum, non encore inséminées. Les vaches étaient réparties en trois lots : un dans lequel ne se trouvent que des vaches malades et deux autres lots constitués en fonction de la production (lot 1 et lot 2). 42 vaches ont été initialement examinées : un examen des ovaires a été réalisé par échographie transrectale. Seules les vaches présentant un follicule de plus de 10mm de diamètre et/ou un corps jaune de diamètre supérieur à 20 mm ont été incluses dans l'étude (tableau 1). Ainsi, 27 vaches sont entrées dans le protocole. Leur production laitière moyenne pour la lactation en cours lors de l'étude était de 12034 ± 2682 litres. Leur état corporel a été noté (tableau 1).

V/. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Le jour de l'inclusion les vaches ont reçu une injection intramusculaire de 100 microgrammes de buséréline (2,5mL de RECEPTAL, Intervet Schering Plough, Beaucouze, France). Sept jours plus tard, ont reçu une injection intramusculaire de 0,5mg de cloprosténol (2mL d'ESTRUMATE Intervet Schering Plough, Beaucouze, France). Deux jours plus tard, chacune des vaches a subi une échographie par voie transrectale de ses deux ovaires avec pour but la latéralisation du follicule pré-ovulatoire (tableau 2). Suite à l'échographie, les 27 vaches ont reçu une injection intramusculaire de 100 microgrammes de GnRH.

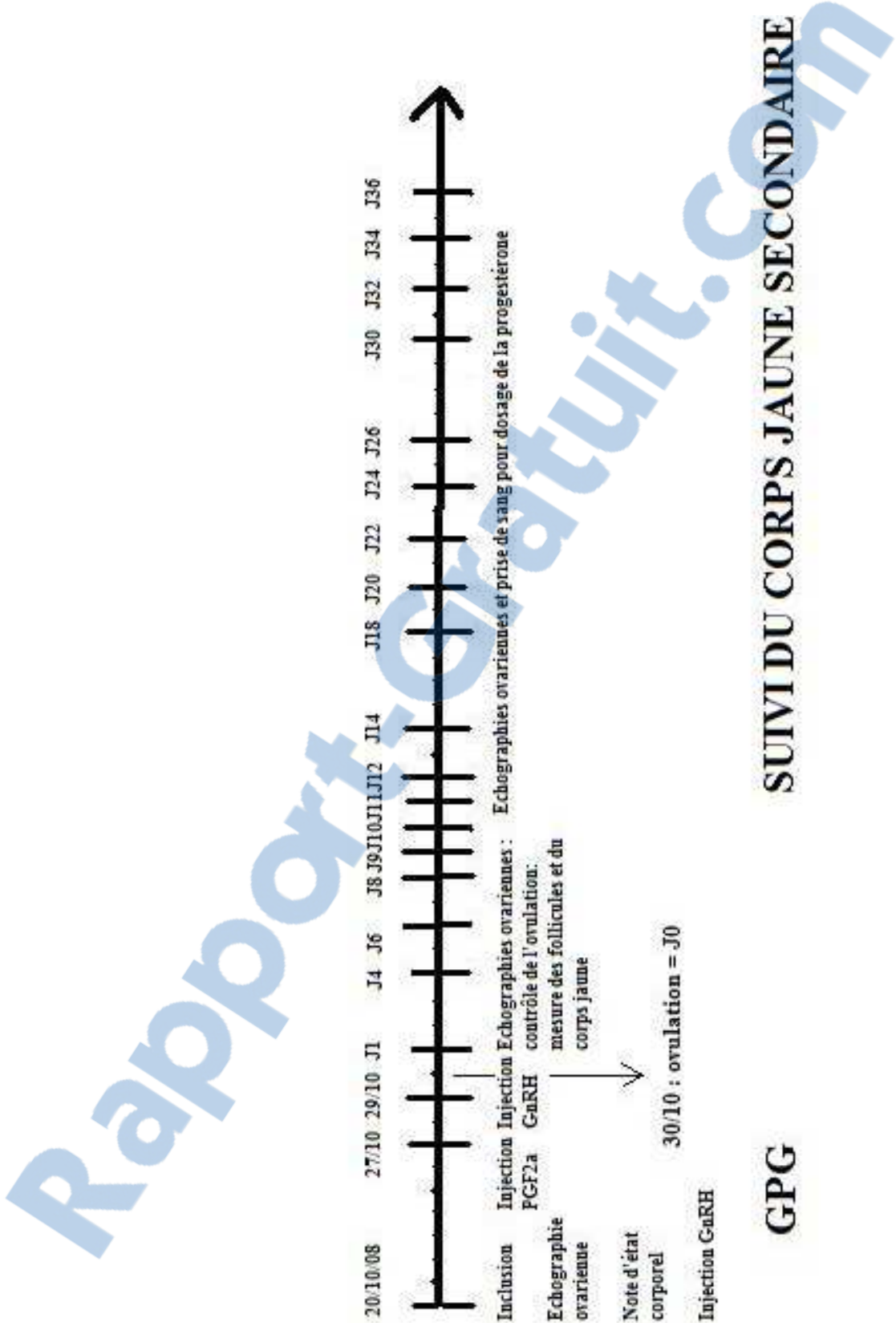
Deux jours après la deuxième injection de buséréline (J1), les vaches ont été échographiées afin de contrôler la disparition du follicule pré-ovulatoire, la disparition du follicule étant synonyme d'ovulation ce qui n'était pas le cas pour cinq vaches. Une fois l'ovulation provoquée, un suivi échographique des vaches ayant ovulé a été réalisé à J4, J6, J8, J9, J10, J11 et J12 afin de suivre la première vague folliculaire ainsi que l'émergence de la seconde (figure 1). Les vaches n'ayant pas ovulé ont été exclues de l'étude. Les follicules présents ont été mesurés à chaque examen. A J12, 1500 UI d'hCG (CHORULON®, Intervet Schering Plough) ont été injectées par voie intramusculaire. A J14, une échographie ovarienne a été réalisée pour observer la lutéinisation du follicule et la formation d'un corps jaune accessoire. La croissance puis la lutéolyse du corps jaune secondaire ont été suivies à J18, J20, J22, J24, J26, J30, J32, J34, J36. Les dernières échographies

avaient également pour but d'observer une ovulation prouvant la reprise d'un cycle une fois le corps jaune secondaire lysé (figure 1).

Tableau 1 : Notes d'état corporel et structures ovariennes présentes le jour de l'inclusion.

N° de la vache	Etat corporel	Ovaire G	Ovaire D
1	2	CJ	F
63	2		F
70	2	F	F
105	1	CJ	F
115	2	/	F
143	2,5	Cjcav	F
149	3	/	F
150	2	/	F
184	2	/	F/ CJ
199	1	F	F
256	1,5	/	F
258	2	F	CJcav
260	3	CJ	F
272	3	F	CJ
279	1,5	/	CJ
282	1,5	F	CJ
285	2	/	CJcav
785	1,5	F	CJ
942	1,5	CJ	F
950	1	/	F/kyste folliculaire?
985	1	F	F
4152	1,5	F	CJ
4179	2	/	Cjcav
4191	2	F	F
4195	1	F	CJcav
4207	2	F/kyste?	CJcav
Légende: F = follicule de diamètre supérieur à 1 cm ; CJ = corps jaune de diamètre supérieur à 2 cm ; CJcav = corps jaune cavitare.			

Figure 1 : Protocole expérimental.



Des prises de sang ont été réalisées à J11 et J12 afin d'obtenir une valeur de la progestéronémie avant l'injection d'hCG. Une fois l'injection d'hCG réalisée, des prises de sang ont été réalisées à J14, J18, J20, J22, J24, J26, J30, J32, J34 ainsi qu'à J36 avec pour but d'évaluer la progestéronémie en fonction de la présence ou non d'un corps jaune accessoire.

Tableau 2 : Localisation du follicule pré-ovulatoire lors des échographies réalisées le mercredi 29 Octobre 2008.

N° de la vache	Localisation du follicule pré-ovulatoire	
	Ovaire G	Ovaire D
1		*
63		*
70		*
105		*
115	*	
143		*
149		*
150	*	
184	*	*
199		*
256	*	
258		*
260		*
272		*
279	*	*
282	*	
281	*	*
285		*
785	*	*
942		*
950		*
985		*
4152		*
4179		*
4191		*
4195	*	kyste Déjà présent le 20/10
4207	*	

VI/. ANALYSES STATISTIQUES

L'influence de la note d'état corporel, du diamètre du follicule pré-ovulatoire, du diamètre maximal du corps jaune accessoire formé, sur la réponse à l'hCG (c'est-à-dire la formation d'un corps jaune accessoire suite à l'injection d'hCG) ainsi que sur la progestéronémie ont été testées via un test du Khi2. Les influences du diamètre du corps jaune accessoire, du diamètre du corps jaune primaire, du diamètre du follicule pré-ovulatoire à J12, de la durée de vie du corps jaune primaire, du côté sur lequel s'est formé le corps jaune accessoire, de l'état corporel sur la durée de vie du corps jaune accessoire ont été testées via un test de Khi2. Les données sont exprimées en pourcentage ou en moyenne $\pm$ écart type. Les résultats ont été considérés comme significatifs lorsque $p < 0,05$.

DEUXIEME PARTIE : RESULTATS

I/. INDUCTION DE L'OVULATION

Parmi les 27 vaches incluses dans le protocole le 20 Octobre 2008 seules 22 vaches (81,5%) ont présenté des signes de chaleurs à J1. Le contrôle échographique des 5 vaches n'ayant pas été vues en chaleurs a mis en évidence la présence d'un corps jaune de diamètre supérieur à 2cm ainsi que d'un follicule pré-ovulatoire de diamètre supérieur à 1cm. Ces vaches n'ayant pas répondu au protocole de synchronisation GPG ont été exclues. Il s'agit des vaches 260, 272, 4179, 282 et 063 (tableau 1).

II/. STATUT OVARIEN DES VACHES A J12

Le suivi échographique jusqu'à J12 a permis de déterminer le nombre de vagues folliculaires par cycle. Une vague folliculaire est caractérisée par la croissance d'un follicule jusqu'à la dominance, atteignant un diamètre supérieur ou égal à 10mm. Si un corps jaune est présent, il s'atrophie, ce qui se traduit par une diminution progressive de son diamètre. Une nouvelle vague folliculaire émerge alors avec le recrutement d'une nouvelle cohorte (Hafez, 2000 (c)). L'émergence des vagues a donc lieu à J1 et J10-J11 dans les cycles à deux vagues et à J1, J9 et J16 pour les cycles à trois vagues (Hafez, 2000 (d)). La dynamique folliculaire des vaches de l'étude entre J4 et J12 est présentée en annexe 1. Si à J12, le premier follicule dominant est toujours présent ou que son diamètre commence à diminuer, la vache est considérée comme possédant un cycle à deux vagues folliculaires. En revanche, celles ayant déjà vu un premier follicule régresser et un second croître à J12 sont considérées comme possédant un cycle à trois vagues. A J12, toutes les vaches présentaient un follicule de diamètre supérieur à 10mm. Cependant, pour 6 vaches, le follicule n'était plus en croissance mais en décroissance. Ainsi, sur les 22 vaches du protocole, 16 vaches (soit 72,7%) présentaient un cycle à trois vagues folliculaires et 6 (soit 27,3%) un cycle à deux vagues folliculaires.

Le suivi échographique a également permis de mettre en évidence que 4 vaches présentaient un kyste folliculaire à J12, l'une d'entre elles présentant également un kyste lutéal sur l'ovaire

controlatéral. Ces vaches présentant une cyclicité normale malgré ces kystes, elles ont été maintenues dans l'étude.

III/. FORMATION ET ACTIVITE DU CORPS JAUNE ACCESSOIRE

a) Examens échographiques

Les examens échographiques réalisées à J14 ont montré sur 13 vaches une diminution du diamètre du follicule associé à un épaissement de sa paroi. A J18, un corps jaune accessoire était visible chez ces animaux. Ainsi, parmi les 22 vaches traitées, 13 (soit 59%) ont formé un corps jaune secondaire suite à l'injection d'hCG. Ces treize vaches se sont toutes avérées présenter un cycle à trois vagues folliculaires. Ainsi, 81,2% des vaches à trois vagues folliculaires ont formé un corps jaune secondaire alors qu'aucune des vaches à deux vagues n'a vu de corps jaune se former. Il existe une liaison statistiquement significative entre le nombre de vagues folliculaires par cycle et la réponse à l'hCG. Sur les treize vaches ayant répondu positivement à l'hCG (au sens de la formation d'un corps jaune accessoire), 12 ont vu leur corps jaune accessoire se former suite à la lutéinisation d'un follicule de diamètre supérieur à 10 millimètres ; la dernière présentait au moment de l'injection un follicule de 8 millimètres de diamètre. Il est à noter que parmi les vaches désignées comme ayant répondu positivement à l'hCG, la vache numéro 4195 a été incluse bien qu'il s'agisse de la lutéinisation d'un kyste.

L'étude statistique des taux de réponse à l'hCG en fonction du lot dans lequel se trouvaient les vaches le jour de l'injection d'hCG n'a révélé aucune différence statistiquement significative. Ainsi, la présence d'une tarsite, d'une mammite clinique, ou encore le niveau de production (lot 1 et lot 2) ne présentaient aucune liaison statistique significative avec la formation d'un corps jaune secondaire.

L'injection d'hCG à J12 n'engendre aucune modification du diamètre du corps jaune primaire. Les corps jaunes accessoires formés suite à l'injection d'hCG présentent des diamètres dont les valeurs sont du même ordre que celles des corps jaunes primaires. Les corps jaunes formés suite à l'injection d'hCG à J12 atteignent leur diamètre maximal en moyenne à $J19 \pm 3$, c'est-à-dire en moyenne 7 ± 3 jours après l'injection d'hCG.

b) Progestéronémie

La figure 2 et le tableau 3 présentent l'évolution de la progestéronémie en fonction de la réponse à l'hCG (formation ou non d'un corps jaune secondaire). Les deux profils présentent une forme générale assez similaire. 12 des 13 vaches ayant formé un corps jaune accessoire visible à l'échographie suite à l'injection d'hCG montrent une augmentation consécutive de la progestéronémie. On observe une augmentation moyenne de $1,74 \pm 8 \text{ ng/mL}$ de la progestéronémie entre J12 et J14 soit une augmentation moyenne de 74,5% (min= -97% et max=337%). Cette augmentation est immédiatement suivie d'une chute de la progestéronémie moyenne qui retrouve des valeurs équivalentes à celles des vaches n'ayant pas formé de corps jaune secondaire suite à l'injection d'hCG. Chez la vache pour laquelle l'injection d'hCG avait engendré la lutéinisation d'un kyste folliculaire la progestéronémie a au contraire diminué après l'injection. En ce qui concerne les vaches n'ayant pas répondu positivement à l'hCG, leurs courbes de progestéronémie présentent également une forme de cloche dans l'ensemble, bien que l'on note encore une certaine hétérogénéité dans l'allure de ces courbes. On ne note aucune augmentation entre J12 et J14, au contraire, on observe une chute moyenne de $1,8 \pm 4,4 \text{ ng/mL}$ de la progestéronémie entre les deux prélèvements. La progestéronémie moyenne des vaches n'ayant pas répondu à l'hCG est inférieure à celle des vaches ayant répondu à l'hCG jusqu'à J18, l'écart maximal étant atteint à J14 pour lequel l'écart est de $3,5 \text{ ng/mL}$. Puis la concentration en progestérone du sang des vaches ayant répondu à l'hCG reste proche de celle des vaches n'ayant pas répondu, et ce, jusqu'à J30. La courbe montre des modifications hétérogènes d'un jour à l'autre de la progestéronémie moyenne des vaches ayant répondu à l'hCG par rapport à celles n'ayant pas répondu et l'on obtient cependant une augmentation moyenne de $20,7\% \pm 0,33$ entre les progestéronémies moyennes des vaches ayant et n'ayant pas répondu entre J14 et J30. La progestéronémie moyenne au cours de l'étude des vaches ayant répondu positivement à l'hCG est donc significativement supérieure à celle des vaches n'ayant pas répondu à l'hCG.

L'existence d'une différence significative entre les progestéronémies des vaches ayant et n'ayant pas répondu positivement à l'hCG associée au retour de la progestéronémie moyenne des vaches ayant présenté un corps jaune secondaire à des valeurs similaires à celles des vaches n'ayant pas formé de corps jaune secondaire suite à l'injection d'hCG après la lyse du corps jaune secondaire constitue donc une preuve du fonctionnement du corps jaune accessoire formé suite à l'injection d'hCG. L'exemple de la vache 4152 illustre bien ce point : l'augmentation de la progestéronémie chez cette vache commence autour de J18-J20, alors que le corps jaune primaire

de cette vache avait disparu à J20. De plus, les chutes de progestéronémie observées sur les courbes individuelles coïncident dans le temps avec l'observation à l'échographie de la lyse du corps jaune accessoire. Il faut cependant préciser que les vaches n'ayant pas répondu à l'hCG ont également présenté une augmentation de leur progestéronémie suite à l'injection d'hCG.

Figure 2 : Evolution de la progestéronémie moyenne des 22 vaches en fonction de la réponse à l'hCG. Abcisses : 0=J10 après ovulation ; ■ vaches n'ayant pas formé de corps jaune secondaire (n=9) ; ♦ vaches ayant formé un corps jaune secondaire (n=13).

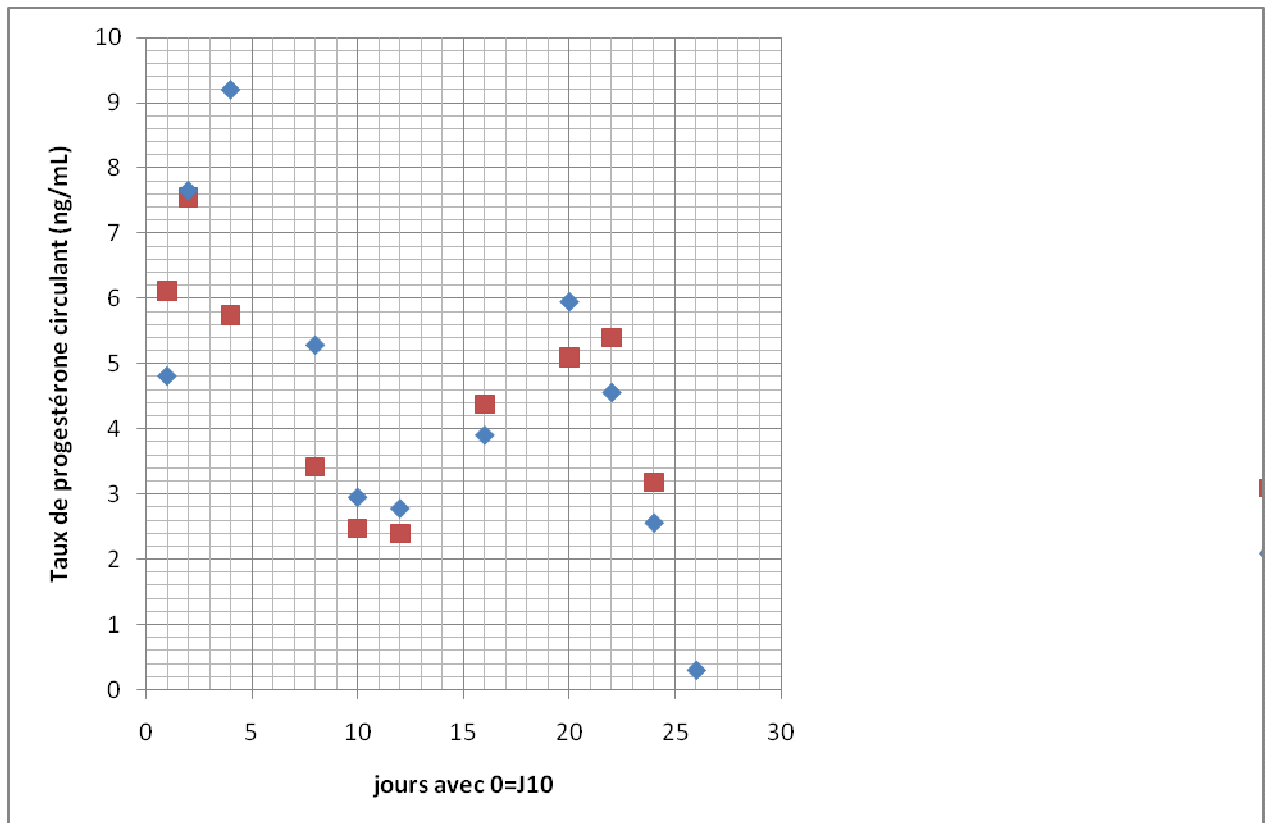


Tableau 3 : Evolution de la progestéronémie entre J14 et J30 suite à l'injection d'hCG à J12 pour les 22 vaches.

	Vaches ayant formé un corps jaune accessoire suite à l'injection d'hCG		Vaches n'ayant pas formé de corps jaune accessoire suite à l'injection d'hCG	
Date	Progestéronémie moyenne (ng/mL)	Progestéronémie (min-max) (ng/mL)	Progestéronémie moyenne (ng/mL)	Progestéronémie (min-max) (ng/mL)
J11	4,81±3,3	0,15-11,5	6,11±3,64	0,04-11,45
J12	7,66±6,4	0,19-22,39	7,55±7,25	0,02-26,07
J14	9,21±5,9	0,38-19,15	5,7±7,6	0,1-22,7
J18	5,3±4,7	0,12-14,9	3,4±5,4	0,2-16,4
J20	2,9±3,5	0-8,2	2,5±5,4	0,03-16,5
J22	2,8±3	0-9,7	2,4±2,1	0,2-6,7
J26	3,9±6,8	0-12,4	4,4±3,1	0,35-9,5
J30	5,9±5,3	0,1-22,35	5,1±3,2	0,03-11,9

Lorsque l'on étudie pour chaque jour le rapport entre la progestéronémie et le diamètre du corps jaune accessoire on obtient une valeur significative du coefficient de corrélation entre ces paramètres uniquement à J26 (0,625). Si l'on s'intéresse ensuite, également pour chaque jour, au rapport entre la progestéronémie et la somme du diamètre du corps jaune primaire et du corps jaune accessoire, le coefficient de corrélation présente des valeurs significatives uniquement à J20 (0,647), à J22 (0,599) et à J26 (0,729). Ainsi, la valeur de la progestéronémie chez les vaches ayant répondu à l'hCG ne dépend pas du diamètre du corps jaune accessoire et ne semble dépendre de la somme des diamètres des structures lutéales que lorsque cette dernière diminue.

IV/. SURVIE DU CORPS JAUNE ACCESSOIRE

La persistance du corps jaune accessoire a été contrôlée au moment de la lutéolyse du corps jaune primaire. La durée de vie moyenne des corps jaunes primaires de toutes les vaches de l'étude était de 23,9±5,5 jours. Parmi les 7 vaches dont le corps jaune primaire était toujours présent à J24, se trouvaient trois vaches dont le cycle était à deux vagues folliculaires et n'ayant pas formé de corps jaune secondaire. En revanche, les 4 autres vaches n'ayant pas vu leurs corps jaune primaire lutéolysé à J24 avaient, elles, formé un corps jaune secondaire suite à l'injection d'hCG et possédaient donc toujours deux corps jaunes à J24. Aucun lien statistiquement significatif n'a pu

être mis en évidence entre la présence d'un corps jaune secondaire et l'absence de lutéolyse du corps jaune primaire à J24.

A J30, seules 6 vaches parmi les 13 ayant répondu à l'hCG possédaient toujours un corps jaune accessoire soit 46,1% des vaches répondeuses, ou 27,3% des vaches ayant reçu de l'hCG. La durée moyenne de persistance des corps jaunes accessoires formés lors de notre étude était de $17,3 \pm 5$ jours, ce qui veut dire que les corps jaunes secondaires persistent jusqu'à J29-J30, et en moyenne $5,5 \pm 7,3$ jours après la lyse du corps jaune primaire. La lyse du corps jaune accessoire ne semble pas dépendre de celle du corps jaune primaire : seule une vache a présenté une lyse simultanée de son corps jaune accessoire et de son corps jaune primaire. Inversement, deux vaches ont vu leur corps jaune secondaire subir une lutéolyse respectivement à J22 et à J26, soit 4 et 11 jours avant la lutéolyse de leur corps jaune primaire.

Le diamètre maximal atteint par le corps jaune accessoire est directement lié avec sa durée de survie : tous les corps jaunes ayant survécu jusqu'à J30 ont atteint un diamètre maximal d'au moins 2cm (entre 2,1 et 2,9cm), soit un diamètre maximal moyen de $2,4 \pm 0,3$ cm. Au contraire, les corps jaunes accessoires dont la lutéolyse a eu lieu avant J30 n'ont jamais atteint ces 2 cm de diamètre, les diamètres maximaux de ces derniers allant de 1,1cm à 1,9cm pour un diamètre maximal moyen de $1,5 \pm 0,3$ cm. Aucune liaison statistiquement significative n'a pu être mise en évidence entre la taille du follicule présent à J12 et la taille du corps jaune accessoire formé. La taille du follicule à J12 n'influence pas les chances de persistance à J30 du corps jaune accessoire obtenu suite à la lutéinisation de ce dernier : le diamètre moyen à J12 des follicules ayant donné un corps jaune lysé avant J30 est de $1,38 \pm 0,32$ cm alors que celui des follicules ayant donné un corps jaune toujours présent à J30 est de $1,36 \pm 0,36$ cm ($p > 0,05$).

Aucun lien significatif n'a pu être mis en évidence entre la durée de vie du corps jaune primaire et celle du corps jaune accessoire ($p > 0,05$). La durée de vie du corps jaune accessoire n'est pas non plus influencée par le côté sur lequel s'est formé le corps jaune, c'est-à-dire par le fait que le corps jaune se soit formé sur l'ovaire controlatéral ou ipsilatéral au corps jaune primaire.

On note un état corporel moyen de $1,8 \pm 0,4$ pour les animaux dont le corps jaune accessoire avait disparu avant J30 alors que celui des animaux dont le corps jaune accessoire était toujours présent à J30 est de $1,7 \pm 0,5$ ($p > 0,05$). L'état corporel n'influence donc pas la survie du corps jaune.

Ainsi, la durée de vie du corps jaune accessoire formé suite à l'injection d'hCG ne semble dépendre que de la taille de ce dernier, dont le diamètre doit au moins atteindre 2 cm au pic de croissance. Une fois les corps jaunes accessoires et primaires lysés, les vaches qui avaient répondu à l'hCG ont toutes été revues en chaleur dans les jours suivant la lyse du corps jaune primaire ou accessoire (entre 24 heures et 4 jours).

TROISIEME PARTIE : DISCUSSION.

Les principales conclusions de notre étude sont que l'injection d'hCG à J12 engendre la formation d'un corps jaune accessoire chez les vaches dont le cycle comporte trois vagues folliculaires. Le corps jaune ainsi formé est bien fonctionnel, mais l'augmentation des taux de progestérone sanguins n'est que transitoire. Le corps jaune accessoire résiste dans 77% des cas à la lutéolyse du corps jaune primaire et survit en moyenne 17,3±5 jours au total. Il lyse en moyenne 5,6 jours après le corps jaune primaire. Ce travail a été mené chez des vaches laitières hautes productrices la production moyenne des vaches de l'étude pour la lactation en cours au moment de l'étude étant de 12034±2682 litres (la production la plus faible étant de 8625 litres et la plus importante de 20990 litres) contre une production moyenne par lactation et par vache Holstein en France de 8993 litres pour l'année 2008 (Contrôle laitier, 2009). La physiologie de la reproduction de ces vaches est en effet particulière. Tout d'abord, en raison d'une prise alimentaire importante, le flux sanguin hépatique de ces femelles est plus élevé, ce qui augmente le catabolisme des stéroïdes (Bech-Sabat *et al.*, 2008). La progestérone, fortement liée aux matières grasses du lait, se trouve donc aussi subir une forte exportation. Les taux circulants de progestérone sont ainsi plus faibles que chez les vaches à production moyenne, avec une réduction de l'ordre de 25% (Lucy et Crooker, 2001). De plus, ces vaches ont une plus forte propension à la perte d'état corporel lors des premières semaines de lactation et sont donc plus sujettes aux mortalités embryonnaires (Bech-Sabat *et al.*, 2008).

Nous avons utilisé une dose d'hCG de 1500 UI administrée par voie intra-musculaire. Les études réalisées à J5 ont utilisé différentes doses d'hCG allant de 1000 jusqu'à 3000 UI (Thatcher *et al.*, 2001) et 3300 (Thatcher *et al.*, 2006). Un corps jaune se forme consécutivement à l'injection quelle que soit la dose. Cependant, bien que la dose de 1000 UI d'hCG soit suffisante pour engendrer la formation d'un corps jaune accessoire fonctionnel (Stevenson *et al.*, 2008), il apparaît que les corps jaunes formés suite à l'injection de 4000 UI d'hCG sécrètent, *in vitro*, plus de progestérone suite à une stimulation par de l'hCG que ceux formés suite à des doses de 1000 ou 2000 UI d'hCG (Thatcher *et al.*, 2006).

Seules des vaches à 3 vagues folliculaires ont répondu à l'injection d'hCG par la formation d'un corps jaune accessoire. Selon Ginther (1996), un follicule de diamètre supérieur à 8 à 10

millimètres est nécessaire, pour que l'injection d'hCG engendre la lutéinisation de ce dernier. En effet, c'est à partir de cette taille que les follicules présentent des récepteurs à la LH (RcLH) sur leur granulosa, récepteurs qui via lesquels agit l'hCG (Hafez et Hafez 2000). Douze des treize vaches de notre étude ayant formé un corps jaune accessoire consécutivement à l'injection d'hCG possédaient un follicule dont le diamètre était supérieur ou égal à 10mm, et pour l'une d'elle à 8 millimètres. L'incidence de la formation d'un corps jaune accessoire augmente avec le nombre de follicules de diamètre supérieur à 10 millimètres présents sur les ovaires au moment de l'injection et ce, selon une courbe polynomiale du troisième ordre (Stevenson *et al.*, 2008). Un diamètre de 10 mm semble néanmoins être une condition nécessaire mais pas suffisante : dans notre étude, certains follicules de diamètre supérieur ou égal à 10 millimètres n'ont pas répondu à l'hCG. Ces follicules étaient ceux des vaches à 2 vagues : ces follicules étaient donc entrés en atresie, avec un diamètre en cours de diminution. Le diamètre du follicule est donc un indice de la réceptivité de ce dernier, mais le seuil de 10 millimètres ne garantit pas une réponse positive systématique.

Pour pouvoir répondre à l'hCG le follicule doit donc disposer d'une taille suffisante, or seul un cycle à trois vagues permet d'obtenir un follicule de taille suffisante à J12. En effet, la durée de dominance du follicule dominant de la première vague est significativement plus longue dans les cycles à deux vagues folliculaires comparativement aux cycles à trois vagues folliculaires (respectivement : $13,9 \pm 0,3$ jours contre $11,2 \pm 0,4$ jours) (Jaiswal *et al.*, 2009). Ainsi, seules des vaches à trois vagues folliculaires sont susceptibles de répondre à une injection d'hCG à J12. Or les génisses semblent présenter de façon prédominante et répétable au cours du temps des cycles à 2 vagues folliculaires dans 68% des intervalles inter-ovulatoires selon Jaiswal *et al.* (2009). Ainsi cela suggère que l'injection d'hCG à J12 serait peu efficace chez les génisses, chez lesquelles elle serait de toute façon peu indiquée puisque les génisses sont moins sujettes à la mortalité embryonnaire (Bèch-Sabat, *et al.*, 2008). 72,7% des vaches de notre étude présentaient un cycle à trois vagues folliculaires et 27,3% un cycle à deux vagues folliculaires ce qui n'est pas en corrélation avec la bibliographie qui rapporte une prédominance des cycles à deux vagues folliculaire (Bleach *et al.*, 2004). Les cycles à trois vagues folliculaires sont moins répétables que ceux à deux vagues folliculaires (Jaiswal *et al.*, 2009). Il est donc nécessaire de contrôler le nombre de vagues folliculaires avant l'injection d'hCG qui peut être prévu par la durée de la phase de dominance du follicule dominant de la première vague. Un examen ovarien ne peut suffire puisqu'il ne permet pas de conclure quant à l'état de croissance ou d'atresie d'un follicule de diamètre supérieur à 10 mm.

L'augmentation de la progestéronémie que nous avons observée semble due d'une part à la formation du corps jaune accessoire et d'autre part à la stimulation directe de la sécrétion de progestérone par le corps jaune primaire, ce qui est conforté par l'observation à J14 d'une augmentation de la progestéronémie chez les vaches n'ayant pas formé de corps jaune accessoire. Cette stimulation provient de l'action LH like de l'hCG sur les cellules lutéales (Schmitt *et al.*, 1996). Schmitt et ses collaborateurs ont montré en 1996 qu'une telle augmentation était due en grande partie à la formation du corps jaune accessoire suite à l'injection d'hCG. En ce qui concerne les corps jaunes secondaires formés suite à l'injection d'hCG une étude menée par Mann (2009) a montré que la progestéronémie est liée au diamètre du corps jaune la sécrétant jusqu'à ce que ce dernier ait atteint sa taille de corps jaune mature. Nous n'avons pas retrouvé cette corrélation pour le corps jaune accessoire, en effet, le seul coefficient de corrélation dont la valeur était significative correspondait au quatorzième jour de vie du corps jaune secondaire dont la phase de croissance était donc terminée. En revanche le lien significatif obtenu entre la somme des diamètres des structures lutéales présentes chez les vaches ayant répondu et la progestéronémie de ces dernières pour J20, J22 et J26 cette période correspond à la lyse des corps jaunes primaires. Cependant l'étude de Mann incluait entre 23 et 29 vaches soit le double de notre effectif ce qui peut expliquer la différence entre nos résultats et les siens.

Les vaches sélectionnées pour l'étude n'ayant pas été inséminées, nous ne disposons d'aucune donnée directe quant au taux de gestation et plus précisément quant à l'augmentation de ce dernier, augmentation, qui, rappelons le, est une des perspectives de cette étude. En effet la progestéronémie des mères après l'insémination affecte la survie de l'embryon. Des concentrations sanguines en progestérone trop basses au cours du développement pré-implantatoire diminuent fortement les taux de survie des embryons (Diskin et Morris, 2008). L'augmentation précoce de la progestéronémie obtenue suite à l'injection d'hCG augmente les taux de survie embryonnaire : dans l'étude de Thatcher *et al.* (2001) l'injection d'hCG à J5 augmente la progestéronémie périphérique de 3 à 6 ng/mL lorsque s'est formé un corps jaune accessoire et cette augmentation de progestéronémie a été associée à une augmentation des taux de gestation (+6.5% à 90 jours). Néanmoins tous les résultats ne vont pas dans le même sens : Schmitt *et al.* (1996) n'ont pas montré d'augmentation des taux de gestation après l'injection de 3000 UI d'hCG à J5 du cycle, malgré une augmentation significative de la progestéronémie (18 vs $9,7 \pm 1.2$ ng/mL) suite à cette injection. La différence d'effet sur la mortalité embryonnaire pourrait s'expliquer par des types de vaches différents. Chez Thatcher *et al.* (2001), il s'agit de vaches laitières hautes productrices (qui subissent des taux de mortalité élevés) alors que chez Schmitt *et al.* (1996), la production était plus

modérée. Le catabolisme plus importante de la progestérone chez les VLHP en ferait des vaches plus sensibles aux effets de l'injection d'hCG que les autres (Bech-Sabat *et al.*, 2008). L'augmentation de la progestérone diminuerait la mortalité embryonnaire en favorisant le transit de l'embryon dans l'oviducte, les sécrétions embryotrophiques utérines ainsi que l'élongation du trophoctoderme (Thatcher *et al.*, 2000). L'hCG interviendrait donc par l'induction d'un corps jaune secondaire et par la stimulation de la synthèse lutéale de progestérone. L'hCG pourrait agir également via la disparition du follicule dominant (qui se transforme en corps jaune secondaire). Cette disparition provoque une diminution de la production d'œstrogènes. Elle diminue l'environnement œstrogénique pendant la période de reconnaissance de la gestation et inhibe ainsi le signal lutéolytique contrôlé par l'œstradiol (Diaz *et al.*, 1998). En effet des œstradiolémies élevées sont associées à de la mortalité embryonnaire (Mann *et al.*, 1995). Les mécanismes régissant l'effet de l'hCG sur la mortalité embryonnaire ne sont donc pas complètement connus. Cependant, cette augmentation de la progestéronémie n'est que transitoire. La durée de l'augmentation de la progestéronémie consécutive à l'injection d'hCG chez les vaches ayant formé un corps jaune accessoire est inférieure à celle de la survie de ce dernier, et elle apparaît tardivement par rapport à l'implantation. C'est cette augmentation précoce de la progestéronémie qui est recherchée dans les études pour lesquelles l'hCG est utilisé à J5. Il n'existe pas dans la littérature d'autre essai d'injection d'hCG à J12. A ce stade du cycle seule la GnRH a été testée.

La GnRH agit selon de même principe sur le follicule pré-ovulatoire en engendrant la lutéinisation de ce dernier et la formation d'un corps jaune accessoire. La méta-analyse réalisée par Peters *et al.* (2000) regroupant les résultats de 19 études portant sur les effets de l'injection de GnRH entre J11 et J14 après l'insémination sur la progestéronémie des vaches ayant formé un corps jaune accessoire suite à cette injection ainsi que sur le taux de mortalité embryonnaire de ces vaches comparés à ceux de vaches témoins met en évidence des résultats extrêmement variables d'une étude à l'autre. En effet, bien qu'une augmentation de la progestéronémie soit observée après la formation d'un corps jaune accessoire, l'effet sur la mortalité embryonnaire varie l'autre (de +22.1% à -3.9%) selon les études. La diminution de la mortalité serait proportionnellement plus importante chez les vaches laitières hautes productrices, et plus largement dans des exploitations dont le niveau d'étable est élevé. Toutefois, l'hCG semble avoir une efficacité supérieure à la GnRH, avec une augmentation moindre de la progestéronémie dans le cas de l'utilisation de GnRH dont la demi-vie est plus courte que l'hCG, ce qui implique une stimulation de type LH moindre comparée à celle engendrée par l'injection d'hCG (Thatcher *et al.*, 2006). Ceci a été confirmé in

vitro : le corps jaune formé suite à l'injection de GnRH sécrète moins de progestérone après une stimulation à la LH in vitro que celui formé suite à l'injection d'hCG (Schmitt *et al.* 1996).

L'image échographique des corps jaunes accessoires formés suite à l'injection d'hCG était identique à celle des corps jaunes primaires. Leur distinction des corps jaunes « spontanés » a pu être réalisée grâce au suivi échographique régulier et à la réalisation quotidienne d'une cartographie de chacun des ovaires. Ainsi, les durées de survie des corps jaunes primaires et accessoires ont pu être évaluées. L'injection d'hCG réalisée à J12 a augmenté la durée de vie des corps jaunes primaires, et ce, que la vache ait répondu positivement ou non à l'injection. Les corps jaunes accessoires ont, quant à eux, présenté des durées de vie extrêmement variables, avec environ la moitié des vaches possédant toujours leur corps jaune accessoire à J30. L'apoptose des corps jaunes est due aux prostaglandines F2 α endogènes qui agissent sur les grandes cellules lutéales des corps jaunes, au contraire de l'hCG et de la LH dont les récepteurs se trouvent, eux, sur les petites cellules lutéales (Howard et Britt, 1990). Le passage du début à la fin de la phase lutéale s'accompagne d'ailleurs d'une modification du ratio grandes / petites cellules lutéales (Howard et Britt, 1990). L'injection d'hCG 48 heures après l'œstrus chez des génisses provoque sur le corps jaune primaire une diminution du rapport grandes / petites cellules lutéales du fait de la diminution du nombre de grandes cellules lutéales (Bennet *et al.*, 1989). Ceci pourrait expliquer pourquoi l'injection d'hCG à J12 a augmenté la durée de vie des corps jaunes primaires (durée de vie de 23.9 $\pm$ 5 jours contre 17 jours en moyenne) en diminuant le nombre de cellules sensibles aux prostaglandines F2 α . Selon Skarzinsky *et al.* (2008), à J12 les corps jaunes possèdent toujours des récepteurs à la LH, les corps jaunes primaires à ce stade sont donc encore sensibles à l'hCG.

La progestérone possède une fonction paracrine mais aussi autocrine. En effet, la progestérone stimule la sécrétion de prostaglandines F2 α au début de la vie du corps jaune avant d'en inhiber la sécrétion à partir de la moitié de la vie du corps jaune. De plus, bien que le mécanisme en soit encore inconnu, la progestérone inhibe à la fois l'expression des gènes *Fas* et de *caspase-3* ainsi que l'activité de ces derniers qui sont des acteurs de l'apoptose des corps jaunes (Schams et Berisha, 2004 ; Skarzynski, *et al.* 2008). Néanmoins lorsqu'un corps jaune primaire est soumis à un environnement riche en progestérone pendant sa formation (de J0 à J3), ce dernier aura une durée de vie écourtée et la durée du cycle œstral sera alors réduite (Batista *et al.*, 1984 ; Garret *et al.*, 1988 ; Howard et Britt, 1990). A l'aide d'un cathéter situé dans la veine cave postérieure, Cooper et ses collaborateurs (1991) n'ont pu mettre en évidence aucune différence significative entre les profils de sécrétion de PGFM et d'ocytocine selon que les bovins possèdent un corps jaune

de durée de vie écourtée ou un corps jaune de durée de vie normale. Le seul point notable est l'apparition précoce du pic de prostaglandines 2alpha chez les vaches dont la lyse du corps jaune est elle-même précoce. Une comparaison histologique et biochimique des corps jaunes formés suite à une injection d'hCG à J6 avec des corps jaunes primaires de même stade n'a pu montrer aucune différence entre les deux types de corps jaune que ce soit entre les quantités d'ADN, d'ARN ou encore les concentrations des différentes protéines (Fricke *et al.*, 1991). Les dernières données concernant la physiologie du corps jaune chez les bovins révèlent l'intervention de nombreux facteurs : cytokines, hormones, neuropeptides, qui interviennent à tour de rôle lors de la formation, le fonctionnement ou encore la lyse du corps jaune. Certaines molécules possèdent des rôles opposés en fonction du cycle de vie d'un même corps jaune. C'est notamment le cas de la progestérone qui stimule la sécrétion de prostaglandine F2alpha en début de cycle pour l'inhiber au milieu du cycle. L'activité lutéotrope de l'hCG, l'augmentation consécutive de la progestéronémie avec le rôle lutéotrope de la progestérone elle-même, sont autant de facteurs pouvant expliquer l'augmentation de la durée de vie des corps jaunes primaires. Cependant, cela ne nous permet pas d'expliquer les variations importantes observées pour les durées de vie des corps jaunes accessoires avec une moyenne de $17,3 \pm 5$ jours avec des durées de vie s'échelonnant entre 10 et 24 jours. Ce qui est, pour une partie des corps jaunes accessoires, trop court puisque nous attendions que ces derniers soient toujours présents à J30. De nombreux auteurs ont inversement constaté que la durée de vie des corps jaunes formés suite à l'injection d'hCG était écourtée. Ce corps jaune accessoire, formé suite à l'injection d'hCG à J12 est sensible aux prostaglandines même dans les 5 premiers jours suivant l'injection au contraire des corps jaunes primaires (Howard et Britt, 1990).

La lutéolyse a lieu suite à une cascade d'activation qui débute par l'action de prostaglandines 2alpha qui activent les médiateurs de l'apoptose, l'EDN1 et le monoxyde d'azote (NO) qui se sont révélés être des acteurs majeurs de l'apoptose (Schams et Berisha, 2004 ; Skarzynski *et al.*, 2008). Cependant, le processus de lutéolyse est encore incomplètement connu et il reste difficile d'expliquer pourquoi certains corps jaunes formés suite à l'injection d'hCG ont une durée de vie réduite et variable. Nous avons mis en évidence l'existence d'un diamètre seuil de 2cm au-delà duquel le corps jaune persiste jusqu'à J30, sans lien significatif entre la durée de survie et la note d'état corporel, ou le diamètre du follicule pré-ovulatoire.

Avec une survie moyenne de $17,3 \pm 5$ jours, 46.1% de corps jaune sont donc toujours présents à J30, date à laquelle a lieu le premier diagnostic de gestation. Un des objectifs de notre étude était d'induire chez toutes les vaches diagnostiquées non gestantes à J30 un corps jaune ;

pourraient recevoir une injection de prostaglandines afin de déclencher des chaleurs plus rapidement afin de réduire le délai entre les deux inséminations. Néanmoins dans notre étude, seules 27.3% des vaches traitées à l'hCG ont répondu et présentaient encore un corps jaune à J30. Ce pourcentage est assez faible comparé aux 80% de chances d'observer un corps jaune sensible aux prostaglandines lors du diagnostic de gestation à J30

CONCLUSION

En conclusion, l'injection d'hCG à la dose de 1500 UI par voie intra-musculaire chez des vaches laitières hautes productrices de race Prim'Holstein à J12 de leur cycle engendre la formation d'un corps jaune accessoire chez les vaches présentant un cycle à trois vagues folliculaires. Le corps jaune ainsi formé est fonctionnel car il augmente significativement la progestéronémie des vaches chez lesquelles il se forme. L'injection d'hCG semble également avoir une action sur le corps jaune pré-existant car ce dernier présente une durée de vie augmentée. Bien que non significative, l'augmentation de la progestéronémie des vaches n'ayant pas formé de corps jaune accessoire implique la nécessité d'une étude comparative avec des vaches ne recevant pas d'hCG, l'augmentation de la progestéronémie imputable à l'hCG (provenant des sécrétions du corps jaune primaire stimulé et du corps jaune accessoire) pourrait alors être évaluée. Le rôle physiologique de la progestérone dans la gestation permet de poser l'hypothèse que cette augmentation de la progestéronémie induirait une diminution de la mortalité embryonnaire. Toutefois, l'augmentation obtenue dans notre étude est très transitoire. Les résultats mitigés obtenus par l'injection de GnRH à J12 prouvent la nécessité d'une étude à grande échelle avec l'injection d'hCG à J12 sur des vaches inséminées. Les tendances qui ressortent de cette étude, à savoir l'impact plus important de l'injection sur la mortalité embryonnaire chez les vaches laitières hautes productrices, associées aux différences de métabolisme des stéroïdes chez ces vaches indiquent également la nécessité d'une étude comparative de l'action de l'injection d'hCG à J12 chez des vaches laitières standard et des vaches laitières hautes productrices. Un point supplémentaire à étudier avant d'envisager l'injection d'hCG à J12 comme un outil de lutte contre la mortalité embryonnaire à long terme est son pouvoir antigénique. En effet, l'hCG ainsi que l'eCG (equine Chorionic Gonadotropin) peuvent engendrer la formation d'anticorps (Binelli *et al.*, 2001), l'efficacité maximale de l'hCG serait donc obtenue lors de son utilisation sur un animal naïf pour décroître au fur et à mesure des utilisations et donc de la formation d'anticorps anti-hCG. Ainsi, une étude sur le long terme avec plusieurs injections consécutives pourrait présenter un intérêt non négligeable. Le second point de notre étude réside également dans le fait d'avoir au moment du premier diagnostic de gestation, soit à J30, des corps jaunes secondaires toujours présents. Ainsi, en cas de diagnostic de gestation négatif à J30, une simple injection de prostaglandines, peut être mise en place afin de pouvoir remettre la vache plus rapidement à la reproduction, ce qui constitue un gain de temps et d'argent non négligeable pour l'éleveur, puisque le coût d'une IA ratée est estimée à 38 euros en élevage laitier (Hobe, Journées nationales des GTV, 2008) contre 4 euros pour une injection de prostaglandines (centravet, 2008).

BIBLIOGRAPHIE

BARBAT A, GION A, DUCROCQ V. L'évaluation génétique de la fertilité chez les bovins laitiers en France. Journée de formation CSAGAD, Institut de l'élevage, Janvier 2008.

BARTOLOME JA, *et al.* Synchronisation and resynchronisation of inseminations in lactating dairy cows with the CIDR insert and the Ovsynch protocol. *Theriogenology*, 2009, **72**, 869-878.

BECH-SABAT G, *et al.* Factors affecting plasma progesterone in the early fetal period in high producing dairy cows. *Theriogenology*, 2008, **69**, 426-432.

BINELLI M, THATCHER WW, MATTOS R, BARUSELLI PS. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. *Theriogenolog*, 2001, **56**, 1451-1463.

BLEACH E, GLENCROSS R, KNIGHT P. Associations between ovarian follicle development and pregnancy rates in dairy cows undergoing spontaneous oestrous cycles. *Society for Reproduction and Fertility*, 2004, **127**, 621-629.

CHAGAS E SILVA J, DINIZ P, LOPES DA COSTA L. Luteotrophic effect, growth and survival of whole versus half embryos and, their relationship with plasma progesterone concentrations of recipient dairy heifers, *Animal Reproduction Science*, 2008, **104**, 18-27.

CHAGAS E SILVA J, OPES DA COSTA L. Luteotrophic influence of early bovine embryos and the relationship between plasma progesterone concentrations and embryos survival, *Theriogenology*, 2005, **64**, 49-60.

CHASTANT S, MIALOT J.P. La gestation. Cours de reproduction bovine de troisième année. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, 1995.

CHASTANT S. Actualités sur le cycle de la vache. *Le Point vétérinaire*, 2005, **36** (numéro spécial), 10-15.

CHERRY JA, HOU X, RUEDA BR, DAVIS JS, TOWSON DH. Microvascular endothelial cells of the bovine corpus luteum : A comparative examination of the estrous cycle and pregnancy. *Journal of Reproduction and Development*, 2000, **54** (3), 183-191.

DIAZ T, SCHMITT EJP, THATCHER MJ, THATCHER WW. Human chorionic gonadotropin induced alterations in ovarian follicular dynamics during the oestrus cycle of heifers, *Journal of Animal Science*, 1998, **76**, 1929-1936.

DISKIN MG, MORRIS DG. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. *Reproduction in Domestic Animals*, 2008, **43**(2), 260-7.

FUNSTON RN, LIPSEY RJ, GEARY TW, ROBERTS AJ. Effect of administration of human Chorionic Gonadotropin after artificial insemination on concentrations of progesterone and conception rates in beef heifers. *Journal of Animal Science*, 2005, **83**, 1403-1405.

GEARY TW, SALVERSON RR, WHITTIER JC. Synchronization of ovulation using GnRH or hCG with the CO-Synch protocol in suckled beef cows. *Journal of Animal Science*, 2001, **79**, 2536-41.

GEISERT R.D, MALAYER J.R. Implantation. *In: Lippincott, Williams et Wilkins editors. Reproduction in farm animals*, 2000, 126-139.

GINTHER OJ, WILTBANK MC, FRICKE PM, GIBBONS JR, KOT K. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biology of Reproduction*, 1996, **55**, 1187-1194.

GOUVEIA NOGUEIRA MF, MELO DS, CARVALHO LM, FUCK EJ, TRINCA LA, BARROS CM. Do high progesterone concentrations decrease pregnancy rates in embryo recipients synchronized with PGF2alpha and eCG. *Theriogenology*, 2004, **61**, 1283-1290.

GRIMARD B, CHASTANT S, BOIN E. Gynécologie bovine. Atlas d'échographie, bases et applications pratiques. *Laboratoire Intervet*, 2000.

HAFEZ B, HAFEZ E.S.E. Physiology of reproduction. *In: Lippincott, Williams et Wilkins editors. Reproduction in farm animals*, 2000 (a), 31-33.

HAFEZ B, HAFEZ E.S.E. Reproductive cycles. *In: Lippincott, Williams et Wilkins editors. Reproduction in farm animal*, 2000 (b), 55-68.

HAFEZ B, HAFEZ E.S.E. Folliculogenesis, Egg maturation and ovulation. *In: Lippincott, Williams et Wilkins editors. Reproduction in farm animal*, 2000 (c), 69-81.

- HAFEZ B, HAFEZ E.S.E. Transport and survival of gametes. *In: Lippincott, Williams et Wilkins editors. Reproduction in farm animals*, 2000 (d), 82-95.
- HAFEZ B, HAFEZ E.S.E. Fertilization and cleavage. *In: Lippincott, Williams et Wilkins editors. Reproduction in farm animals*, 2000 (e), 110-125.
- HOWARD HJ, BRITT H. Prostaglandin F causes regression of an hCG induced corpus luteum before day 5 of its lifespan in cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*, 1990, **90**, 245-253.
- HOWARD HJ, SCOTT RG, BRITT JH. Associations among progesterone, estradiol-17 β , oxytocin and prostaglandin in cattle treated with hCG during diestrus to extend corpus luteum function. *Prostaglandins*, 1990, **40**, 51-70.
- HOWARD JM, MANZO R, DALTON JC, FRAGO F, AHMADZADEH A. Conception rates and serum progesterone concentration in dairy cattle administered gonadotropin releasing hormone 5 days after artificial insemination. *Animal Reproduction Science*, 2006, **95**, 224-233.
- HUMBLOT P. Protéines spécifiques de la gestation chez les ruminants. *Reproduction, Nutrition and Development*, 1998, **28**, 1753-1762.
- JAINUDEEN M.R, HAFEZ E.S.E. Reproductive failure in females. *In: Lippincott, Williams et Wilkins editors. Reproduction in farm animals*, 2000, 261-278.
- JAISWAL RS, SINGH J, MARSACK L, ADAMS GP. Repeatability of 2-wave and 3-wave patterns of ovarian follicular development during the bovine estrous cycle. *Theriogenology*, 2009, **72**, 81-90.
- KAHN. W. Atlas de diagnostic échographiques, examen gynécologique et reproduction. Equin. Bovin. Ovin. Caprin. Porcin. Chien. Chat. *Editions Maloine, Paris*, 1994, 83-167.
- KARIMI A, SHABANKAREH HK, MOEINI MM. The effect of administration of different levels of GnRH on the day 0, 5 and 12 post-insemination on progesterone concentrations in dairy heifers. *Pakistan Journal of Biology Science*, 2007, **20**, 3620-3625.
- KORZEKWA AJ, JAROSZEWSKI JJ, WOCLAWEK-POTOCKA I, BAF MM, SKARZYNSKI DJ. Luteolytic effect of prostaglandin F2 alpha on bovine corpus luteum depends on cell composition and contact. *Reproduction in Domestic Animals*, 2008, **43**(4), 464-72.

- LE MMEZEC P, BARBAT A. La fertilité des femelles laitières en France : regard sur 10 années et 37 millions d'IA. Journées de formation CSAGAD, Institut de l'élevage, Janvier 2008.
- LEDOUX D, HUMBLLOT P, CONSTANT F, PONTER A, GRIMARD B. Echecs précoces de la gestation chez la vache laitière. *Le Point vétérinaire*, 2006, **37**, 50-55.
- LUCY MC. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *Journal of dairy Science*, 2001, **84**, 1277-1293.
- MANN GE. Corpus luteum size and plasma progesterone concentration in cows. *Animal Reproduction Science*, 2009, **115**, 296-299.
- MANN GE, LAMMING GE, FRAY MD. Plasma oestradiol and progesterone during early pregnancy in the cows and the effects of treatment with busereline. *Animal Reproduction Science*, 1995, **37**, 121-131.
- MC MILLAN KL, TAUFA VK, DAY AM, EAGLES VM. Some effects of post-oestrous hormonal therapy on conception rates and resubmission rates in lactation dairy cows. Fertility in high producing dairy cows. *Britanic Society of Animal Science*, 1999, **26**, 195-208.
- MIALOT JP, PONTER A, GRIMARD B, CONSTANT F, CHASTANT-MAILLARD S. Prévention des mortalités embryonnaires chez les bovins : stratégies anti-lutéolytiques. *Bulletin des GTV*, 2004, **24**, 419-425.
- MORGAN WF, LEAN IJ. Gonadotropin-releasing hormone treatment in cattle: a meta-analysis of the effects on conception at the time of insemination. *Australian veterinary journal*, 1993, **70**, 205-209.
- MORGAN WF, LEAN IJ. GnRH treatment in cattle: a meta-analysis of the effects on conception at the time of insemination. *Australian Veterinary Journal*, 1993, **70**, 205-209.
- PETERS AR, MARTINEZ T.A, COOK AJC. A meta-analysis of the effect of GnRH 11-14 days after insemination on pregnancy rates in cattle. *Theriogenology*, 2000, **54**, 1317-1326.
- RAJAMAHENDRAN R, SIANANGAMA RC. Effect of human gonadotrophin on dominant follicles in cows: formation of accessory corpora lutea, progesterone production and pregnancy rates. *Journal of Reproduction and Fertility*, 1992, **95**, 577-84.

RUSNELL B, PIERSON RA, SINGH J, ADAMS GP, ERAMIAN MG. Level set segmentation of bovine corpora lutea in ex situ ovarian ultrasound images. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2008, **6** (33).

SAINT-DIZIER M. Baisse de la fertilité des bovins laitiers : mécanismes biologiques impliqués. Journée de formation CSAGAD, Institut de l'élevage, Janvier 2008.

SANTOS JE, THATCHER WW, POOL L, OVERTON MW. Effect of human Chorionic Gonadotropin on luteal function and reproductive performance of high-producing lactating Holstein dairy cows. *Journal of Animal Science*, 2001, **79**, 2881-2894.

SCHMITT EJ, *et al.* Differential response of the luteal phase and fertility in cattle following ovulation of the first-wave follicle with human chorionic gonadotropin or an agonist of gonadotropin-releasing hormone. *Journal of Animal Science*, 1996 (a), **74**, 1074-1083.

SCHMITT EJP, BARROS CM, FIELDS FA, FIELDS MJ, DIAZ T, KLUGE JM. A cellular and endocrine characterization of the original and induced CL after administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin on day 5 of the oestrus cycle. *Journal of Animal Science*, 1996 (b), **74**, 1915-29.

SILKE V, DISKIN MG, KENNY DA, BOLAND MP, DILLON P, MEE JF, SREENAN JM. Extent, pattern and factors associated with late embryonic loss in dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 2002, **71**(1-2), 1-12.

SKARZYNSKI DJ, FERREIRA-DIAS G, OKUDA K. Regulation of luteal function and corpus luteum regression in cows: Hormonal control, immune mechanisms and intercellular communication. *Reproduction in Domestic Animals*, 2008, **43**(2), 57-65.

STARBUCK GR, DARWASH AO, MANN GE. The detection and treatment of post-insemination progesterone insufficiency in dairy cows. Fertility in high producing dairy cows. *Britanic Society of Animal Science*, 1999, **26**, 447-450.

STARBUCK-CLEMMER MJ, HERNANDEZ-FONSECA H, AHMAD N, SEIDEL G, INSKEEP EK. Association of fertility with numbers of antral follicles within a follicular wave during the oestrus cycle in beef cattle. *Reproduction of Domestic Animals*, 2007, **42**, 337-342.

STEVENSON JS, TIFFANY SM, INSKEEP EK. Maintenance of pregnancy in dairy cattle after treatment with human Chorionic Gonadotropin or Gonadotropin-Releasing Hormone. *Journal of Dairy Science*, 2008, **91**, 3092-101.

THATCHER WW, GUZELOGLU A, MATTOS R, BINELLI M, HANSEN TR, PRU JK. Uterine-conceptus interactions and reproductive failure in cattle. *Theriogenology*. 2001 (a), **56**, 1435-1450.

THATCHER WW, *et al.* Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. *Theriogenology*, 2001(b) **55**, 75-89.

THATCHER WW, MOREIRA F, PANCARCI SM, BARTOLOME JA, SANTOS JEP. Strategies to optimize reproductive efficiency by regulation of ovarian function, *Domestic Animals Endocrinology*, 2002, **23**, 243-254.

THATCHER WW, BILBY TR, BARTOLOME JA, SILVESTRE F, STAPLES CR, SANTOS JEP. Strategies for improving fertility in the modern dairy cows, *Theriogenology*, 2006, **65**, 30-44.

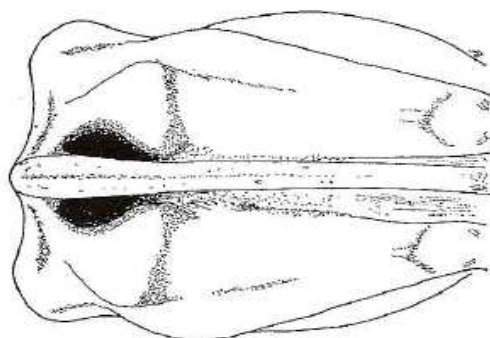
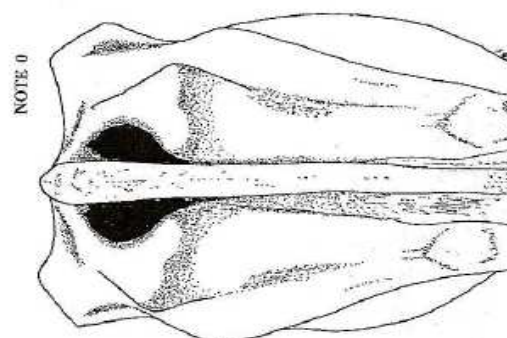
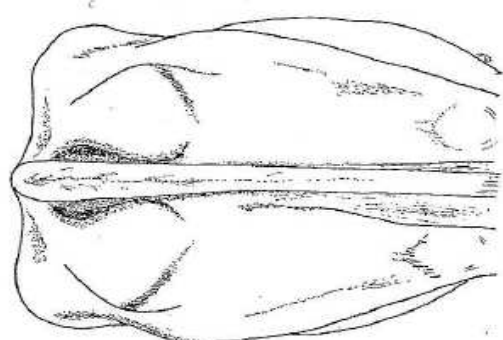
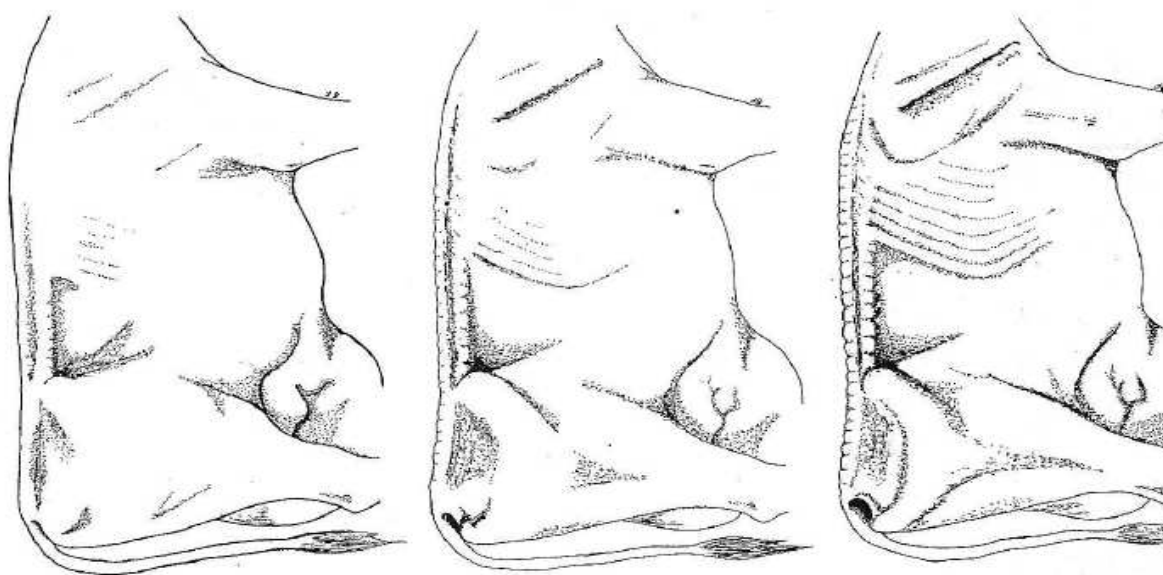
ANNEXES

Annexe 1 : Notation de l'état corporel en race Prim'Holstein (schéma) (INSTITUT DE L'ELEVAGE 2005)

Annexe 2 : Notation de l'état corporel en race Prim'Holstein (tableau) (INSTITUT DE L'ELEVAGE 2005)

Annexe 3 : Courbes représentant pour chaque vache de l'étude les diamètres des différentes structures ovariennes présentes entre J4 et J12.

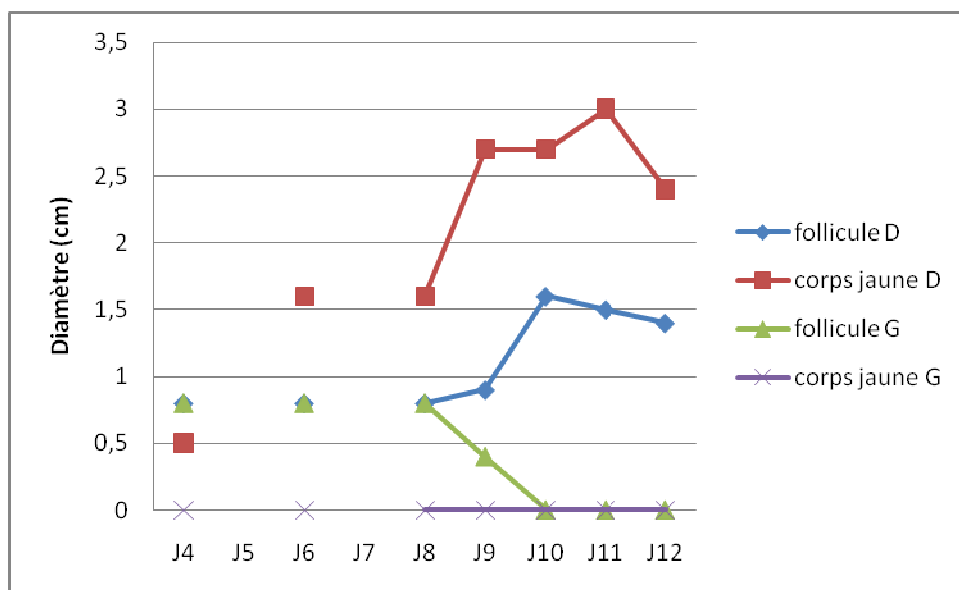
Annexe 1 : Notation de l'état corporel en race Prim'Holstein (schéma) (INSTITUT DE L'ELEVAGE 2005)



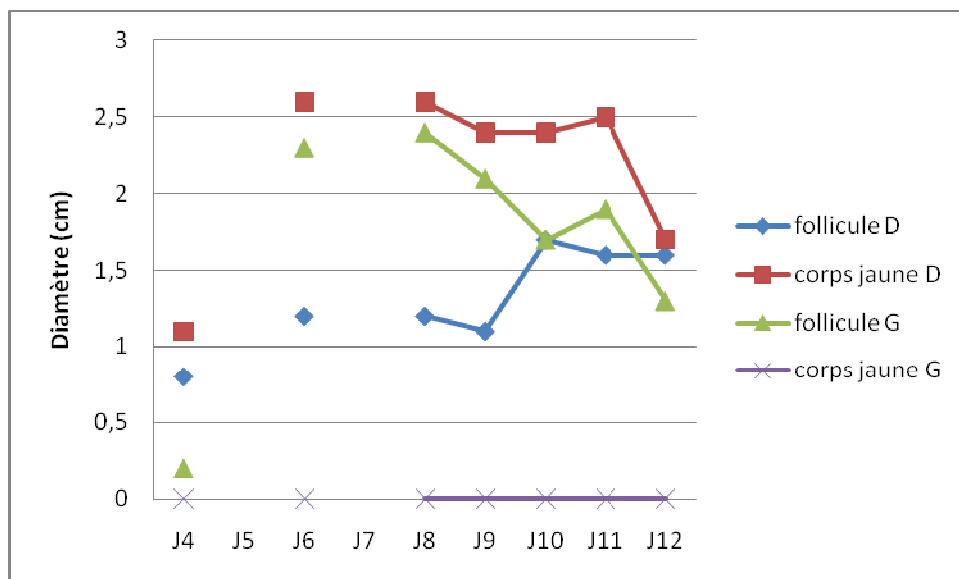
Note	5	4	3	2	1	0
Critère de note Arrière						
Base de la queue	queue noyée dans un rond de tissu gras	absence de rond, masses grasses débordant largement la pointe des fesses	queue bien dégagée, pointe des fesses couverte mais non noyée	pointe des fesses sans couverture	ensemble de la tubérosité ischiatique perceptible	le bassin est parfaitement visible
Pointe des fesses						
Ligament sacro-tubéral	invisible noyé	à peine visible	bien visible couvert, d'aspect épais et arrondi	bien isolé, légèrement couvert	aspect en lame, sec	très sec
Déroit caudal	totallement comblé	pratiquement comblé	n'est plus comblé, limites planes	profond	très profond	très creusé
Epine dorsale	dos plat ou arrondi	à peine visible, noyée dans le tissu environnant	nettement visible, couverte, régulière différence de niveau légère	ligne des apophyses épineuses marquée, peu couverte	ligne irrégulière, différence de niveau importante, corps vertébral non apparent	corps vertébral apparent
Note	5	4	3	2	1	0
Critère de note Flanc						
Pointe de la hanche	localisation précise de l'os impossible	ilium apparent angle ouvert	ilium fait saillie, reste couvert	la crête n'est pas apparente, angle bien vif	la crête devient visible	la crête est très visible
Apophyses transverses et épineuses	aucune structure repérable, rein plat, creux du flanc	colonne vertébrale repérable, rein plat, rein plat	épine dorsale bien dessinée, rein non plat, bordure des	ligne des apophyses transverses fait un angle vif	on peut compter facilement les apophyses	ligne du dos très irrégulière, apophyse

Annexe 3 : Courbes représentant pour chaque vache de l'étude les diamètres des différentes structures ovariennes.

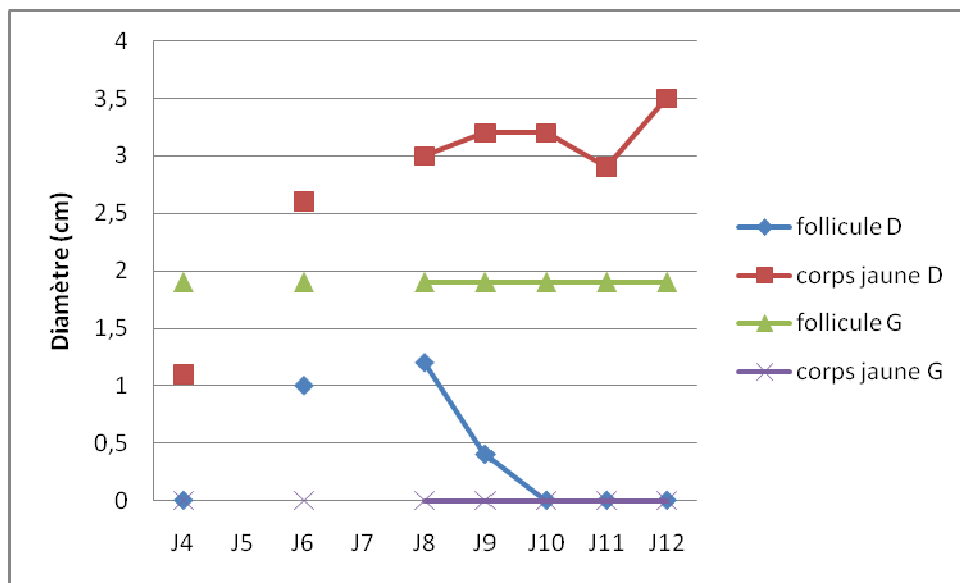
Vache n°1



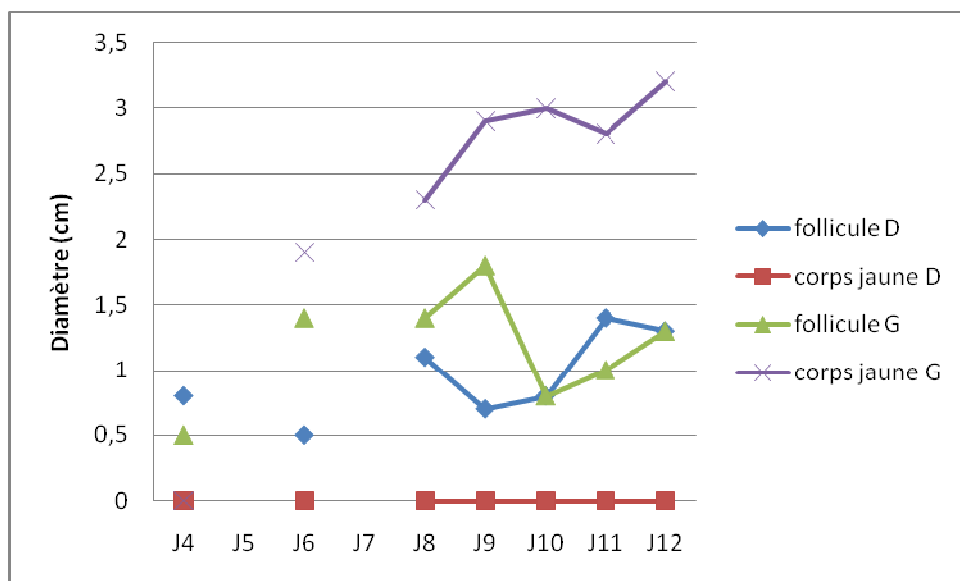
Vache n° 70



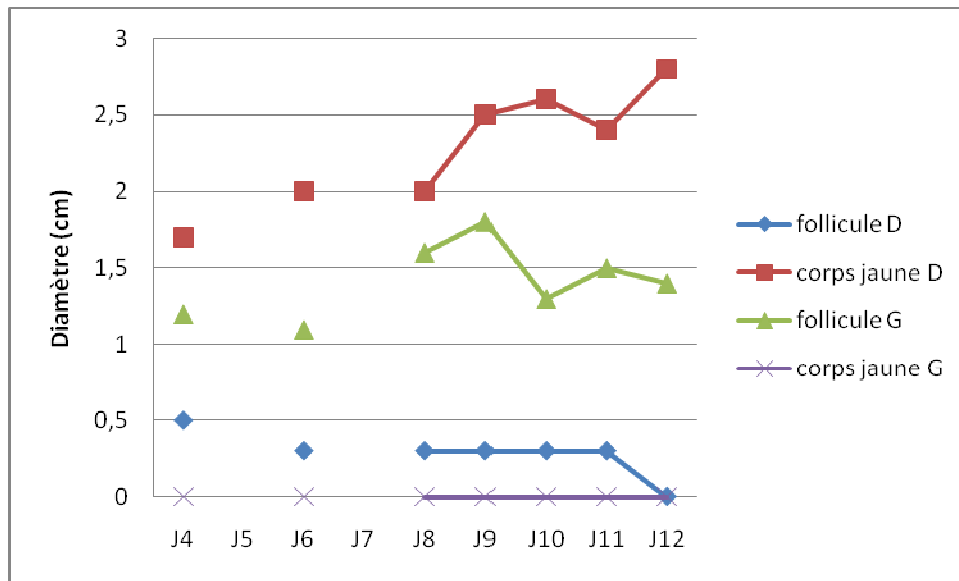
Vache n° 105



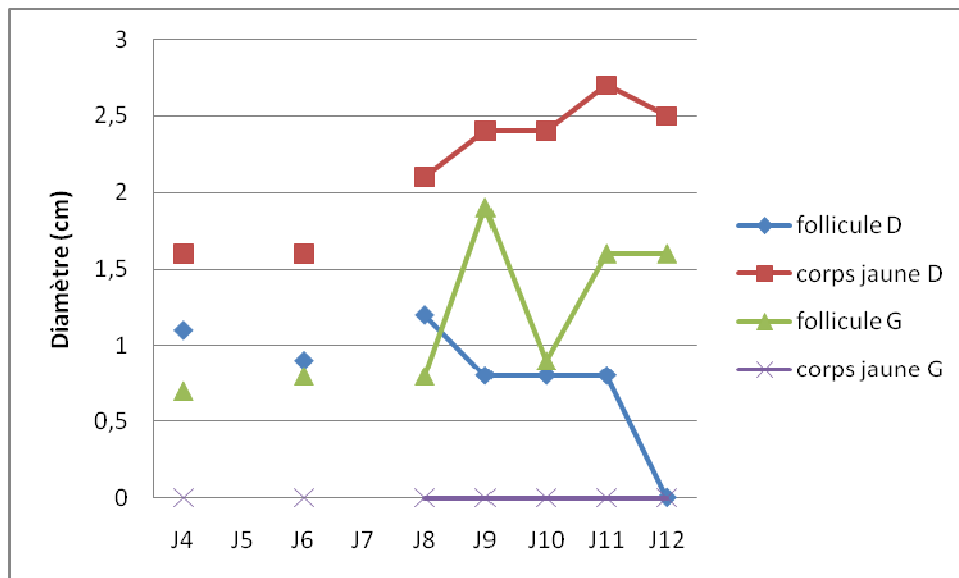
Vache n°115



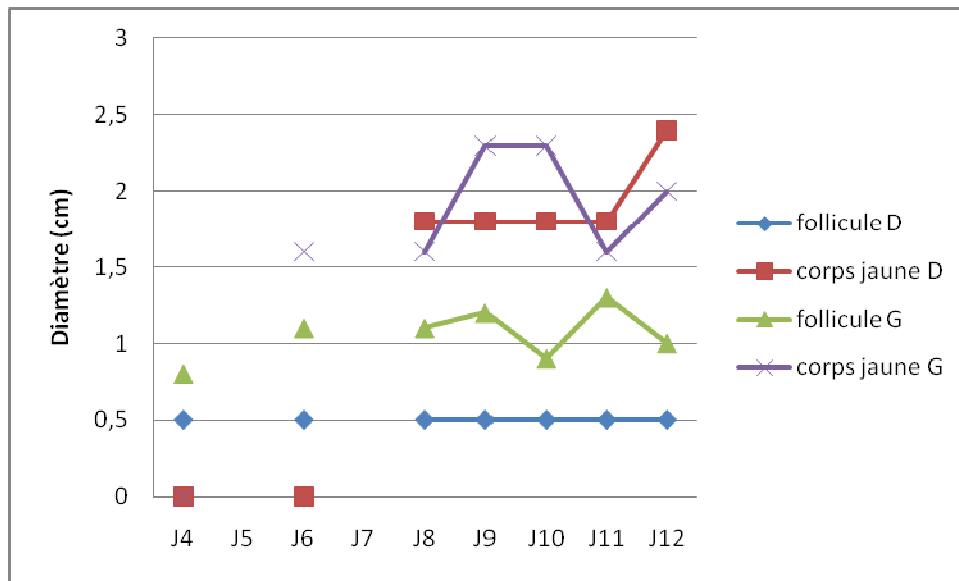
Vache n°143



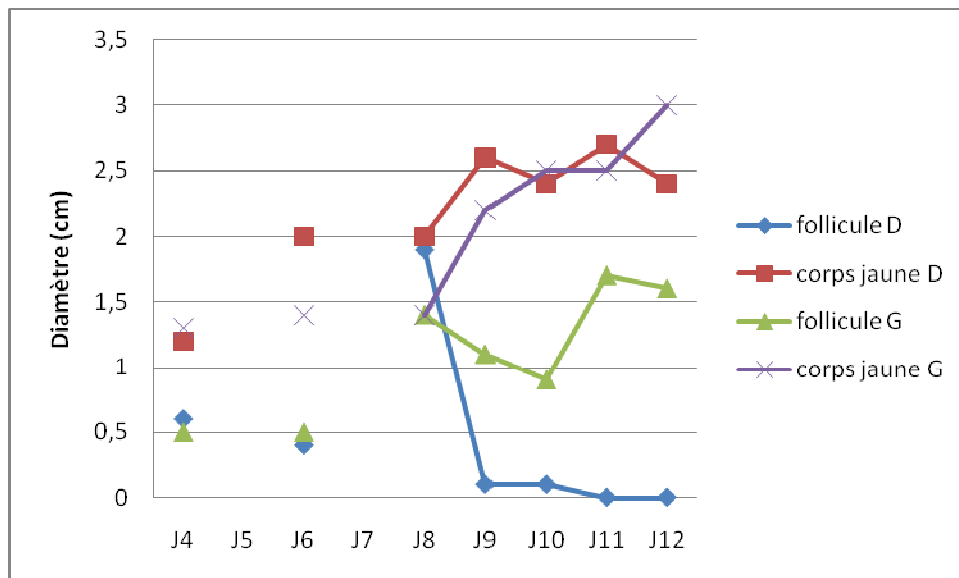
Vache n°149



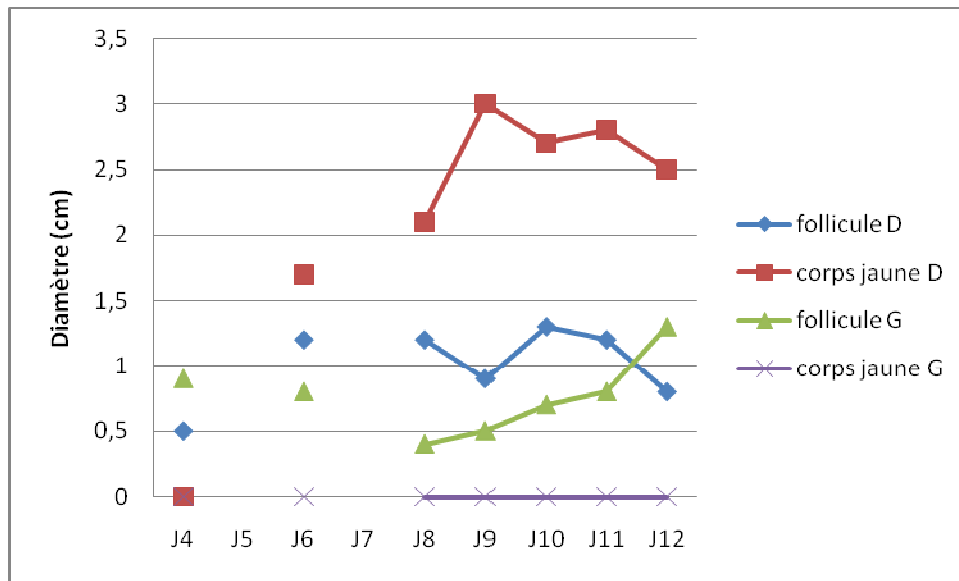
Vache n°150



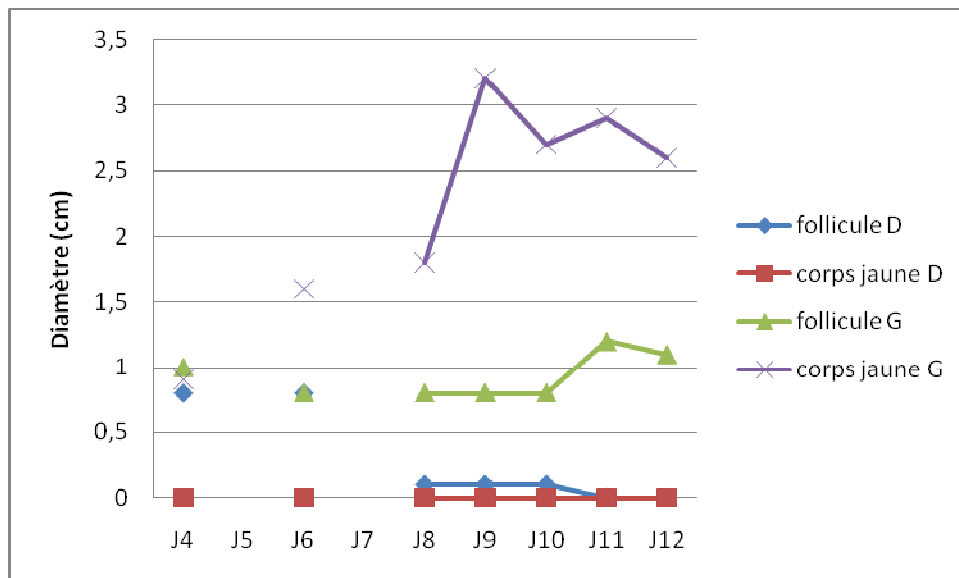
Vache n°184



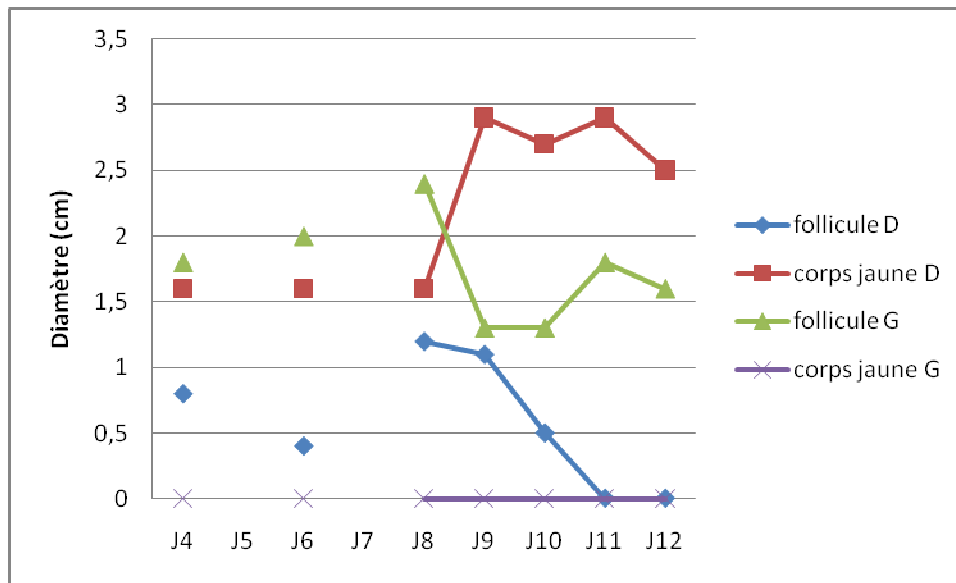
Vache n°199



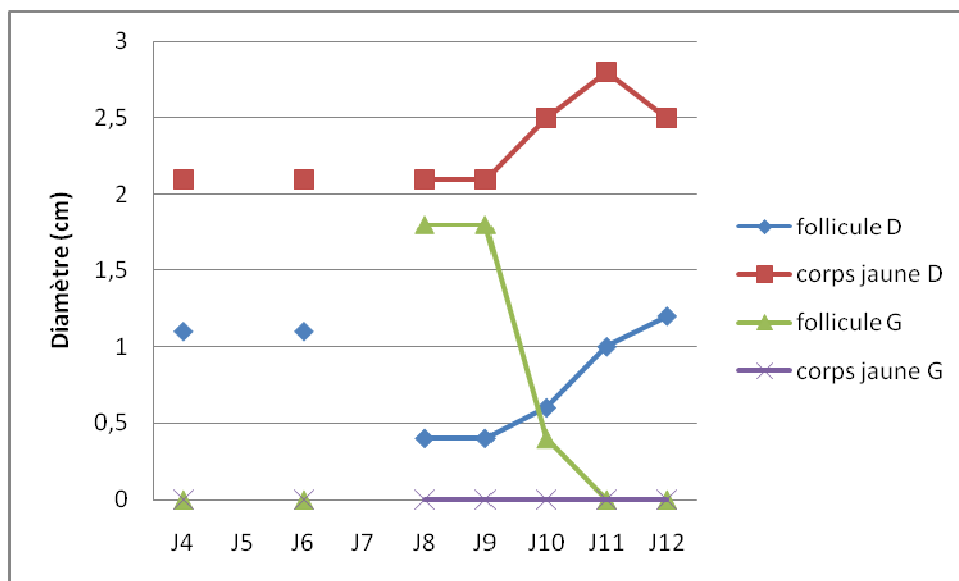
Vache n°256



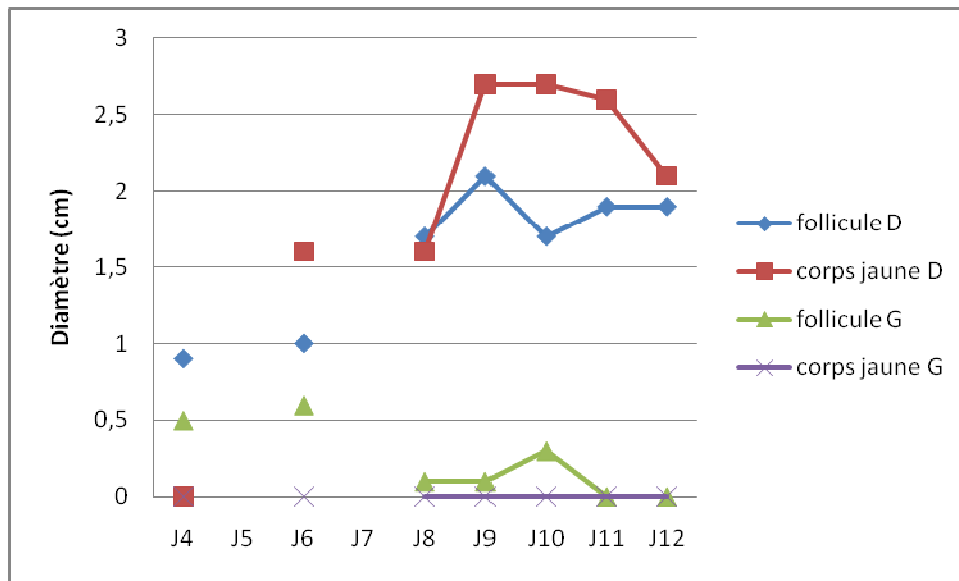
Vache n°258



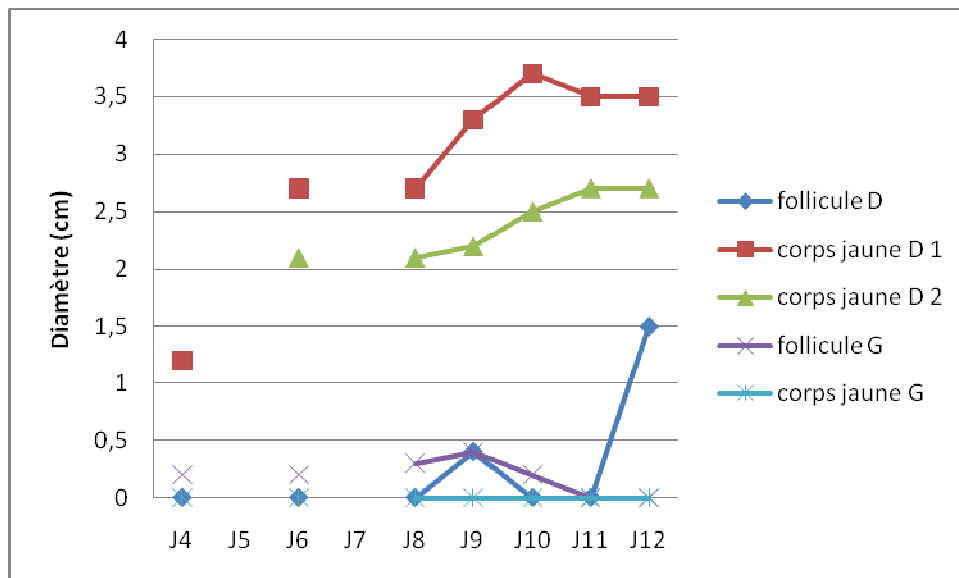
Vache n°279



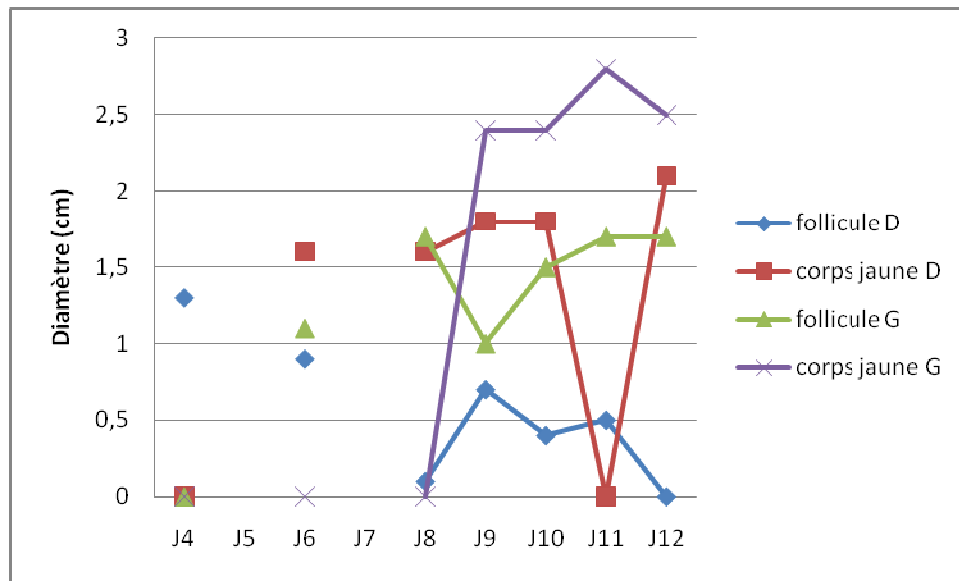
Vache n°281



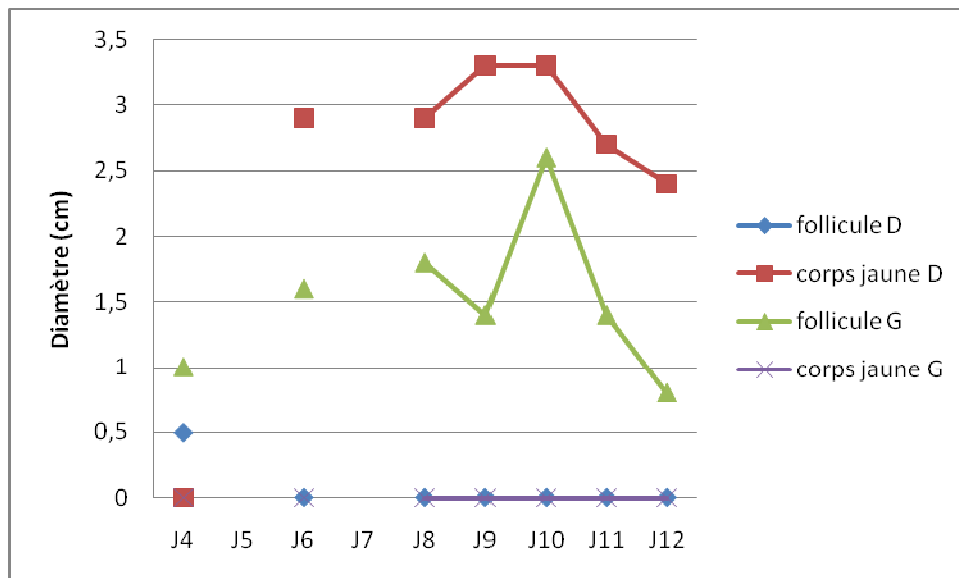
Vache n°285



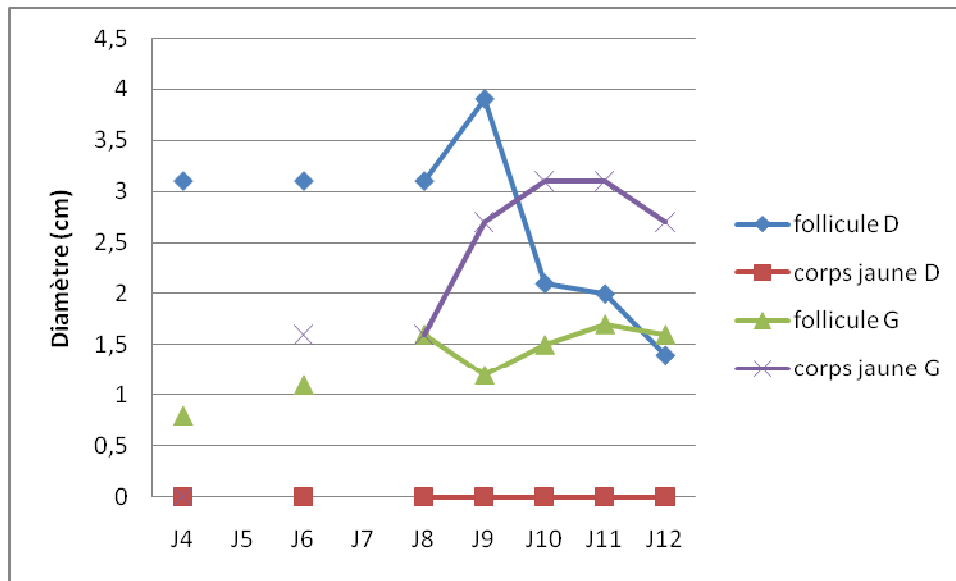
Vache n°785



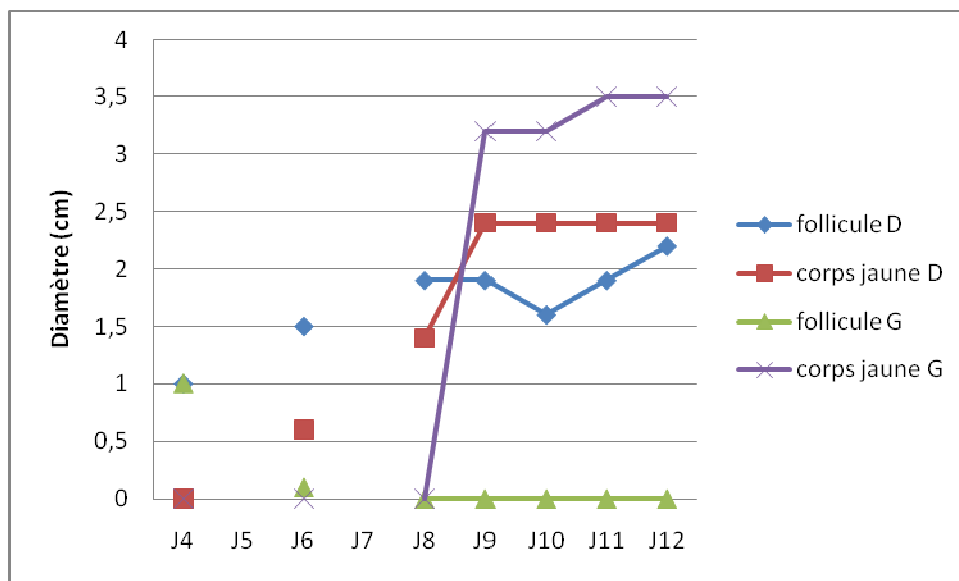
Vache n°942



Vache n°950



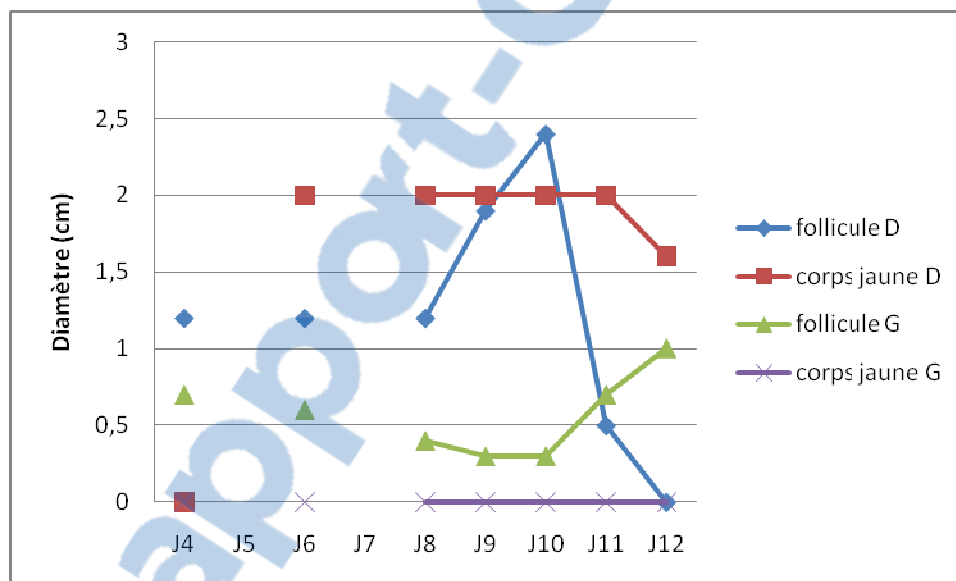
Vache n°985



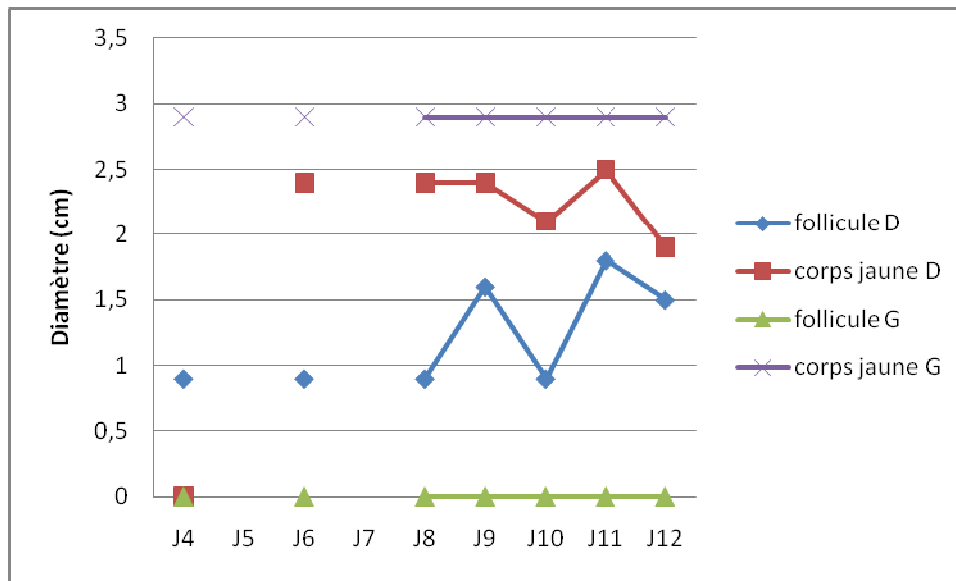
Vache n°4152



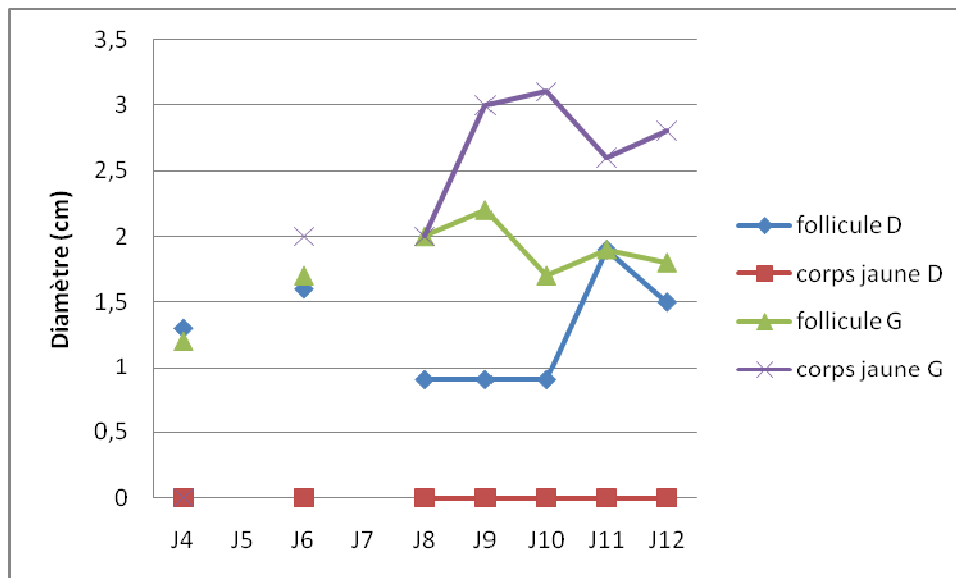
Vache n°4191



Vache n°4195



Vache n°4207



INDUCTION D'UN CORPS JAUNE SECONDAIRE PAR L'hCG EN MILIEU DE CYCLE CHEZ LA VACHE

LEGENBRE Anne-Claire

Résumé :

Dans le contexte de la lutte contre la mortalité embryonnaire et d'une réinsémination rapide des vaches diagnostiquées non gestantes, l'objectif du protocole était d'obtenir la formation d'un corps jaune accessoire augmentant significativement les progestéronémies des vaches traitées et qui soit capable de persister jusqu'à J30, date du diagnostic de gestation, permettant ainsi, par une injection de PGF2 α , une remise à la reproduction précoce des vaches vides. L'étude a porté sur 22 vaches laitières hautes productrices qui, après avoir été synchronisées par un protocole GPG, ont reçu à J12 (J0 étant l'ovulation) une injection intra-musculaire de 1500 UI d'hCG. L'injection d'hCG a engendré la formation d'un corps jaune accessoire chez 13 vaches (soit 59%). Seules les vaches présentant un cycle à trois vagues ont répondu à l'hCG, la formation du corps jaune accessoire étant associée à une augmentation significative de la progestéronémie. La durée de vie moyenne des corps jaunes formés suite à l'injection d'hCG a été de 17,3 $\pm$ 5 jours, avec 46,1% de ces corps jaunes encore présents à J30. Seuls les corps jaunes accessoires dont le diamètre a atteint ou dépassé 2cm ont persisté jusqu'à J30, ce facteur a été le seul à influencer significativement sur leur durée de vie.

Mots clés :

REPRODUCTION / CORPS JAUNE / CORPS JAUNE ACCESSOIRE / PROGESTERONE / MORTALITE EMBRYONNAIRE / BOVIN / VACHE.

Jury :

Président : Pr.

Directeur : Pr. S. Chastant Maillard

Assesseur : Dr. L. Tiret

Invité : Dr. MA. Driancourt

Adresse de l'auteur :

Melle Legendre Anne-Claire

Chemin du Lieu Montfort, 14100 FAUGUERNON.

INDUCTION OF AN ACCESSORY CORPUS LUTEUM WITH hCG IN MIDDLE CYCLE IN CATTLE

LEGENDTRE Anne-Claire.

Summary :

The objective of this study was to increase the plasma progesterone concentration by creating an accessory corpus luteum with an injection of hCG on day 12, which would still be receptive to PGF2 α on day 30. The study included 22 high producing dairy cows, which received an injection of 1500 UI of hCG on day 12 (day 0 being the ovulation day), after being synchronized with Ovsynch protocol. The injection induced the formation of an accessory corpus luteum in 13 cows (59%). The formation of the accessory corpus luteum is associated with a significant increase of plasma progesterone in comparison with the 9 control cows, between day 14 and day 30 (20,7% $\pm$ 0,33). The average lifespan of accessory corpus luteum is 17,3 $\pm$ 5 days, and 46,1% of the hCG induced corpus luteum were still present on day 30. The clinical assessment showed a significant statistical correlation between accessory corpus luteums whose diameter was equal to or greater than 2 cm, and their presence on day 30.

Keywords :

REPRODUCTION / CORPUS LUTEUM / ACCESSORY CORPUS LUTEUM /
PROGESTERONE / EMBRYONIC DEATH / CATTLE / COW.

Jury :

President : Pr.
Director : Pr. S. Chastant Maillard
Assessor : Dr. L. Tiret
Guest : Dr. MA. Driancourt

Author's address:

Melle Legendre Anne-Claire
Chemin du Lieu Montfort, 14100 FAUGUERNON.

