



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints> ID : 11888

To cite this version :

Saby Claire. *Intérêt de l'eCG dans le contrôle du moment de l'ovulation dans un protocole à base de progestagènes chez la vache laitière*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2014, 98 p.

Any correspondance concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr.

ANNEE 2014 THESE : 2014 – TOU 3 – 4039

Intérêt de l'eCG dans le contrôle du moment de l'ovulation dans un protocole à base de progestagène chez la vache laitière

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Claire SABY

Née le 18 janvier 1988 à Lavaur (Tarn)

Directeur de thèse : Pr Sylvie CHASTANT-MAILLARD

JURY

PRESIDENT :
M Olivier PARANT

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :
Mme Sylvie CHASTANT-MAILLARD
Mme Nicole HAGEN-PICARD

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :
M René FOURNIER

Responsable technique Gamme Reproduction bovine,
MSD, Beaucauzé

**Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE**

Directeur : M. Alain MILON

**PROFESSEURS CLASSE
EXCEPTIONNELLE**

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les Industries agro-alimentaires*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

**PROFESSEURS 1°
CLASSE**

- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*

**PROFESSEURS 2°
CLASSE**

- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*
- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

**N. PROFESSEURS CERTIFIES DE
L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE**

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

**MAITRES DE CONFERENCES HORS
CLASSE**

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

**MAITRES DE CONFERENCES (classe
normale)**

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
Mlle **FERRAN Aude**, *Physiologie*
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*
Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
Mlle **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
Mme **PRADIER Sophie**, *Médecine interne des équidés*
M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*
Mme **TROGELER-MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie (disponibilité à cpt du 01/09/10)*
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*
Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS

- M. **BOURRET Vincent**, *Microbiologie et infectiologie*
Mme **FERNANDEZ Laura**, *Pathologie de la reproduction*

**ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE
CONTRACTUELS**

- Mlle **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie*

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Olivier PARANT

Professeur des Universités

Praticien hospitalier

Gynécologie - Obstétrique

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,

Hommages respectueux.

A Madame le Professeur Sylvie CHASTANT-MAILLARD

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie de la Reproduction,

Qui a encadré ce travail et l'a gratifié d'une relecture attentive,

Pour sa patience, son écoute, et son soutien,

Sincères remerciements.

A Madame le Professeur Nicole HAGEN-PICARD

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie de la Reproduction,

Qui a très aimablement accepté de faire partie de notre jury de thèse,

Sincères remerciements.

A Monsieur le Docteur René FOURNIER,

Responsable technique Gamme Reproduction bovine, MSD, Beaucouzé

Pour avoir été à l'initiative du sujet de cette thèse et pour sa contribution

Sincères remerciements.

REMERCIEMENTS

A Madame Catherine Viguié,

Pour son aide précieuse lors de la réalisation de la phase expérimentale de ce travail,
Pour sa disponibilité et sa relecture attentive des résultats.

A Monsieur Faouzi Lyazrhi,

Pour m'avoir éclairé dans le monde obscur des statistiques,
Pour sa patience et sa bonne humeur.

A Monsieur Francis Enjalbert,

Pour ses nombreux conseils durant l'année de A5 et pour avoir accepté de relire une partie du
manuscrit.

A Monsieur Eric Eychenne et à toute sa famille,

Pour nous avoir accueilli dans son élevage chaque jour avec le sourire, pour toute l'aide
apportée, sincères remerciements.

A ma famille,

Pour votre soutien inconditionnel depuis le jour où j'ai annoncé que je voulais être vétérinaire, pour être souvent venu me voir en prépa, pour m'avoir toujours encouragée dans mes projets divers et variés. **Papa**, merci parce que tu m'as toujours poussé à dépasser mes limites et à ne pas me satisfaire de mes acquis. **Maman**, merci pour tes milliers d'attentions, pour l'ouverture d'esprit que tu as essayé de m'inculquer et parce que tu n'as jamais cessé de lutter contre mon esprit « cartésien », merci d'avoir su modérer Papa quand il le fallait. A vous deux, c'est parfait ! Votre réaction du mois de juillet 2009 reste un de mes meilleurs souvenirs... Merci **à mon frère et à mes sœurs**, pour tous les bons moments partagés ensemble, pour votre soutien et vos encouragements pendant ces années d'études.

Aux BCPST et Post BTS d'Auzeville, à Tristan, Julia, Clément, Suzanne, Clémentine, Marine, Vincent Pug, Florent, Sarah V, Nicolas, Hugues, Matthieu Petit et bien d'autres...

Merci pour ces années passées ensemble, pour toutes nos soirées du mercredi soir, pour nos moments de partage avec les post-BTS, pour les férias, pour les réveillons du nouvel an. Que cela continue, car la famille Auzevilloise, c'est quelque chose de fort...

A mes copromos de l'ENVT,

Aurélie, merci pour tous les moments partagés depuis notre premier jour en poulotte et pour notre belle amitié.

Diane et Marine, l'année de A4 n'aurait jamais été si parfaite sans vous, sans Martine, sans nos fous-rires, nos potins.

Darty, notre niveau en anglais nous a réuni un beau matin de poulot, une amitié est née, notre intérêt pour la bovine (après avoir hésité tous les deux pour la canine, on se l'accorde) nous permet de passer une très belle dernière année ensemble. Nos discussions bovine – mariage vont me manquer...

Simon, mon binôme, le passage avait été trop bref en prépa, à l'ENVT, j'ai découvert Simon Brasssss. Merci pour tout ce que tu m'as apporté, pour ton écoute, pour m'avoir supporté, pour nos révisions à la tisane, pour nos discussions interminables... Merci d'être un ami exceptionnel.

Au Jungle Touch, Flo, Sarah, Dodie, Delphine, Fanny, merci pour vos nombreuses invitations à faire la fête, pour votre état d'esprit et votre joie de vivre à tous ! Un merci à mon plus préféré du Jungle, nul ne l'ignore, **Samuel**, mes cinq années à l'ENVT n'auraient pas été les mêmes sans toi. Nos discussions de boom, mais aussi les plus sérieuses, vont me manquer mais je sais que la distance n'aura pas raison de notre grande amitié.

Alban, Claudia, Louise, Jennifer, Marie B, merci pour les soirées et les bons moments passés ensemble.

A tous les vétérinaires et assistantes vétérinaires qui ont contribué à ma formation,

La clinique vétérinaire de Sémalens : **Claude, Philippe, Mathieu, Marie-Claude et Dominique**, Merci pour tout ce que vous m'avez appris et pour m'avoir fait confiance.

La clinique vétérinaire du Lézard Bleu : **Nicolas, Gérard, Pascal, Baudoin, Pierre, Christelle, Julie, Nathalie, Karine, Eliane, Barbara, Fabienne, Jo**. Un immense merci à vous tous, pour les 3 mois où vous avez vu débarquer dans votre contrée lointaine une « Toulousaine ». Un merci plus particulier à **Gilles** et **Laurent** qui m'ont supporté le plus souvent dans leur Berlingo. Merci pour tout ce que vous avez su me partager et m'apprendre mais surtout, pour m'avoir donné le cours le plus important : le cours d'humilité... « *Les vrais bons sont toujours humbles* ».

Un grand merci aussi à **Régine** pour m'avoir accueillie chez elle pendant mon exil lorrain. Le service de patho Repro de Toulouse : Merci à **M. Berthelot, Laura, Nicole** et **Sylvie** pour les nombreuses discussions, les pauses café et les goûters qui m'ont plusieurs fois sauvé de l'hypoglycémie. Merci d'avoir toujours eu le sourire à chacune de mes (très nombreuses) apparitions en Repro.

A mes vieilles amies,

Anne-Claire, merci pour notre longue et belle amitié, pour toutes les bêtises qu'on a pu faire ensemble, quand je pense à toi, j'ai forcément le sourire !

Caroline et Anne-Laure, un coin de Bourgogne, quelques limaces, de nombreux fous rires, un monde à refaire. 10 ans après, vous êtes toujours aussi géniales. Surtout les filles, ne sortez jamais de ma vie ! Les week-ends à trois sont désormais des week-ends à six, la vie avance mais pas sans vous !

A Sarah,

Merci pour avoir été la voisine et la colocatrice la plus exceptionnelle du monde, pour tout ce qu'on a partagé en prépa avec Juju (des soirées en boîte aux week-ends à faire des DM de maths), pour nos interminables coups de fil en langage involontairement codée, pour ton soutien sans faille dans toutes les situations (des plus dramatiques aux plus comiques), pour ton caractère capable de supporter le mien...

Merci d'être toi, d'être exceptionnellement géniale et puis « t'es mon amie point ».

A Vincent,

Cette thèse, tu l'as vécue avec moi. Autant dans sa partie expérimentale où, rempli de courage, tu m'as accompagné au milieu des vaches, que dans sa partie rédaction où tu as su m'encourager avec ténacité et patience à la fois.

Merci d'avoir cru en nous dès le début. Merci pour ton immense amour et d'avoir choisi de m'aimer pour la vie.

SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES	11
LISTE DES TABLEAUX	14
LISTE DES ABREVIATIONS	15
INTRODUCTION	16
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	18
A- Troubles périovulatoires	18
I. Variabilité du moment de l'ovulation	18
1. Physiologie de l'ovulation	18
2. Moment de l'ovulation.....	20
II. Hypoprogéstonémie péri-ovulatoire	21
B- L'eCG et troubles périovulatoires de la vache	23
I. L'eCG chez la jument	24
II. Structure biochimique de l'eCG	27
1. Structure polypeptidique	27
2. Structure polysaccharidique.....	30
3. Variants de l'eCG	31
III. Activité biologique de l'eCG.....	31
1. Pharmacocinétique et pharmacodynamie	31
2. Récepteur CG/LH de l'eCG.....	32
3. Bioactivité de l'eCG en système hétérologue et homologue	33
4. Une hormone immunogène.....	34
C- Utilisation de l'eCG chez les bovins	36
I. Spécialités existantes et obtention de l'eCG	36
II. Indications de l'eCG	36
III. Doses	38

IV.	Effets de l'eCG chez la vache : bilan de la littérature	40
1.	Développement folliculaire et nombre de follicules en croissance.....	40
2.	Taux d'ovulation	41
3.	Variabilité du moment de l'ovulation	42
4.	Effet lutéotrope et progestéronémie	42
5.	Taux de gestation	43
ETUDE EXPERIMENTALE		47
A-	Matériels et méthodes	47
I.	Animaux	47
1.	Description générale de l'élevage	47
2.	Recrutement des vaches	47
3.	Données recueillies avant la mise en lots	48
4.	Appariement.....	48
II.	Protocole expérimental	49
III.	Collecte des données	50
1.	Echographie ovarienne.....	50
2.	Prélèvements sanguins	50
3.	Dosages hormonaux.....	50
4.	Analyses statistiques	53
B-	Résultats	54
I.	Population étudiée	54
1.	Description de l'échantillon	54
2.	Comparabilité initiale.....	54
II.	Effet de l'eCG sur l'ovulation	56
1.	Taux d'ovulation	56
2.	Durée de l'intervalle R-O (Retrait de l'implant – Ovulation).....	57
3.	Variabilité du moment de l'ovulation	59
III.	Effet de l'eCG sur le follicule ovulatoire	59
1.	Dominance folliculaire.....	59
2.	Follicule ovulatoire	63
3.	Durée de l'intervalle R-P (Retrait de l'implant – Pic de 17 β -œstradiol)	65
4.	Variabilité dans le temps du pic de 17 β -œstradiol.....	67

IV.	Effet de l'eCG sur la progestéronémie post-ovulatoire	68
V.	Effet de l'eCG sur le taux de gestation.....	69
C-	Discussion	71
I.	Protocole expérimental.....	71
1.	Animaux.....	71
2.	Echographie	72
3.	Dosages hormonaux.....	73
4.	Choix du protocole et des doses d'eCG.....	73
II.	Résultats.....	74
1.	Variabilité du moment de l'ovulation	74
2.	Variabilité dans le temps du pic de 17 β -œstradiol.....	75
3.	Diamètre du follicule dominant	75
4.	Diamètre du follicule ovulatoire	76
5.	Taux d'ovulation	76
6.	Taux de gestation	77
7.	Concentrations hormonales.....	79
III.	Perspectives	81
1.	Utilisation de l'hCG et de la GnRH pour la synchronisation du moment de l'ovulation	81
2.	Utilisation d'œstrogènes et de FSH pour stimuler la croissance folliculaire.....	83
3.	Effets sur la progestéronémie post-ovulatoire	84
4.	Et dans l'avenir ?	85
	CONCLUSION	87
	BIBLIOGRAPHIE	89

LISTE DES FIGURES

<u>Figure 1</u> : Représentation schématique des régulations de la sélection et du développement terminal du follicule ovulatoire pendant la phase folliculaire du cycle ovarien chez la vache. D'après Monniaux <i>et al.</i> , 2009.....	19
<u>Figure 2</u> : Distribution (A) et répartition (B) des vaches en fonction de la durée de leur intervalle E-O (en h ; N=74). D'après Bloch <i>et al.</i> , 2006.	20
<u>Figure 3</u> : Progestéronémie préovulatoire en fonction de la durée de l'intervalle entre début de l'œstrus et ovulation (N=74). D'après Bloch <i>et al.</i> , 2006.....	21
<u>Figure 4</u> : Progestéronémie post-ovulatoire en fonction de la durée de l'intervalle entre début de l'œstrus et ovulation (N=74). D'après Bloch <i>et al.</i> , 2006.	22
<u>Figure 5</u> : Profil sanguin de l'eCG chez la jument au cours de la gestation. D'après Allen, 1969.....	24
<u>Figure 6</u> : Développement et différenciation du conceptus équin entre le 25 ^{ème} et le 35 ^{ème} jour après l'ovulation. D'après Allen et Steward, 1993.	25
<u>Figure 7</u> : Représentation schématique du développement des cupules endométriales chez la jument gravide entre 35 et 50 jours après l'ovulation. D'après Allen et Steward, 1993.	26
<u>Figure 8</u> : Séquences protéiques de la sous-unité α des gonadotropines. D'après Saint-Dizier (2004) et la banque de données Swiss-Prot.....	27
<u>Figure 9</u> : Séquences protéiques de la sous-unité β de la LH et de la CG de quelques mammifères. D'après Saint-Dizier (2004) et la banque de données Swiss-Prot.....	28
<u>Figure 10</u> : Structure tridimensionnelle de l'hCG. D'après Combarous <i>et al.</i> , 2001.....	29
<u>Figure 11</u> : Structure d'un récepteur de gonadotropine. D'après Combarous <i>et al.</i> , 2001. ...	32
<u>Figure 12</u> : Schéma général d'un protocole de synchronisation des chaleurs utilisant de l'eCG. D'après Chastant-Maillard, 2005.	37
<u>Figure 13</u> : Schéma de traitement de superovulation par l'eCG. D'après Laizeau, 2003.....	38
<u>Figure 14</u> : Recommandations concernant la dose d'eCG à administrer en fonction du type de production, de la saison, de la race et de l'état physiologique. D'après MSD.....	39
<u>Figure 15</u> : Protocole mis en œuvre	49

<u>Figure 16</u> : Courbe étalon représentant les pourcentages de liaison de la progestérone marquée à l'iode ¹²⁵ en fonction des concentrations théoriques en progestérone dans les sérums.....	52
<u>Figure 17</u> : Effet de la dose d'eCG reçue sur le taux d'ovulation (p=0,41) en fonction de la dose d'eCG administrée	56
<u>Figure 18</u> : Effet du traitement (eCG) sur le taux d'ovulation (p=0,65)	56
<u>Figure 19</u> : Durée de l'intervalle Retrait de l'implant-Ovulation (R-O) parmi les vaches ayant ovulé (p=0,82) en fonction de la dose d'eCG reçue.....	57
<u>Figure 20</u> : Effet du traitement par l'eCG sur la durée de l'intervalle Retrait de l'implant-Ovulation (R-O) parmi les vaches ayant ovulé (p=0,63)	58
<u>Figure 21</u> : Durée de l'intervalle Retrait de l'implant-Ovulation (R-O) parmi les vaches gravides selon la dose d'eCG reçue	58
<u>Figure 22</u> : Diamètre moyen du plus gros follicule : comparaison entre les vaches ayant ovulé (sous-groupe O) et celles n'ayant pas ovulé.....	60
<u>Figure 23</u> : Evolution du diamètre du follicule préovulatoire dans les jours précédant l'ovulation (p=0,04)	60
<u>Figure 24</u> : Effets de la dose d'eCG sur le diamètre moyen du plus gros follicule.....	61
<u>Figure 25</u> : Effets du traitement par l'eCG sur le diamètre moyen du plus gros follicule ; à J13, p=0,02.....	61
<u>Figure 26</u> : Suivi de la concentration sérique en 17β-œstradiol à partir du retrait de l'implant/injection d'eCG (J9) en fonction du traitement.	62
<u>Figure 27</u> : Suivi de la concentration sérique en 17β-œstradiol à partir du retrait de l'implant/injection d'eCG (J9) pour le lot 0 UI et le lot eCG.	62
<u>Figure 28</u> : Effet de la dose d'eCG sur la taille du follicule ovulatoire parmi les vaches ayant ovulé (p=0,39)	63
<u>Figure 29</u> : Effets de la dose d'eCG sur la concentration sérique en 17β-œstradiol au pic (p=0,90) pour l'ensemble des vaches (p=0,90)	64
<u>Figure 30</u> : Comparaison des concentrations sériques en 17β-œstradiol au pic entre les vaches ayant ovulé (sous-groupe O) et celles n'ayant pas ovulé (p=0,35)	64

<u>Figure 31</u> : Comparaison des concentrations sériques en 17β-œstradiol entre les vaches gravides et non gravides au terme des expériences parmi les vaches ayant ovulé (p=0,08)....	65
<u>Figure 32</u> : Effet de la dose d'eCG sur la durée de l'intervalle Retrait de l'implant-Pic de 17β-œstradiol (R-P) chez l'ensemble des vaches ayant eu un pic de 17β-œstradiol (p=0,64).....	66
<u>Figure 33</u> : Effet de la dose d'eCG sur la durée de l'intervalle Retrait de l'implant-Pic de 17β-œstradiol (R-P) parmi les vaches ayant ovulé (p=0,63).....	66
<u>Figure 34</u> : Durée de l'intervalle entre le Retrait de l'implant et le Pic de 17β-œstradiol (R-P) selon la réussite de l'IA	67
<u>Figure 35</u> : Effet des traitements sur la progestéronémie 5 jours après l'ovulation chez les vaches ayant ovulé (p=0,85).....	68
<u>Figure 36</u> : Comparaison de la progestéronémie entre vaches traitées (lot eCG, N=5) et non traitées (lot 0 UI, N=5) chez les vaches gravides (p=0,19).....	68
<u>Figure 37</u> : Comparaison de la progestéronémie 5 jours après l'ovulation entre les vaches gravides et non gravides parmi les vaches ayant ovulé (p=0,04).....	69
<u>Figure 38</u> : Effets des traitements sur le taux de gestation pour l'ensemble des vaches. A : Comparaison des quatre lots, B : Comparaison du lot traité (lot eCG) et du lot témoin (lot 0 UI)	70
<u>Figure 39</u> : Effets des traitements sur le taux de gestation parmi les vaches ayant ovulé. A : Comparaison des quatre lots, B : Comparaison du lot traité (lot eCG) et du lot témoin (lot 0 UI)	70
<u>Figure 40</u> : Concentration plasmatique en 17β-œstradiol au cours d'un cycle œstral chez la vache. D'après Martin <i>et al.</i> , 2013.	79
<u>Figure 41</u> : Progestéronémie dans les jours suivant l'IA. Comparaison entre un protocole Ovsynch classique (GPG) et un protocole Ovsynch remanié où la seconde injection de GnRH est remplacée par de l'hCG (GPH) à la dose de 3300 UI. D'après De Rensis <i>et al.</i> , 2008.....	85

LISTE DES TABLEAUX

<u>Tableau 1</u> : Bilan comparatif des différentes gonadotropines. D'après Combarous <i>et al.</i> (1984, 2001), Drion <i>et al.</i> (1998), Saint-Dizier (2004)	30
<u>Tableau 2</u> : Mise en évidence de la résistance des femelles aux traitements eCG répétés chez quelques espèces. D'après Drion <i>et al.</i> , 1998.	35
<u>Tableau 3</u> : Pourcentage des ventes des différentes présentations de CHRONOGEST PMSG [®] toutes espèces confondues en France et estimation de la répartition des ventes de CHRONOGEST PMSG [®] par espèce en fonction de la formulation D'après MSD, communication personnelle.....	36
<u>Tableau 4</u> : Bilan des différents protocoles utilisés dans les publications citées	44
<u>Tableau 5</u> : Effets de l'eCG chez la vache : bilan de la littérature.	45
<u>Tableau 6</u> : Réactions croisées vis-à-vis de différents stéroïdes lors du dosage du 17 β -œstradiol sérique	51
<u>Tableau 7</u> : Réactions croisées lors du dosage de la 17 α -hydroxy-progestérone par le kit Coat-A-Count [®] . D'après la notice d'utilisation du kit.	53
<u>Tableau 8</u> : Caractéristiques de la population (N=40).....	54
<u>Tableau 9</u> : Comparaison des lots à l'inclusion.....	55

LISTE DES ABREVIATIONS

aa : acides aminés

ACTH : AdrenoCorticoTropic Hormone

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

CJ : Corps Jaune

C_{max} : Concentration maximale

CTP : COOH-Terminal Peptide

E2 : œstrogènes

eCG : equine Chorionic Gonotropin

FD : Follicule Dominant

FO : Follicule Ovulatoire

FSH : Follicle Stimulating Hormone

GnRH : Gonadotropin Releasing Hormone

hCG : human Chorionic Gonotropin

HT : Hors Taxes

IA : Insémination Artificielle

INH : Inhibine

Intervalle E-O : Intervalle Œstrus - Ovulation

Intervalle R-O : Intervalle Retrait de l'implant - Ovulation

Intervalle R-P : Intervalle Retrait de l'implant – Pic de 17β-œstradiol

LH : Luteinizing Hormone

NEC : Note d'Etat Corporel

Ovsynch : GnRH à J0, PGF2α à J7, GnRH à J9, IA à J10

P4 : Progestérone

PGF2α : Prostaglandines F2α

PMSG : Pregnant Mare Serum Gonadotropin

RHGP : Récepteurs aux Hormones GlycoProtéiques

sd : standard-deviation (écart-type)

INTRODUCTION

La gestion de la reproduction de la vache laitière est rendue difficile en raison non seulement de la faible fertilité des animaux (avec un taux de réussite à la première IA de l'ordre de 37% en race Prim'Holstein ; Le Mézec *et al.*, 2010) mais aussi de la difficulté de détection des chaleurs et de la forte incidence d'anomalies de cyclicité chez la vache. Dans ce contexte, une solution pourrait être apportée par les protocoles de synchronisation des chaleurs, ils permettent d'induire l'ovulation sur une courte période, idéalement de façon synchrone pour plusieurs vaches. L'insémination peut avoir lieu à un moment déterminé, ce qui permet de s'affranchir de la détection de l'œstrus. Les protocoles à base de progestatif à libération prolongée font partie de ces programmes et sont d'autant plus intéressants qu'ils peuvent être utilisés sur des vaches en anœstrus. Ils permettent une amélioration de la fécondité en particulier dans les troupeaux dans lesquels la détection des chaleurs est un facteur limitant (Hagen-Picard *et al.*, 2008).

L'eCG (equine Chorionic Gonadotropin), anciennement appelée PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotropin), est associée aux progestagènes dans ces protocoles. Administrée le jour du retrait du dispositif progestatif, cette hormone, à effet biologique LH et FSH chez les bovins, est réputée agir sur la synchronisation du moment de l'ovulation et sur la mise en place du corps jaune (Chastant-Maillard, 2005 ; Bisinotto et Santos, 2012).

Dans un contexte où la variabilité du moment de l'ovulation augmente chez les vaches laitières et où une hypoprogéstéronémie post-ovulatoire apparaît comme un facteur limitant de la fertilité des femelles (Saumande et Humblot, 2005 ; Bloch *et al.*, 2006 ; Walsh *et al.*, 2011), il est intéressant de chercher à caractériser l'effet de l'eCG à l'issue d'un protocole de synchronisation de l'œstrus. Dans le travail présenté ici, l'effet de l'eCG sera évalué par la variabilité du moment de l'ovulation, le diamètre du follicule ovulatoire ainsi que par la progestéronémie post-ovulatoire. Les différentes doses de 400 UI à 600 UI préconisées dans le résumé des caractéristiques du produit et disponibles sur le marché en France seront étudiées.

Dans une première partie, à travers une étude bibliographique, nous rappellerons quelques données physiologiques concernant la maturation folliculaire et l'ovulation chez la vache avant de présenter l'eCG et son utilisation chez les bovins. Dans un deuxième temps, nous exposerons l'étude expérimentale qui compare trois doses différentes d'eCG à un lot sans eCG dans un protocole CRESTAR SO[®] (implant auriculaire progestagène, MSD, Beaucauzé, France).

Etude bibliographique

Pour essayer de comprendre le phénomène de baisse de fertilité, plusieurs études se sont intéressées à la physiologie de la vache moderne autour de l'œstrus et de l'ovulation. Parmi les troubles de la reproduction qui limitent les performances des vaches laitières deux concernent la phase périovulatoire : les ovulations tardives et l'hypoprogéstéronémie (Walsh *et al.*, 2011).

A- Troubles périovulatoires

I. Variabilité du moment de l'ovulation

1. Physiologie de l'ovulation

La folliculogénèse de la vache se déroule sous forme de vagues folliculaires, divisées en trois étapes : le recrutement, la sélection et la dominance. Le recrutement d'une cohorte de follicules dure en moyenne 3 jours et est sous le contrôle de la FSH. L'ensemble des follicules recrutés vont sécréter de l'inhibine et de l'œstradiol qui ont un effet inhibiteur sur la sécrétion de FSH par l'hypophyse. La sélection commence lorsque les concentrations plasmatiques en FSH, sous l'effet du rétrocontrôle négatif, atteignent des valeurs inférieures à celles nécessaires pour induire le recrutement (Carrière, 2012). La figure 1 représente le dialogue endocrine existant entre les follicules ovariens de la vague ovulatoire et le système hypothalamo-hypophysaire, au début, au milieu et à la fin de la phase folliculaire.

Lorsque le premier follicule de la cohorte atteint un diamètre de 9 mm, il devient dominant. Il continue de sécréter de l'œstradiol renforçant le rétrocontrôle négatif sur la sécrétion de FSH. Les follicules non dominants, dont la croissance est dépendante de FSH, vont alors s'atrophier. Quant au follicule dominant, il a acquis des récepteurs à la LH sur les cellules de la granulosa qui vont lui permettre de poursuivre son développement (Monniaux *et al.*, 2009 ; figure 1). L'augmentation du taux d'œstrogènes circulants entraîne en effet une augmentation de la fréquence des pulses de GnRH (figure 1), à l'origine de la réorientation de l'activité de synthèse hypophysaire vers la production de LH. Le follicule dominant poursuit donc sa croissance et maintient sa synthèse d'œstradiol.

Son devenir dépend ensuite essentiellement de la phase du cycle dans laquelle il se développe. Durant la phase lutéale, la sécrétion de progestérone par le corps jaune exerce un

rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus. La GnRH n'est donc pas sécrétée en quantité suffisante pour provoquer le pic de LH/FSH nécessaire à l'ovulation. Après une phase de dominance de 4 à 7 jours, le follicule dominant va s'atrophier. En revanche, s'il atteint la dominance après la lutéolyse, en l'absence de progestérone, la stimulation par les œstrogènes de l'axe hypothalamo-hypophysaire peut conduire au pic de LH et ainsi à son ovulation (Carrière, 2012).

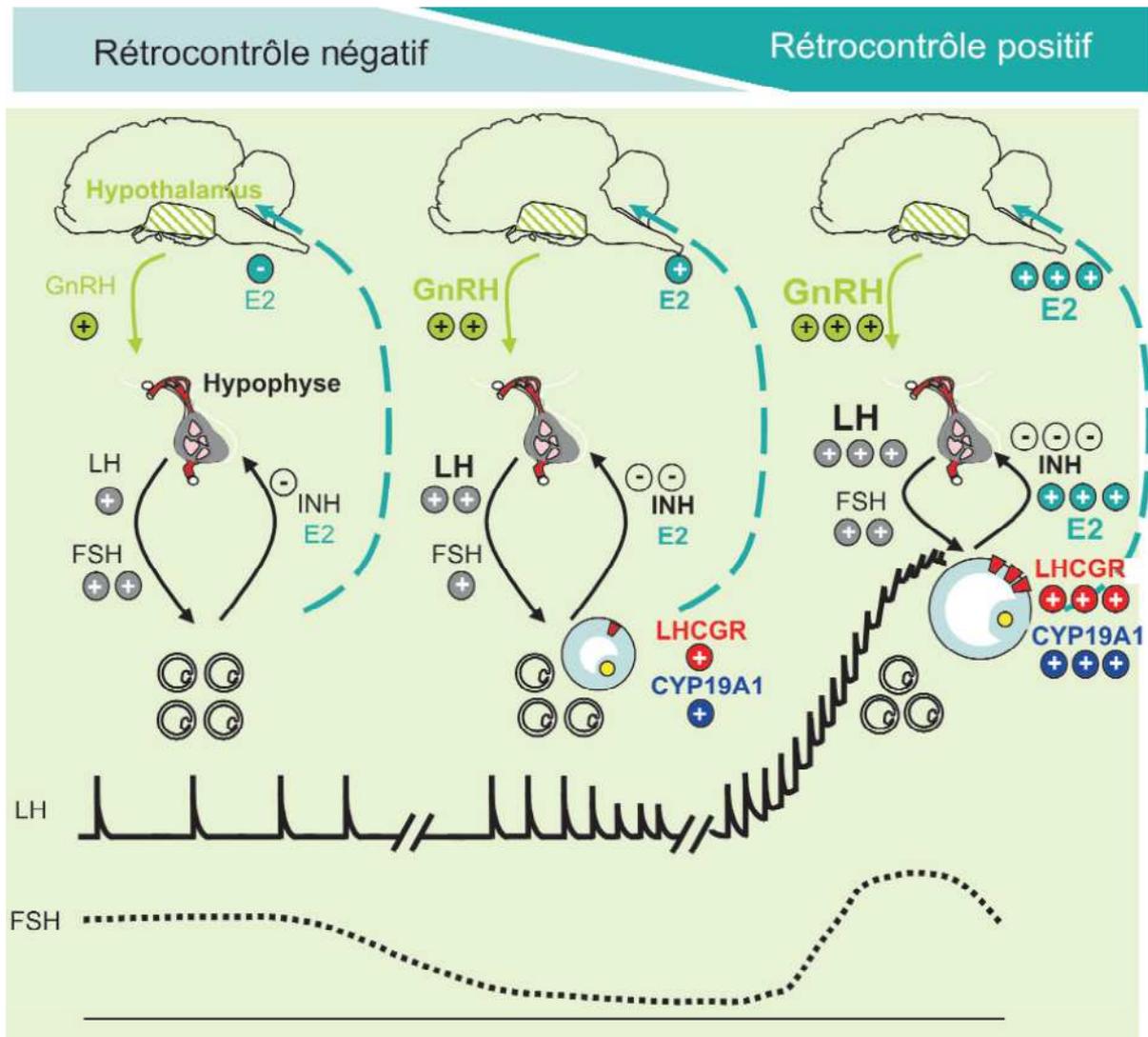


Figure 1 : Représentation schématique des régulations de la sélection et du développement terminal du follicule ovulatoire pendant la phase folliculaire du cycle ovarien chez la vache. E2 = œstradiol, INH = inhibine, LHCGR = récepteurs à LH dans la granulosa, CYP19A1 = aromatas (conversion des androgènes en œstrogènes). D'après Monniaux *et al.*, 2009.

2. Moment de l'ovulation

La probabilité de fécondation de l'ovocyte diminue dès 8 à 12h après l'ovulation. Inversement, des inséminations trop précoces, entre 25 et 40h avant l'ovulation, sont associées à une diminution du taux de gestation car la survie des spermatozoïdes est limitée dans le temps (Bloch *et al.*, 2006). Un gamète mâle bovin n'est généralement plus fertile au-delà de 28 à 50h en semence fraîche (Dauzier, 1958).

La durée de l'intervalle entre le début de l'œstrus et l'ovulation (intervalle E-O) était connue pour être d'environ 30h en moyenne d'après les observations des années 1970 (Walker *et al.*, 1996 ; Roelofs *et al.*, 2004). Saumande et Humblot (2005) ont montré une augmentation de cette durée chez des vaches modernes puisqu'elle était en moyenne de 38,5h \pm 3 au cours d'un œstrus induit par un implant progestagène CRESTAR[®] avec valérate d'œstradiol). Dans cette publication, l'augmentation de la durée de l'intervalle E-O est due à plus de 80% à l'augmentation de la durée entre le début de l'œstrus et le pic de LH. De plus, elle est corrélée négativement à la valeur du pic de 17 β œstradiol et à la taille du follicule pré-ovulatoire. Ces données suggèrent un contrôle ovarien de la durée de l'intervalle E-O (Saumande et Humblot, 2005).

Cependant, cette augmentation de durée moyenne n'est pas retrouvée dans l'étude de Bloch *et al.* (2006) qui s'est intéressée à la répartition des ovulations dans le temps suite à la détection de l'œstrus spontané. Cette étude a néanmoins montré une grande variabilité inter-individuelle avec 10% des vaches présentant un intervalle E-O supérieur à 36h (figure 2A et 2B).

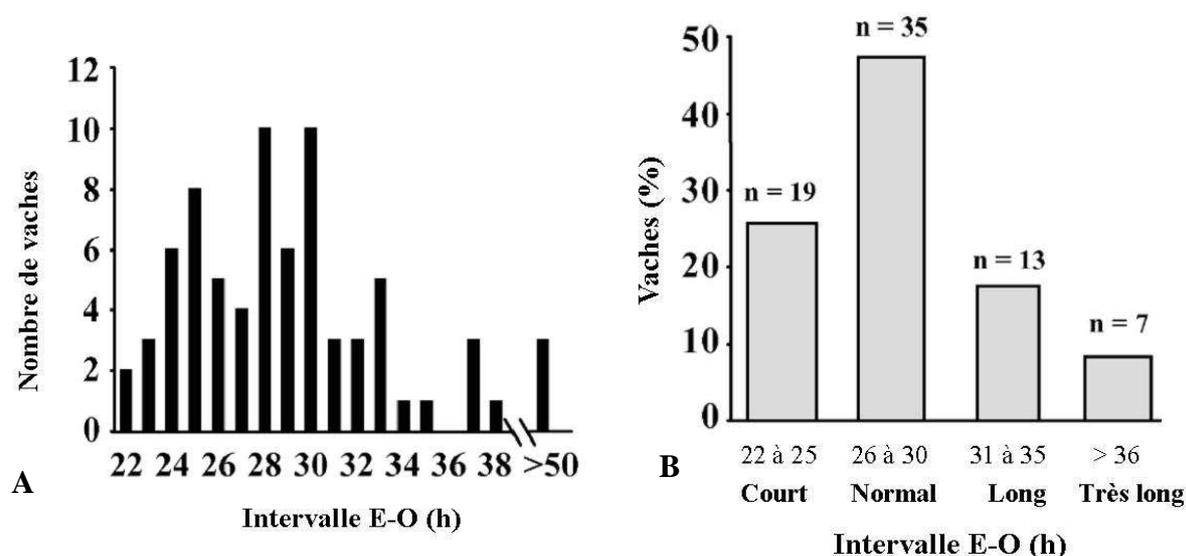


Figure 2 : Distribution (A) et répartition (B) des vaches en fonction de la durée de leur intervalle E-O (en h ; N=74). D'après Bloch *et al.*, 2006.

De même, Walker *et al.* (1996), avaient observé que malgré une durée moyenne de l'intervalle E-O d'environ 30h, 22% des vaches n'avaient pas ovulé dans les 40 premières heures. Compte-tenu de la courte fenêtre de temps durant laquelle l'ovocyte peut être fécondé, environ 8 à 12h (Bloch *et al.*, 2006), il est donc important d'inséminer chaque vache au moment adéquat pour obtenir une gestation. Il est néanmoins intéressant de noter qu'une publication récente étudiant l'effet du moment de l'insémination suite à un protocole de synchronisation Ovsynch sur 219 vaches (GnRH à J0, PGF2 α à J7, GnRH à J9, IA à J10) n'a pas mis en évidence de différences significatives entre 3 lots inséminés à 0, 12 et 24 après la seconde injection de GnRH (Bayril et Yilmaz, 2013). L'ovulation avait donc probablement lieu entre 6 et 30 heures après l'injection de GnRH (Peters *et al.*, 1999 ; Kaim *et al.*, 2003).

Malgré la forte variabilité du moment de l'ovulation par rapport au début des chaleurs, il paraît peu réaliste d'envisager le suivi échographique de chaque vache pour pouvoir l'inséminer en fonction du moment où elle aura ovulé. En revanche, induire l'ovulation pour connaître avec plus de précision le moment de son occurrence, pourrait permettre d'améliorer le taux de réussite à l'insémination artificielle (IA).

II. Hypoprogéstéronémie péri-ovulatoire

Différentes études ont évalué les facteurs associés à la variabilité de l'intervalle E-O et identifié des variations hormonales pendant la période péri-ovulatoire. En particulier, des hypoprogéstéronémies pré-ovulatoire et post-ovulatoire sont présentes lorsque l'intervalle E-O est long (Bloch *et al.*, 2006). Ainsi, les vaches ayant un intervalle E-O supérieur à 36h présentent une progéstéronémie significativement plus basse avant et après l'ovulation que celles dont l'intervalle est inférieur à 30h (figures 3 et 4).

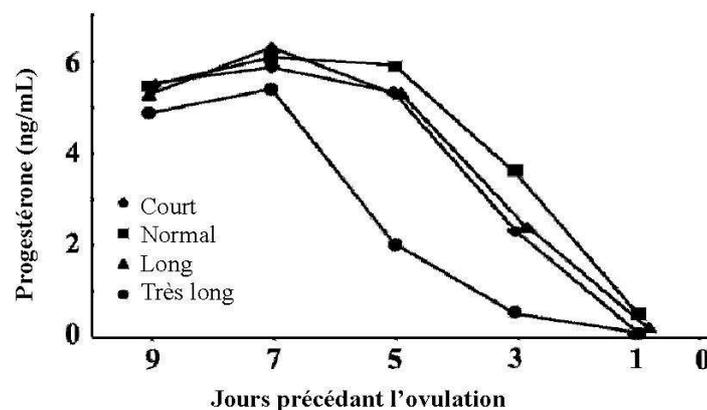


Figure 3 : Progéstéronémie préovulatoire en fonction de la durée de l'intervalle entre début de l'œstrus et ovulation (N=74). Court : 22 à 25h, Normal : 26 à 30h, Long : 31h à 35h, Très long : > 36h. D'après Bloch *et al.*, 2006.

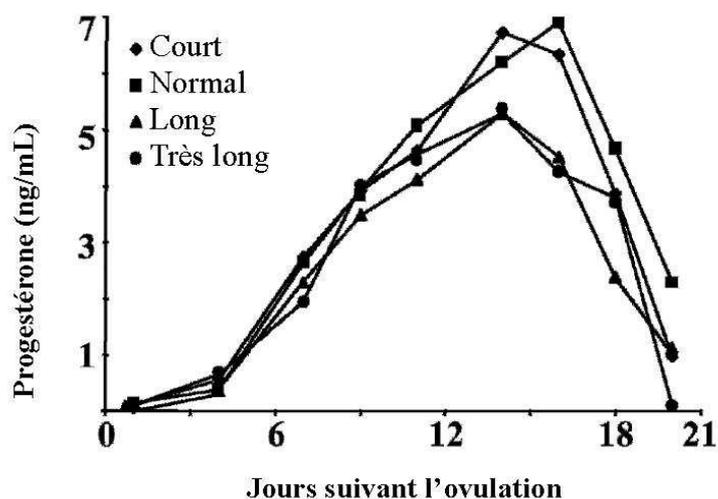


Figure 4 : Progestéronémie post-ovulatoire en fonction de la durée de l'intervalle entre début de l'œstrus et ovulation (N=74). Court : 22 à 25h, Normal : 26 à 30h, Long : 31h à 35h, Très long : > 36h. D'après Bloch *et al.*, 2006.

Les mécanismes responsables de l'hypoprogéstéronémie post-ovulatoire ne sont pas clairement établis ; il est intéressant d'observer que celle-ci est corrélée à des valeurs basses du pic d'œstradiol et du pic de LH (Saumande et Humblot, 2005 ; Bloch *et al.*, 2006). Une faible concentration en œstrogènes circulants pourrait ne pas stimuler suffisamment l'axe hypothalamo-hypophysaire ; s'en suivrait alors un pic de LH/FSH d'amplitude trop faible, responsable d'une ovulation tardive et d'une lutéinisation insuffisante du corps jaune.

Or, la progestéronémie, à la fois pré et post ovulatoire, est liée à la survie de l'embryon (Morris et Diskin, 2008). Une concentration plus élevée en progestérone lors de la phase lutéale est associée à un meilleur taux de gestation après induction de la lutéolyse par les prostaglandines F2 α et insémination artificielle (Folman *et al.*, 1990). Les chances de gestation sont même multipliées par trois pour les progestéronémies pré-ovulatoires les plus hautes (Reksen *et al.*, 2002). De même, les animaux qui montrent une augmentation plus précoce de la progestéronémie (entre les jours 4 et 7 post-IA) ont plus de probabilité de mener leur gestation à terme (Walsh *et al.*, 2011). Néanmoins, la supplémentation en progestérone en début de gestation montre des résultats inconsistants (Morris et Diskin, 2008) : l'administration de progestérone exogène pourrait conduire à un moins bon développement du corps jaune alors que ce dernier doit ensuite être capable de prendre le relais pour le maintien de la progestéronémie après l'arrêt de la supplémentation (Royal *et al.*, 2000).

En résumé, le moment de l'ovulation est donc de plus en plus difficile à prévoir lors d'un cycle spontané chez la vache laitière. Les protocoles de synchronisation des chaleurs avec induction de l'ovulation constituent un outil intéressant chez un éleveur souhaitant améliorer la fertilité de son troupeau. En permettant de préciser potentiellement le moment de l'ovulation, ils augmentent la probabilité que l'IA ait lieu au bon moment. De plus, ils contribuent à diminuer la charge de travail pour l'éleveur, la détection des chaleurs étant une tâche très chronophage. Si l'ovulation est induite à un moment précis, l'observation des chaleurs n'est plus indispensable à la réalisation de l'IA. Les traitements progestagène remplissent ce premier objectif. De plus, ils présentent l'intérêt de créer une imprégnation préovulatoire par la progestérone et, enfin, une injection finale d'eCG (equine Chorionic Gonadotropin) à action LH pourrait augmenter la progestéronémie postovulatoire en plus de contrôler le moment de l'ovulation.

B- L'eCG et troubles périovulatoires de la vache

Tous les mammifères possèdent des gonadotropines d'origine hypophysaire telles que la LH ou la FSH. Certains disposent, en plus, d'une gonadotropine d'origine placentaire (gonadotropine chorionique). Seules deux classes en sécrètent une de manière importante : les primates et les équidés. Il s'agit, chez la femme, de la choriogonadotropine humaine (hCG pour human Chorionic Gonadotropin), et chez la jument, de l'eCG (equine Chorionic Gonadotropin) auparavant appelée PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotropin).

Des travaux de biologie moléculaire ont également suggéré l'existence d'un gène codant pour une gonadotropine chorionique chez certaines espèces comme le lapin, le cobaye et la souris mais l'expression *in vivo* de ce gène n'a pas été démontrée (Clerget *et al.*, 2008). Chez les bovins, en 1983, une protéine placentaire ayant une activité biologique apparentée à celle de la LH bovine (bLH) a été isolée. Il a été conclu à l'existence d'une hormone chorionique gonadotrope bovine (bCG), dont le rôle était vraisemblablement d'assurer le maintien du corps jaune gestatif chez la vache (Ailenberg et Shemesh, 1983). Ultérieurement, Beckers *et al.* (1988) ont confirmé l'existence d'une molécule présentant des points communs avec la LH. Cependant, les travaux n'ont pas abouti à la caractérisation de la molécule, ni à la démonstration d'une composition sous-unitaire, typique des gonadotropines.

I. L'eCG chez la jument

L'eCG, découverte par Cole et Hart, est connue depuis 1933 (Cole *et al.*, 1933). Elle est mise en évidence dans le sérum de jument entre le 40^{ème} et le 130^{ème} jour suivant la fécondation (Allen *et al.*, 2002 ; figure 5A et 5B). Sa concentration sérique peut atteindre 100 UI/mL au 60^{ème} jour de gestation.

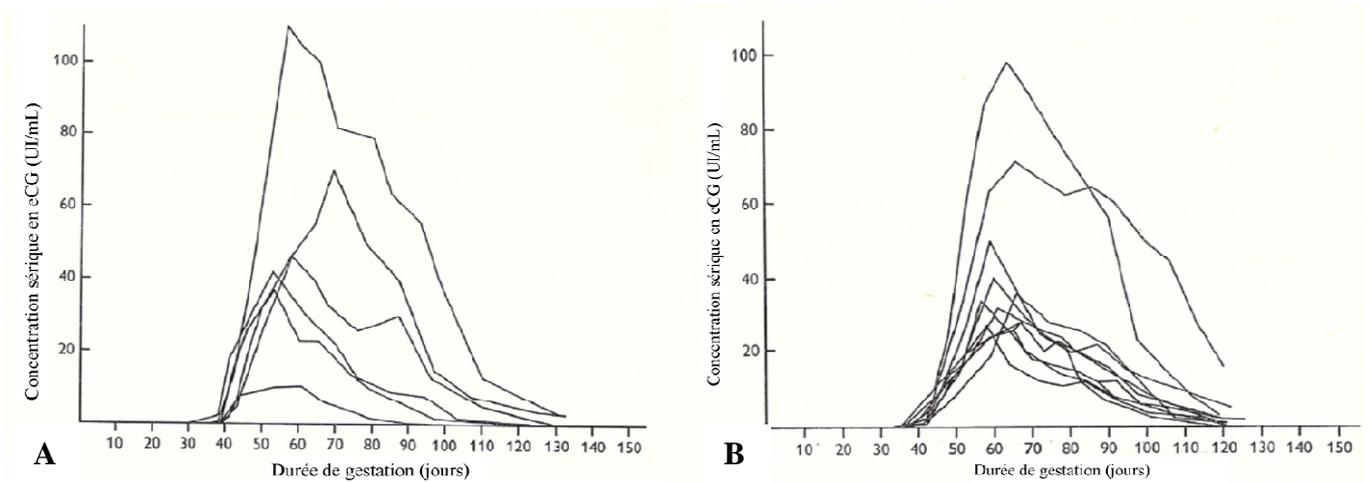


Figure 5 : Profil sanguin de l'eCG chez la jument au cours de la gestation. A : concentrations sériques en eCG chez six ponettes de race Welsh. **B :** concentrations sériques en eCG chez dix juments de race pur-sang. D'après Allen, 1969.

Très tôt, des chercheurs ont émis l'hypothèse selon laquelle le placenta pourrait être la source de production de l'hormone détectée dans le sérum des juments gravides (Cole *et al.*, 1933). L'eCG est en effet sécrétée par les cupules endométriales, structures placentaires spécifiques de l'espèce équine. Vingt-cinq jours environ après l'ovulation, un épaissement circulaire se met en place au niveau de la zone équatoriale du trophoblaste créant ainsi une structure appelée « ceinture chorionique » (figure 6). Une multiplication importante des cellules de cette ceinture va alors avoir lieu et elles vont envahir l'épithélium utérin entre les jours 36 et 38 après l'ovulation. Ces cellules vont dissocier et phagocyter l'endomètre avant de pénétrer les glandes endométriales. Cet envahissement et cette destruction simultanés permettent une colonisation du stroma utérin et, par regroupement, puis différenciation cellulaire, la formation des cupules endométriales (Allen et Steward, 1993 ; figure 7).

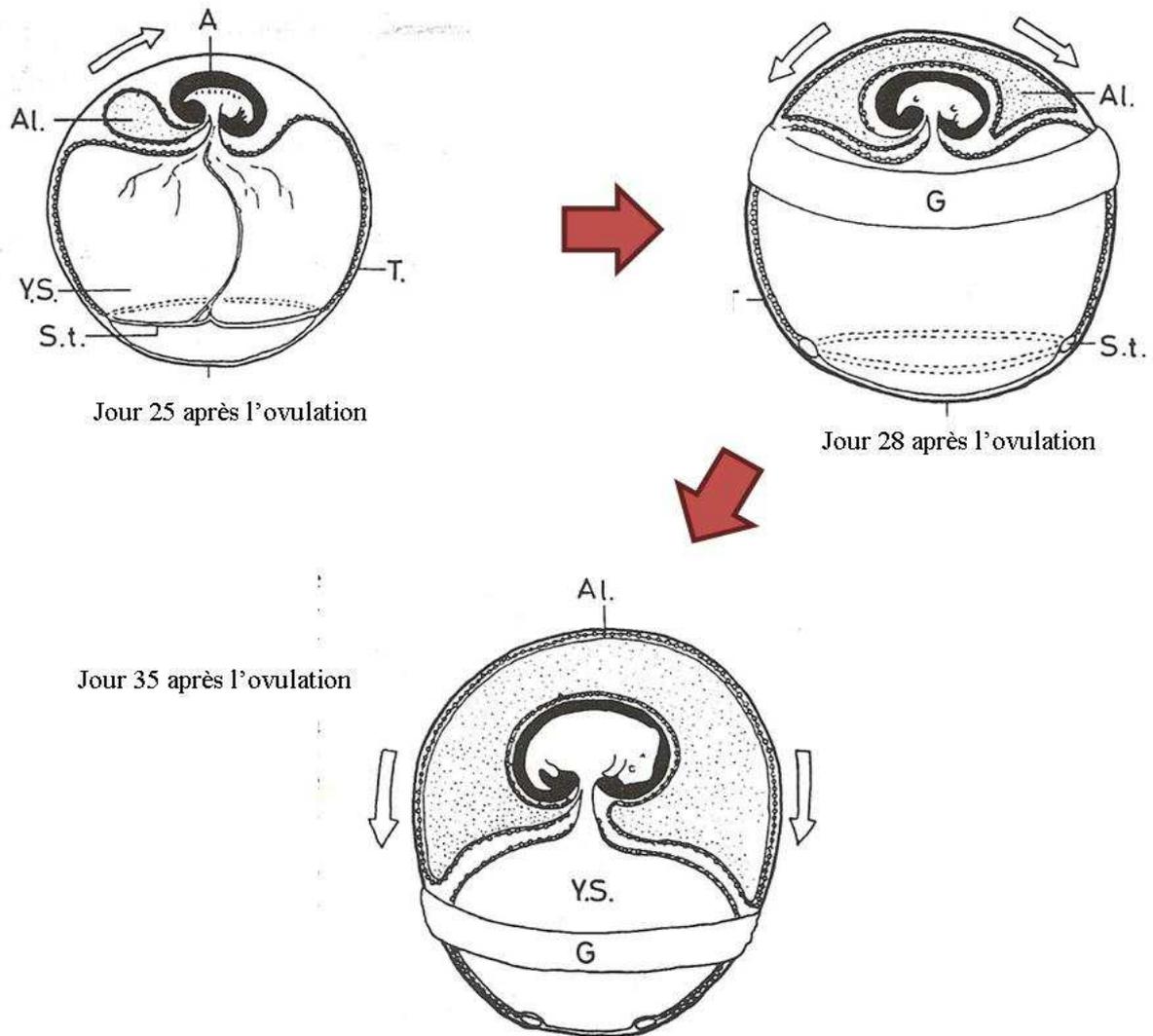


Figure 6 : Développement et différenciation du conceptus équin entre le 25^{ème} et le 35^{ème} jour après l'ovulation. A : amnios, Al. : allantoïde, G : ceinture chorionique, S.t. : sinus terminal, T. : trophoblaste, Y.S. : sac vitellin. D'après Allen et Steward, 1993.

Au 40^{ème} jour qui suit la fécondation, les concentrations plasmatiques en eCG sont de l'ordre de 20 à 30 UI/ml. Elles vont atteindre 100 UI/ml entre le 55^{ème} et le 65^{ème} jour. Ensuite, ces valeurs vont décroître régulièrement pour atteindre 5 à 10 UI/ml au 130^{ème} jour de gestation (Rowlands, 1963 ; figure 5). La baisse de la concentration plasmatique en eCG au cours de la gestation est corrélée avec la dégénérescence des cupules endométriales. Celle-ci semble être due à un phénomène immunitaire, les cellules trophoblastiques étant porteuses d'antigènes majeurs d'histocompatibilité de type paternel qui déclenchent une réaction immunitaire maternelle (Drion *et al.*, 1998).

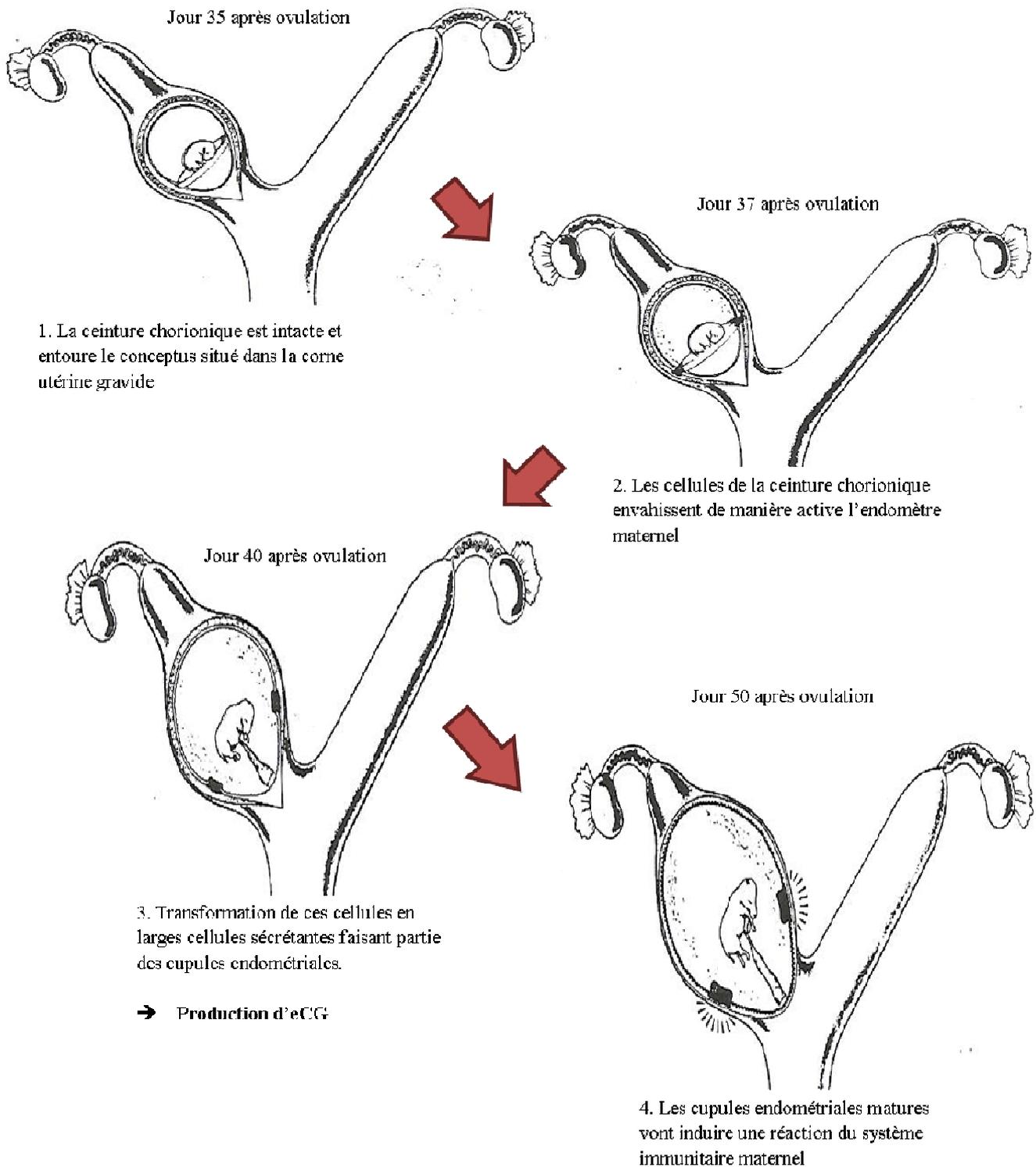


Figure 7 : Représentation schématique du développement des cupules endométriales chez la jument gravide entre 35 et 50 jours après l'ovulation. D'après Allen et Steward, 1993.

II. Structure biochimique de l'eCG

L'hormone gonadotrope isolée du sérum de jument gravide est de nature glycoprotéique tout comme les autres gonadotropines.

1. Structure polypeptidique

a. Structure primaire

Les hormones gonadotropes, et notamment les choriogonadotropines, ont la particularité structurale d'être formées par l'association non covalente de deux sous-unités α et β (Forastieri et Ingham, 1982). Au sein d'une même espèce, la sous-unité α est commune à la LH et à la FSH. Chez le cheval, la sous-unité α de l'eCG est également identique à celle de l'eLH (equine LH) et à celle de l'eFSH (equine FSH). Elle comporte 96 acides aminés dont 10 résidus cystéines impliqués dans des ponts disulfures. Ces derniers sont hautement conservés entre les différentes espèces (Saint-Dizier, 2004) (figure 8). Chez tous les mammifères, la sous-unité α a pour origine un seul et même gène (Combarous *et al.*, 2001). A noter qu'il existe des différences entre les eCG issues d'espèces d'équidés différentes, par exemple l'âne et le cheval (figure 8).

	10	20	30	40	50	60
Cheval	FPDGEFTTQDCPECKLRENKYFFKLGVPPIYQCKGCCFSRAYPTPARSRKTMLVPKNITSE					
Bœuf	FPDGEFTMQGCPECKLKENKYFSKPDAPIYQCMGCCFSRAYPTPARSKKTMLVPKNITSE					
Ane	FPDGEFTTQDCPECKLKNKYFSGKLGVPPIYQCMGCCFSRAYPTPARSKKTMLVPKNITSE					
Zèbre	FPDGEFTTQDCPECKLKVNKYFSKLGVPPIYQCMGCCFSRAYPTPARSRKTMLVPKNITSE					
Chien	FPDGEFTMQGCPECKLKENKYFSKLGAPIYQCMGCCFSRAYPTPARSKKTMLVPKNITSE					
Lapin	FPDGEFAMQGCPECKLKENKYFSKLGAPIYQCMGCCFSRAYPTPARSKKTMLVPKNITSE					
Mouton	FPDGEFTMQGCPECKLKENKYFSKPDAPIYQCMGCCFSRAYPTPARSKKTMLVPKNITSE					
Porc	FPDGEFTMQGCPECKLKENKYFSKLGAPIYQCMGCCFSRAYPTPARSKKTMLVPKNITSE					
Rat	LPDGDLI IQGCPECKLKENKYFSKLGAPIYQCMGCCFSRAYPTPARSKKTMLVPKNITSE					
Souris	LPDGD F I IQGCPECKLKENKYFSKLGAPIYQCMGCCFSRAYPTPARSKKTMLVPKNITSE					
Homme	APDV QDCPECTLQENPFFSQPGAPILQCMGCCFSRAYPTPLRSKKTMLVQKNVTSE					
		*	*		*	**
	70	80	90			
Cheval	STCCVAKAFIRVTVMGNIKLENHTQCYCSTCYHHKI					96
Bœuf	ATCCVAKAFTKATVMGNVRVENHTECHCSTCYHKS					96
Ane	ATCCVAKAFIRVTLMGNIRLENHTQCYCSTCYHHKI					96
Zèbre	ATCCVAKAFIRVTLMGNIRLENHTQCYCSTCYHHKI					96
Chien	ATCCVAKAFTKATVMGNAKVENHTECHCSTCYHKS					96
Lapin	ATCCVAKAFTKATVMGNAKVENHTECHCSTCYHKS					96
Mouton	ATCCVAKAFTKATVMGNVRVENHTECHCSTCYHKS					96
Porc	ATCCVAKAFTKATVMGNARVENHTECHCSTCYHKS					96
Rat	ATCCVAKSFTKATVMGNARVENHTDCHCSTCYHKS					96
Souris	ATCCVAKAFTKATVMGNARVENHTECHCSTCYHKS					96
Homme	STCCVAKSYNRVTVMGGFKVENHTACHCSTCYHKS					92
	**		*	*	*	

Figure 8 : Séquences protéiques de la sous-unité α des gonadotropines. Les différences entre la vache et le cheval sont surlignées en jaune, celles entre l'âne et le cheval en vert. Les astérisques montrent l'emplacement des cystéines, toutes conservées et impliquées dans la formation de cinq ponts disulfures. D'après Saint-Dizier (2004) et la banque de données Swiss-Prot.

Quant à la sous-unité β , sa composition en acides aminés et en glucides est variable selon l'hormone. Celle-ci peut être formée de 109 à 149 résidus d'acides aminés pour la bFSH (bovine FSH) et les eLH et eCG respectivement. Elle possède 12 cystéines en positions strictement invariantes dans les différentes gonadotropines à l'origine de 6 ponts disulfures (Combarnous *et al.*, 2001 ; figure 9). L'eCG, l'hCG et l'eLH possèdent une extension de 28 acides aminés en position C-terminale (24 acides aminés pour l'hCG), appelée CTP (COOH-Terminal Peptide).

	10	20	30	40	50	60
LH/CG β cheval	SRGPLRPLCRPINATLAAEKEACPICITFTT	SICAGYCPSMVRVMPAALPAIPQPVCTYR				
LH β boeuf	SRGPLRPLCQPINATLAAEKEACPVCITFTT	SICAGYCPSMKRVLPVILPMPQRVCTYH				
LH/CG β âne	SRGPLRPLCRPINATLAAEKEACPICITFTT	SICAGYCRSMVRVMPAALPILPQPVCTYR				
LH β homme	SREPLRPWCHPINAILAVEKEGCPVCITVNTT	ICAGYCPTMMRVLQAVLPPLPQVVCTYR				
CG β homme	SKEPLRPRCRPINATLAVEKEGCPVCITVNTT	ICAGYCPTMTRVLQGVLPALPQVVCNYR				
CG β babouin	SREPLRPLCRPINATLAAEKEACPVCITVNTT	ICAGYCPTMMRVLQAVLPPVPQVVCNYR				
LH β porc	SRGPLRPLCRPINATLAAENEACPVCITFTT	SICAGYCPSMVRVLPALPPVPQPVCTYR				
LH β mouton	SRGPLRPLCQPINATLAAEKEACPVCITFTT	SICAGYCLSMKRVLPLPMPQRVCTYH				
	*	*	*	*	*	*
	70	80	90	100	110	120
LH/CG β cheval	ELRFASIRLPGCPPGVDPMSFVVALSCHCGPCQIKTTDCGVFRDQPLACAPQASSSSKD					
LH β boeuf	ELRFASVRLPGCPPGVDPMSFVVALSCHCGPCRLSSTDCGGPRTQPLACDHPPLPDILF					
LH/CG β âne	ELRFCSIRLPGCPPGVDPMSFVVALSCHCGPCRLKTTDCGGPRDHPLACAPQISSCKD					
LH β homme	DVRFESIRLPGCPRGVDPVVSFVVALSCRCGPCRRSTSDCGGPKDHLPTCDHPQLSGLLF					
CG β homme	DVRFESIRLPGCPRGVNPVVSYAVALSCQCALCRRSTSDCGGPKDHLPTCDDPRFQDSSS					
CG β babouin	EVRFESIRLPGCPPGVDPMSVFPVALSCRCALCRRSTSDCGGPKDHLPTCDDPNLQASSS					
LH β porc	ELSFASIRLPGCPPGVDPVVSFVVALSCHCGPCRLSSSDCGGPRAQPLACDRPLLGLLF					
LH β mouton	ELRFASVRLPGCPPGVDPMSFVVALSCHCGPCRLSSTDCGGPRTQPLACDHPPLPDILF					
	*	*	*	*	*	*
	130	140				
LH/CG β cheval	PPSQPLTSTSTPTPGASRRSSHPLPIKTS	149				
LH β boeuf	L	121				
LH/CG β âne	PPSQPLTSTSTPTPGASRRSSHPLPINTS	149				
LH β homme	L	121				
CG β homme	SKAPPSLSPSRLPGSDTPILPQ	145				
CG β babouin	SKDPPSPSPSRLLEPAGTFPLPQ	145				
LH β porc	L	121				
LH β mouton	L	121				

Figure 9 : Séquences protéiques de la sous-unité β de la LH et de la CG de quelques mammifères. Les différences entre la vache et le cheval sont surlignées en jaune, celles entre l'âne et le cheval en vert. Les astérisques montrent l'emplacement des cystéines, toutes conservées et impliquées dans la formation de six ponts disulfures. D'après Saint-Dizier (2004) et la banque de données Swiss-Prot. LH=Luteinizing Hormone, CG=Chorionic Gonadotropin

La sous-unité β est également le produit d'un seul et même gène dans toutes les espèces de mammifères. L'association des deux sous-unités est essentielle à l'activité biologique de la protéine et donne lieu à un hétérodimère glycosylé riche en ponts disulfures (Drion *et al.*, 1998). Les figures 8 et 9 montrent que la structure protéique de l'eCG n'est pas très différente de celle des gonadotropines d'origine bovine : ceci va être à l'origine de la relative affinité de l'eCG pour les récepteurs à la LH et à la FSH bovins.

b. Structure tridimensionnelle

Une des gonadotropines, la choriogonadotropine humaine, a pu être cristallisée et étudiée par diffraction aux rayons X. C'est la seule pour laquelle des données de structure tridimensionnelle sont disponibles (Lapthorn *et al.*, 1994 ; Wu *et al.*, 1994). Toutes les gonadotropines possédant les mêmes ponts disulfures à des positions invariantes, il est raisonnable de penser que les différentes hormones ont des structures tridimensionnelles proches (Combarous *et al.*, 2001).

La structure tridimensionnelle (figure 10) de l'hCG révèle une organisation en trois boucles polypeptidiques sur chaque sous-unité. Ces boucles sont orientées de façon anti-parallèle lorsque les deux sous unités sont associées. D'autre part, la sous-unité β entre les acides aminés 90 à 110 vient enserrer la sous-unité α formant une « ceinture de sécurité ». Cette dernière joue un rôle important dans la stabilisation de l'hétérodimère et permet de diminuer considérablement la vitesse de dissociation de celui-ci (Combarous *et al.*, 2001).

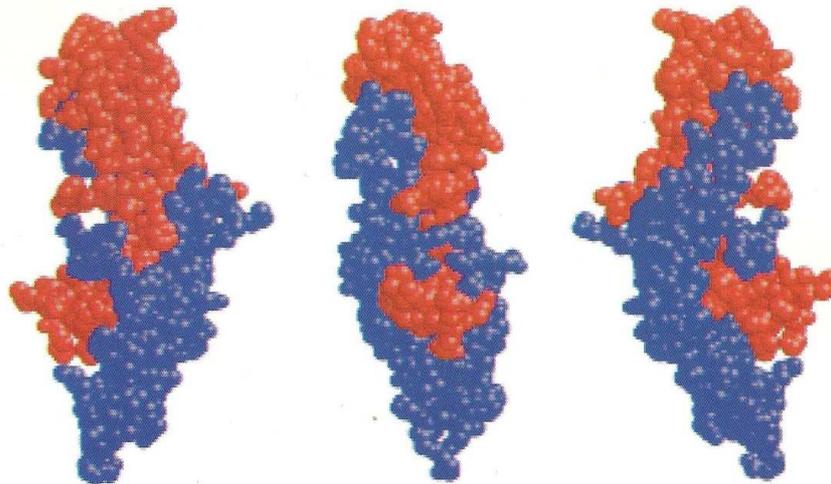


Figure 10 : Structure tridimensionnelle de l'hCG. Au centre, vue de face, à gauche et à droite, profils gauche et droit. La sous-unité α apparaît en rouge et la sous-unité β en bleu. La « ceinture de sécurité » apparaît de manière nette, la sous-unité β venant enserrer la sous-unité α . D'après Combarous *et al.*, 2001.

2. Structure polysaccharidique

La masse moléculaire de l'eCG est approximativement de 45 000 g/mol, avec une sous-unité α et une sous-unité β ayant respectivement un poids moléculaire de 15 000 g/mol et de 30 000 g/mol. Comme le montre le tableau 1, il s'agit de la plus glycosylée des hormones glycoprotéiques avec environ 45% de sa masse attribuable aux sucres. La proportion d'acide sialique est d'environ 17% (Combarous *et al.*, 1984). Les hexoses et hexosamines sont présents de manière importante sur l'eCG avec notamment le galactose (13%) (Bousfield *et al.*, 1996) qui va intervenir dans le processus d'élimination hépatique.

L'eCG porte également des N-glycosylations sur les sous-unités α et β ainsi que des chaînes O-glycosydiques sur sa sous-unité β (Saint-Dizier, 2004).

Tableau 1 : Bilan comparatif des différentes gonadotropines. D'après Combarous *et al.* (1984, 2001), Drion *et al.* (1998), Saint-Dizier (2004). aa = acides aminés

	LH	hCG	FSH	eCG
Origine	hypophyse	placenta	hypophyse	placenta
Activité biologique	LH	LH	FSH	FSH/LH (sauf chez les équidés)
Sous-unité α (nombre d'aa)	96 (sauf chez l'homme – 92)	92	96 (sauf chez l'homme – 92)	96
Sous-unité β (nombre d'aa)	121 (bovidés) à 149 (équidés)	145	109 (bovidés) à 111 (homme, équidés)	149
Masse molaire (kDa)	30	37,6	32	44
Acide sialique (%)	1	9 à 12	5	10 à 13,5
Glucides (%)	10	31	25	45
Demi-vie	12 à 50 min	8h	3 à 5h	4 à 6 jours
Élimination	Foie, rein	Foie, rein	Foie, rein	Foie

3. Variants de l'eCG

Différents variants de l'eCG ont été décrits selon leur provenance : sérum de jument gravide, milieu de culture trophoblastique ou cupules endométriales. Les variations porteraient sur les pourcentages de glucides ainsi que sur les séquences d'acides aminés et les poids moléculaires (Papkoff, 1981). Ces variants présentent des différences biochimiques mais également fonctionnelles (Papkoff, 1981). Une des hypothèses pour expliquer l'existence de ces variants suppose une différence structurale entre hormones stockée et sécrétée (Drion *et al.*, 1998).

III. Activité biologique de l'eCG

1. Pharmacocinétique et pharmacodynamie

L'absorption de l'eCG est rapide : la concentration maximale est obtenue 16 et 8 heures après l'injection intra-musculaire respectivement chez les bovins et les ovins. La biodisponibilité après injection intra-musculaire est d'environ 72 % (RCP CHRONOGEST® PMSG).

La demi-vie plasmatique de l'eCG est d'environ 4 à 6 jours, ce qui est long en comparaison aux autres gonadotropines. En effet, à titre d'exemple, la demi-vie de la LH est au maximum de 50 minutes et celle de la FSH ne dépasse pas 5 heures (tableau 1). Cette différence peut s'expliquer par la teneur plus élevée de l'eCG en acide sialique. En effet, l'élimination des résidus terminaux d'acide sialique des gonadotropines chorioniques fait diminuer considérablement la durée de leur demi-vie (Martinuk *et al.*, 1991). L'élimination de ces résidus terminaux met alors en surface des résidus de galactose qui vont être reconnus par des hépatocytes via une lectine membranaire. Cette reconnaissance entraîne ensuite l'élimination de l'hormone. Le foie est donc la première voie d'élimination des gonadotropines (Drion *et al.*, 1998). Le rein est la deuxième pour toutes, à l'exception de l'eCG qui, du fait de son importante masse moléculaire, ne passe pas le filtre rénal. Elle n'est donc pas concernée par ce mode d'élimination. Les autres gonadotropines ont des masses plus faibles allant respectivement de 30 à 32 kDa pour LH et FSH (tableau 1) et sont éliminées par voie rénale.

Du fait de sa demi-vie importante, l'eCG présente des inconvénients puisqu'elle est parfois responsable d'une lutéinisation prématurée des follicules ou d'une augmentation du nombre de follicules entrant en atresie (Boland *et al.*, 1991 ; Hoppen, 1994). De plus, même une fois l'ovulation obtenue, la longue demi-vie de l'eCG lui permet de continuer à stimuler

des croissances folliculaires. L'embryon se développe donc dans un environnement endocrinien inadéquat en présence d'un excès d'œstrogènes. Une spécialité NEUTRA PMSG® (MSD, Beaucouzé, France), à base d'anticorps monoclonaux anti-eCG, était injectée 4 à 5 jours après l'eCG afin de neutraliser l'action biologique de cette dernière. Elle n'est cependant plus commercialisée par manque de demande.

2. Récepteur CG/LH de l'eCG

Les Récepteurs aux Hormones GlycoProtéiques (RHGP) sont des protéines riches en leucine couplées aux protéines G. Ils sont composés de 7 domaines peptidiques insérés dans la membrane cellulaire (figure 11). Ces domaines permettent une interaction avec des systèmes enzymatiques tels que la voie de l'adénylate cyclase ou encore la voie de la phospholipase C ; ces systèmes constituent les premiers messagers lors de la liaison de l'hormone à son récepteur. Ensuite, des messagers secondaires intracellulaires prennent le relais (Saint-Dizier, 2004).

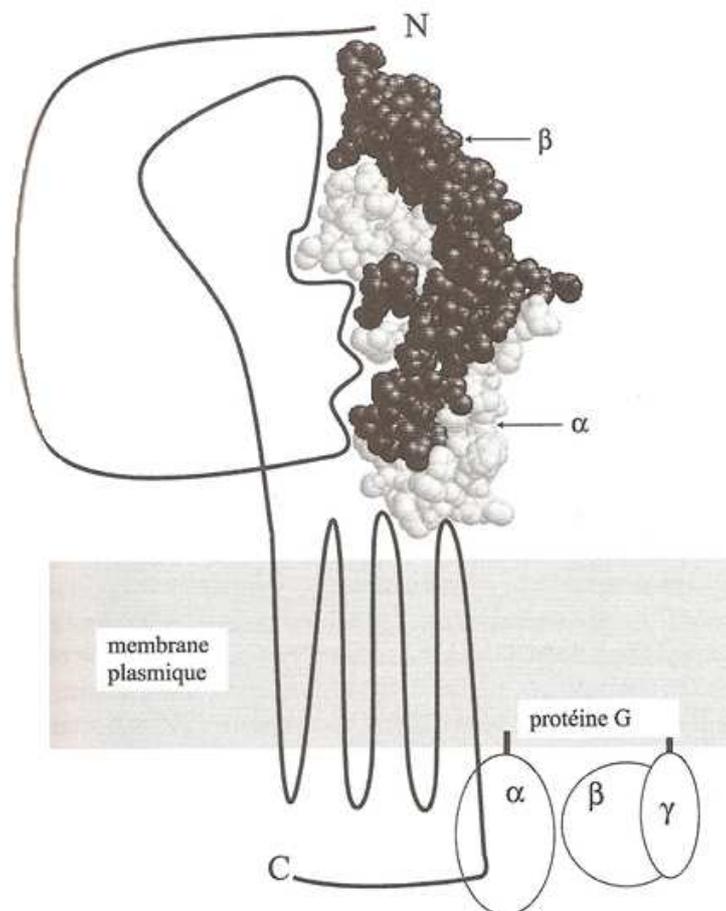


Figure 11 : Structure d'un récepteur de gonadotropine. D'après Combarous *et al.*, 2001.

L'eCG, hormis dans son espèce d'origine, a une double activité. Elle peut se lier à la fois aux récepteurs LH et FSH (Combarous *et al.*, 2001). Le modèle dit de « spécificité négative » a été proposé pour expliquer la spécificité d'interaction des gonadotropines pour leurs récepteurs homologues et hétérologues (Combarous *et al.*, 2001). Un récepteur homologue correspond au récepteur dans l'espèce d'origine de l'hormone, alors qu'un récepteur hétérologue se trouve dans une espèce différente de l'espèce d'origine. Dans ce modèle, la sous-unité α est responsable de la haute affinité de l'association hormone-récepteur sans discrimination de liaison. Les différentes sous-unités β conditionnent la spécificité en inhibant la liaison de chaque hormone aux récepteurs des autres hormones. Dans le complexe hormone-récepteur prévu par le modèle, la sous-unité α est « prise en sandwich » entre le récepteur et la sous-unité β . Les interactions entre les deux sous-unités ont donc deux fonctions distinctes mais complémentaires. La sous-unité β va induire la conformation active de la sous-unité α qui, à l'état libre, ne se lie pas aux récepteurs et elle va également choisir les types de récepteurs sur lesquels l'association de la sous-unité α activée est autorisée.

3. Bioactivité de l'eCG en système hétérologue et homologue

L'eCG a une double activité dans le système hétérologue bovin alors qu'elle a une spécificité LH stricte dans le système homologue équin (Apparailly *et al.*, 1994). Ces propriétés ont été mises en évidence par des dosages radiorécepteurs sur des fractions membranaires de testicules ou d'ovaires, ainsi que par des dosages biologiques *in vivo* et *in vitro*. Chez le cheval, les dosages radiorécepteurs ont montré que l'eCG avait une activité FSH quasi nulle. L'activité LH est également réduite puisque l'eCG se lie au récepteur CG/LH des tissus équins avec une affinité dix fois moins importante que celle observée sur les récepteurs CG/LH des autres espèces (Hoppen, 1994). Cela s'explique par le fait que les sites inhibiteurs spécifiques de la sous-unité β peuvent différer légèrement d'une espèce à l'autre, à la fois sur l'hormone et sur le récepteur (Combarous *et al.*, 2001). Ils ne sont pas absolument stricts dans certains systèmes hétérologues.

Pour chaque espèce, il existe un rapport des activités FSH et LH fixe. Ce rapport est de 0,2 chez le porc et de 0,25 chez le rat (Saint-Dizier, 2004) et il est communément admis qu'il est de 0,25 à 0,3 chez les bovins bien qu'aucune publication scientifique n'ait présenté ce résultat. Ces différents rapports montrent que l'eCG est avant tout une hormone à activité LH, et ce, y compris en système hétérologue (Combarous *et al.*, 1984).

Cette double activité, associée à la longue demi-vie de l'eCG chez les bovins, en font un outil de choix utilisé depuis de nombreuses années dans les traitements de synchronisation des chaleurs et d'induction de l'ovulation.

4. Une hormone immunogène

De nombreuses études ont montré une immunisation active contre les gonadotropines depuis les années 30 (Drion *et al.*, 1998). Jainudeen *et al.* (1966), ont mis en évidence une diminution des taux d'ovulation chez des vaches traitées de manière répétée à l'eCG, suggérant l'existence d'une activité « anti-gonadotrope » dans le sérum. De plus, il semblerait que malgré l'arrêt du traitement durant un certain temps, la résistance à l'eCG reste présente (Christie *et al.*, 1979). L'administration de sérum issu de vaches traitées, associé à une quantité connue d'eCG normalement active, à des rates immatures hypophysectomisées a révélé un effet antigonadotrope du sérum. Cet effet est maximal lorsque les vaches ont reçu au préalable au moins quatre injections (entre 1500 et 3000 UI/injection) d'eCG (Jainudeen *et al.*, 1966). L'effet immunogène a également été mis en évidence chez d'autres espèces que la vache (tableau 2 ; Drion *et al.*, 1998) et peut être transmis via le colostrum (Beckers *et al.*, 1995).

Les préparations commerciales contenant des anticorps monoclonaux anti-eCG produits *in vitro* sur souris avaient été développées à destination de la vache (Drion *et al.*, 1998). En plus de stopper l'action biologique de l'eCG, ces anticorps avaient également pour objectif de prévenir l'apparition de la résistance à l'eCG. Il fallait les administrer 4 à 5 jours après l'injection d'eCG pour neutraliser la gonadotropine et diminuer ainsi son effet immunogène.

Tableau 2 : Mise en évidence de la résistance des femelles aux traitements eCG répétés chez quelques espèces. D'après Drion *et al.*, 1998.

Espèce étudiée	Observation	Hypothèse / Conclusion	Auteurs
Bovine	Diminution des taux d'ovulation chez des vaches traitées de manière répétée	Existence d'une activité « anti-gonadotrope » localisée dans le sérum (globulines)	Jainudeen <i>et al.</i> , 1966
Ovine	Diminution des taux d'ovulation corrélée avec le nombre de traitements consécutifs de superovulation Les réponses normales au traitement sont obtenues chez les brebis qui ont reçu une unique dose d'eCG, ou bien chez celles qui ont reçu deux doses séparées par un cycle sans traitement.	Les traitements répétés induisent une réponse humorale La chute des taux d'ovulation peut être partiellement résolue en traitant les femelles en cycles alternés	Clarke, 1973 (cité par Drion <i>et al.</i> , 1998)
Cunicole	Existence d'anticorps anti-eCG	Recommandation concernant l'usage raisonnable de l'eCG, la réduction des doses et l'espacement des traitements dans le temps	Contera, 1989 (cité par Drion <i>et al.</i> , 1998)
Caprine	Diminution des manifestations ou retard d'apparition de l'œstrus après traitements répétés Présence d'anticorps anti-eCG après les traitements répétés	L'usage répété d'eCG provoque une immunisation active qui diminue l'efficacité de la stimulation ovarienne et conduit à une baisse de fertilité après IA	Baril, 1992 et 1996 (cité par Drion <i>et al.</i> , 1998)

C- Utilisation de l'eCG chez les bovins

I. Spécialités existantes et obtention de l'eCG

L'eCG s'obtient à partir du sérum de juments gravides (Drion *et al.*, 1998). En France, deux laboratoires commercialisent l'eCG avec une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) chez les bovins, caprins et ovins. Les deux produits utilisables chez la vache sont le CHRONOGEST[®] PMSG (MSD, Beaucouzé, France) et le SYNCHROPART-PART PMSG[®] (CEVA, Libourne, France). Différents conditionnements sont disponibles. Les formulations proposées sont de 400 UI, 500 UI, 600 UI, et 6000 UI sous forme de poudre à diluer dans un solvant aqueux. Le coût d'un traitement varie entre 2,36€ HT et 3,10€ HT par vache selon le dosage choisi (Catalogue Centravet 2013). Le dosage 6000 UI est le plus vendu par le laboratoire MSD toutes espèces confondues (tableau 3). En revanche, chez les bovins, la formulation à 600 UI semble être la plus utilisée.

Tableau 3 : Pourcentage des ventes des différentes présentations de CHRONOGEST PMSG[®] toutes espèces confondues en France et estimation de la répartition des ventes de CHRONOGEST PMSG[®] par espèce en fonction de la formulation D'après MSD, communication personnelle.

Spécialités	% de vente par formulation	% de vente			
		Bovins	Ovins	Caprins	Lapins (hors AMM)
CHRONOGEST PMSG [®] 400 UI	6%	50%	30%	20%	
CHRONOGEST PMSG [®] 500 UI	8,2%	40%	45%	15%	
CHRONOGEST PMSG [®] 600 UI	9,3%	65%	18%	2%	15%
CHRONOGEST PMSG [®] 6000 UI	76,3%	0%	100%	0%	

II. Indications de l'eCG

Le résumé des caractéristiques du produit CHRONOGEST PMSG[®] mentionne trois indications majeures : traitement des troubles de la reproduction, notamment lors de cas d'aneustrus, synchronisation de l'œstrus (en association avec des progestagènes et des prostaglandines F2 α), mais également induction de superovulation.

La choriogonadotropine équine est utilisée majoritairement dans différents protocoles d'induction/synchronisation des chaleurs associant progestagènes, agonistes de la GnRH et prostaglandines (figure 12).

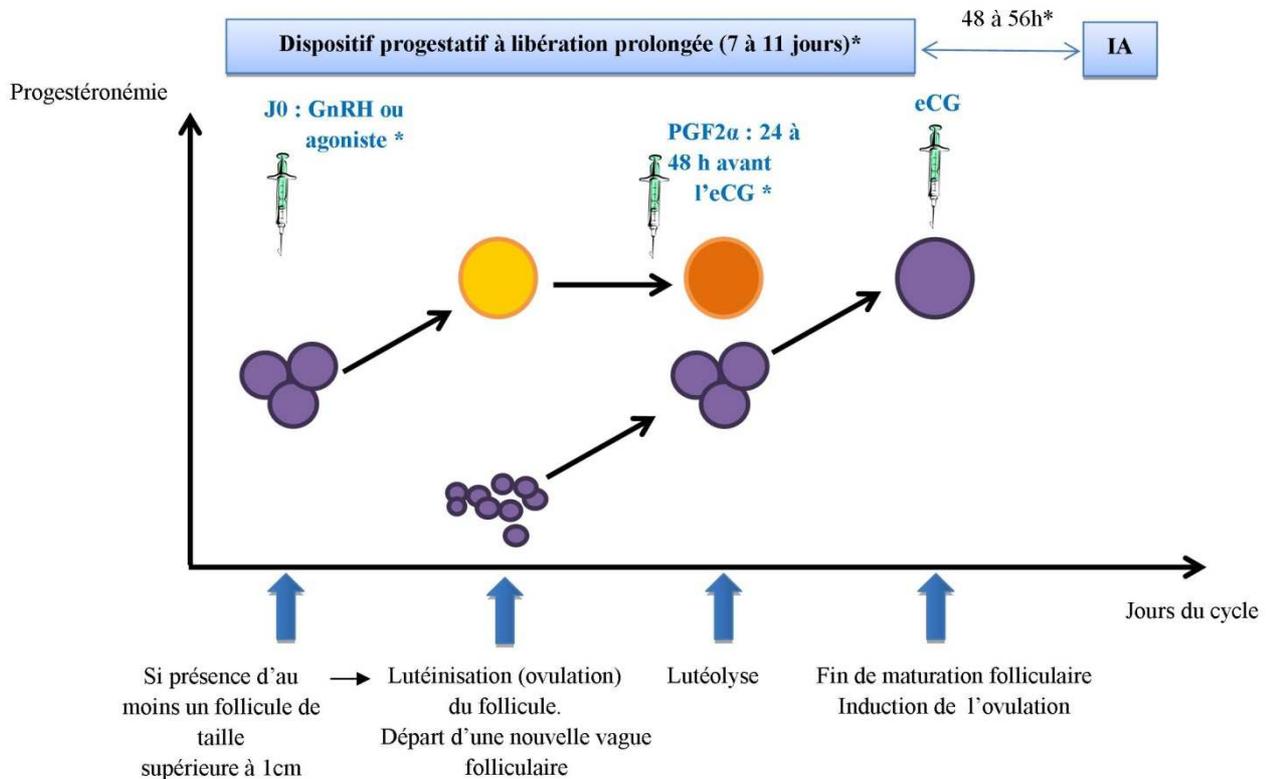


Figure 12 : Schéma général d'un protocole de synchronisation des chaleurs utilisant de l'eCG. * = selon le dispositif utilisé. D'après Chastant-Maillard, 2005.

L'eCG est également utilisée dans les protocoles de superovulation dans le cadre de la transplantation d'embryons (figure 13). L'avantage de l'eCG sur les préparations à base de FSH réside dans sa facilité d'emploi : une seule injection suffit, car le temps de demi-vie de la molécule est supérieur à 120h, alors que les protocoles à base de FSH nécessitent huit injections (une injection matin et soir pendant quatre jours).

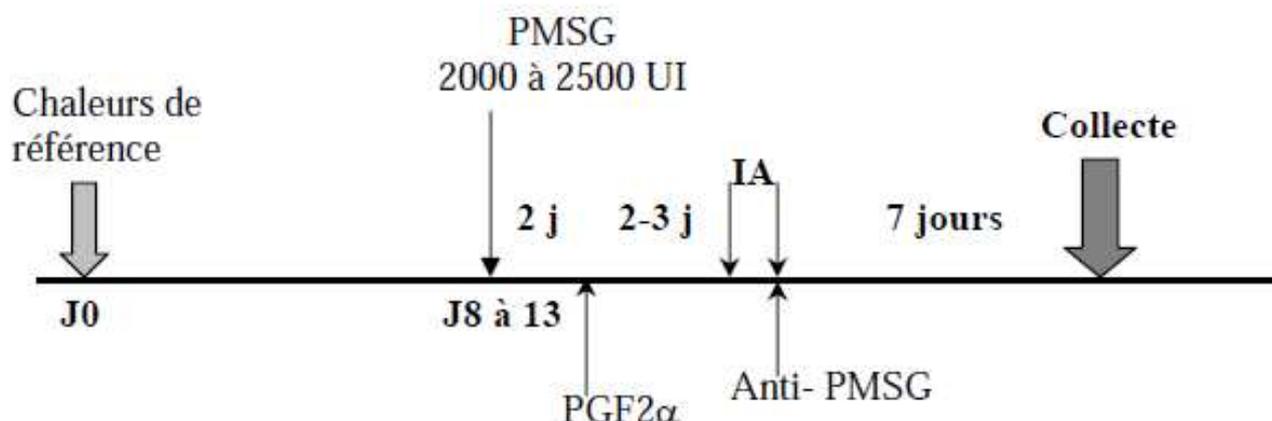


Figure 13 : Schéma de traitement de superovulation par l'eCG. D'après Laizeau, 2003.

III. Doses

La dose d'eCG doit être adaptée à l'utilisation souhaitée, la race de la vache, et son stade physiologique. Des doses de 300 UI à 600 UI sont indiquées pour l'induction et la synchronisation de l'ovulation ; les vaches non cyclées recevant les doses les plus élevées (figure 14). Des doses de 1500 à 3000 UI sont recommandées pour les protocoles d'induction de superovulation. Il est également mentionné que le produit doit être utilisé en association avec un traitement progestagène (CHRONOGEST PMSG[®] RCP, 2010 et SYNCHRO-PART PMSG[®] RCP, 2011).

Le phénomène de double ovulation est présent de manière naturelle chez la vache. Dans des troupeaux de vaches laitières hautes productrices soumises à un examen échographique des ovaires, les incidences rapportées sont de 15,5% (Lopez-Gatius *et al.*, 2005) et 26,8% (Lopez-Gatius *et al.*, 2002). Une étude récente, portant sur 2 900 708 mises-bas de vaches laitières Holstein aux USA, montre une hausse de la fréquence des gestations gémeillaires de 3,4% à 4,8% entre 1996 et 2004 (Silva del Rio *et al.*, 2007).

Les expériences de Bellows *et al.* (1972) indiquent que des ovulations multiples sont induites par l'eCG uniquement à partir de la dose de 800 UI. Plus récemment, des taux importants de gestations gémeillaires sur des vaches laitières hautes productrices (entre 11 000 et 12 000/kg/vache/an) ont été mis en évidence lors d'utilisation de protocoles de synchronisation. Chez les vaches ayant reçu un dispositif progestatif et 500 UI d'eCG, les taux de gestations gémeillaires (observation de deux embryons échographiquement visibles entre 28 et 34 jours après l'IA) ont été respectivement de 43,5 et 15% chez des vaches en

anœstrus et cyclées. Avec 750 UI d'eCG, ces taux s'élèvent respectivement à 53,3% et 38,1%. Ces valeurs sont élevées par comparaison au taux de gestation gémellaire de la population témoin qui est de 17,9% (Andreu-Vázquez *et al.*, 2012). Souza *et al.* (2009a) ont obtenu un taux de double ovulation de 12,5% avec une dose d'eCG de 400 UI sans effet significatif de l'eCG au sein de la population étudiée, ce qui correspond au taux habituel chez la vache laitière (Lopez-Gatius *et al.*, 2005). Habituellement, les doses allant de 200 UI à 1000 UI sont réputées induire une simple ovulation tandis que la dose requise pour obtenir la superovulation est de l'ordre de 2500 UI (De Rensis et Lopez-Gatius, 2014).

Génisses laitières

Pas de Chrono-Gest PMSG

Vaches laitières

Doses de Chrono-Gest PMSG

- Prim'Holstein, Holstein et croisées :	400 UI
- Normandes, Montbéliardes, Pie rouges de l'est :	
- en stabulation entravée et pendant l'hiver :	400 UI
- dans toutes les autres situations :	300 UI
- Dans toutes les races, pour les vaches ayant déjà produit des jumeaux et les troupeaux ayant un taux habituellement élevé de jumeaux :	300 UI

Génisses à viande

Doses de Chrono-Gest PMSG	Pendant l'hiver	Après le 15 mai
Aubrac	500 UI	400 UI
Bleu blanc belge	400 UI	400 UI
Blonde d'Aquitaine	400 UI	400 UI
Charolaise (I)	500 UI	400 UI
Charolaise (II)	400 UI	400 UI
Limousine	500 UI	400 UI
Salers	500 UI	400 UI

Vaches allaitantes

Doses de Chrono-Gest PMSG	Pendant l'hiver	Après le 15 mai
Aubrac	600 UI	500 UI
Bleu blanc belge	600 UI	500 UI
Blonde d'Aquitaine	500 UI	400 UI
Charolaise (I)	600 UI	500 UI
Charolaise (II)	500 UI	500 UI
Croisées vaches laitières	500 UI	400 UI
Limousine	600 UI	500 UI
Salers	600 UI	500 UI

(I) Animaux élevés dans le berceau traditionnel de la race
(II) Animaux élevés hors du berceau traditionnel de la race

Figure 14 : Recommandations concernant la dose d'eCG à administrer en fonction du type de production, de la saison, de la race et de l'état physiologique. D'après MSD.

Ces dernières années, de nombreuses études ont cherché à préciser l'effet de l'eCG dans divers protocoles chez la vache laitière et chez la vache allaitante. L'efficacité a été évaluée sur différents indicateurs : le développement folliculaire, la réponse ovulatoire à la molécule et le taux de gestation (Bisinotto et Santos, 2012). Les effets sont envisagés le plus souvent en prenant en compte le statut physiologique de l'animal, le stade du cycle, son rang de vêlage et sa note d'état corporel.

IV. Effets de l'eCG chez la vache : bilan de la littérature

L'ensemble des protocoles et résultats cités ici sont détaillés dans les tableaux 4 et 5.

1. Développement folliculaire et nombre de follicules en croissance

Sur des vaches laitières, l'eCG peut être utilisée précocement après la mise-bas pour diminuer la durée de l'anœstrus post-partum. Ainsi, l'administration 14 jours après le vêlage de doses d'eCG de 250 à 750 UI augmente la vitesse de croissance folliculaire sur l'ovaire ipsilatéral au corps jaune de la gestation précédente et les concentrations plasmatiques en œstradiol ; l'involution utérine et les performances de reproduction ultérieures ne sont pas affectées (Sheldon et Dobson, 2000). L'injection d'eCG à la dose de 500 UI dès 6 jours post-partum a également donné des résultats significatifs : la reprise de l'activité ovarienne a été obtenue plus précocement avec une ovulation dès la première vague folliculaire dans 70 % des cas dans le lot traité contre 0% dans le lot témoin (Rostami *et al.*, 2011).

Cette utilisation n'est pas très répandue et l'eCG intervient de manière beaucoup plus fréquente dans les protocoles de synchronisation des chaleurs à base de dispositif progestatif à libération prolongée. Elle est utilisée pour améliorer la croissance folliculaire et la fertilité (Souza *et al.*, 2009a). Chez des vaches allaitantes en anœstrus, l'eCG aux doses de 300 UI (Sales *et al.*, 2011) et 400 UI (Dorneles Tortorella *et al.*, 2013) a augmenté significativement la vitesse quotidienne de croissance folliculaire terminale et le diamètre maximal atteint par le follicule dominant. L'eCG était injectée simultanément aux PGF2 α , soit le jour du retrait du dispositif progestatif (Sales *et al.*, 2011 ; Dorneles Tortorella *et al.*, 2013), soit deux jours avant (Dorneles Tortorella *et al.*, 2013) ; l'implant étant laissé huit jours en place dans les deux publications. Dans la publication de Sales *et al.* (2011), la vitesse de croissance folliculaire du lot traité était de 1,4 mm/jour \pm 0,1 contre 0,9 mm/jour \pm 0,1 pour le lot témoin et le diamètre du follicule dominant le jour de l'IA est de 13,9 mm \pm 0,2 pour le lot traité contre 12,9 mm \pm 0,3 pour le lot témoin. Dorneles Tortorella *et al.* (2013) ont mis en évidence un diamètre plus important du follicule dominant le lendemain du retrait de l'implant dans le lot traité à l'eCG par rapport au lot témoin (10,0 mm \pm 0,4 contre 8,5 mm \pm 0,4).

Cependant, d'autres études sur des vaches laitières montrent des résultats différents. Pour une seule d'entre elles (Kenyon *et al.*, 2012), l'eCG injectée cinq jours avant les prostaglandines a augmenté le nombre de follicules en croissance (>10 mm) mais uniquement chez des vaches primipares à la dose de 800 UI. Néanmoins, elle n'a pas eu d'effet significatif sur la taille du follicule dominant. Les autres publications ne montrent aucun effet de l'eCG aux doses de 400 UI (Souza *et al.*, 2009a ; Ferreira *et al.*, 2013) et de 600 UI (Ferreira *et al.*,

2013) concernant la croissance folliculaire, bien que l'eCG soit administrée au moment du retrait de l'implant progestatif, en même temps que les prostaglandines F2 α , comme lors des expériences sur vaches allaitantes (Sales *et al.*, 2011 ; Dorneles Tortorella *et al.*, 2013).

Une publication américaine récente ne montre pas d'effet de l'eCG à la dose de 400 UI sur la croissance folliculaire lorsque celle-ci est injectée au cours d'un protocole Ovsynch (GnRH à J0, PGF2 α à J7, GnRH à J9, IA à J10) en même temps que les PGF2 α (Pulley *et al.*, 2013). Les différences de résultats observées, entre les vaches allaitantes et les vaches laitières, s'expliquent peut-être par des statuts ovariens différents et notamment par une plus forte proportion d'anœstrus anovulatoire chez les vaches allaitantes.

2. Taux d'ovulation

Les études concernant le taux d'ovulation sont également contradictoires. Sur des vaches allaitantes en anœstrus sous dispositif progestatif, l'injection de 300 UI d'eCG au moment du retrait de l'implant améliore le taux d'ovulation de manière significative (88,6% pour les vaches traitées contre 71,6% pour les vaches témoins). L'effet est supérieur chez des vaches ayant une note d'état corporel inférieure à 2,75 (Sales *et al.*, 2011). L'eCG améliore le taux d'ovulation lorsque les follicules dominants sont petits au moment du retrait de l'implant (Sales *et al.*, 2011). En revanche, ces effets ne sont pas observés chez les vaches laitières puisque le taux d'ovulation n'est pas amélioré après traitement à l'eCG à la dose de 400 UI (Souza *et al.*, 2009a ; Ferreira *et al.*, 2013) ou de 600 UI (Ferreira *et al.*, 2013) quel que soit le niveau de production laitière, en moyenne de 36,2 kg/j \pm 0,4 (Souza *et al.*, 2009a) et 32,1 kg/j \pm 0,3 (Ferreira *et al.*, 2013), le nombre de jours post partum, en moyenne de 151,6 jours \pm 3,5 (Souza *et al.*, 2009a) et 172,1 jours \pm 5,5 (Ferreira *et al.*, 2013), le rang de vêlage ou la note d'état corporel de la vache, en moyenne 2,88 \pm 0,01 (Souza *et al.*, 2009a) et 2,8 \pm 0,1 (Ferreira *et al.*, 2013). L'eCG ne modifie pas le pic de LH : l'amplitude du pic, l'aire sous la courbe et le moment d'apparition du pic par rapport au moment du retrait du dispositif progestatif ne sont pas différents entre le lot témoin et le lot traité à 400 UI (Souza *et al.*, 2009a).

3. Variabilité du moment de l'ovulation

Chez des vaches allaitantes, l'eCG, administrée en fin de traitement progestatif, permet de limiter la dispersion du moment de l'ovulation (Cavaliere *et al.*, 1997). Cet effet particulièrement intéressant de la molécule, notamment dans le cadre de protocoles de synchronisation avec insémination à date fixe, n'a pas été confirmé sur des vaches laitières dans des études plus récentes. Aux doses de 400 UI (Souza *et al.*, 2009a ; Ferreira *et al.*, 2013) et de 600 UI (Ferreira *et al.*, 2013), l'eCG, injectée en fin de traitement progestatif, n'a pas permis de limiter la variabilité du moment de l'ovulation entre des vaches traitées à l'eCG et des vaches témoins.

4. Effet lutéotrope et progestéronémie

La littérature indique qu'il existe une corrélation entre la taille du follicule ovulatoire, celle du corps jaune mis en place suite à l'ovulation et le taux de gestation (Vasconcelos *et al.*, 2001). La taille du corps jaune semble elle-même être corrélée à la concentration en progestérone circulante (Santos *et al.*, 2001). Une étude récente a montré une augmentation du nombre de grandes cellules lutéales suite à un traitement à l'eCG à la dose de 400UI à la fin d'un protocole avec dispositif progestatif (Rigoglio *et al.*, 2013). Or, ce sont les grandes cellules lutéales qui assurent au sein du corps jaune la partie la plus importante de la synthèse de progestérone. Il est donc intéressant d'examiner l'effet de l'eCG sur le corps jaune et la progestéronémie lors de protocoles de synchronisation des chaleurs.

Là encore, les résultats sont variables : à la dose de 800 UI administrée deux jours après la première GnRH lors d'un protocole Ovsynch sur vaches laitières présynchronisées aux PGF2 α , celles-ci ont, 15 jours après l'ovulation, une progestéronémie significativement plus élevée (2,3 ng/mL \pm 0,3) que les vaches témoins (1,2 ng/mL \pm 0,3) et que les vaches qui ont reçu 600 UI (1,1 ng/mL \pm 0,3 ; Kenyon *et al.*, 2012). En revanche, deux autres études sur des vaches laitières traitées à l'eCG à des doses de 400 UI (Souza *et al.*, 2009a ; Ferreira *et al.*, 2013) et de 600 UI (Ferreira *et al.*, 2013) lors de protocoles avec dispositif progestatif n'ont pas mis en évidence d'effet positif sur le volume du corps jaune et sur la progestéronémie. Une dernière étude évaluant l'impact de 400 UI d'eCG administrées en même temps que les PGF2 α dans un protocole Ovsynch, n'a pas non plus observé d'effet sur la fonction lutéale (Pulley *et al.*, 2013).

5. Taux de gestation

Selon plusieurs publications avec des protocoles différents, le taux de gestation est amélioré chez des vaches qui ont reçu un dispositif progestatif puis une injection d'eCG au moment du retrait du progestagène. Chez des vaches allaitantes en anœstrus ayant une note d'état corporel inférieure à 2,75, l'eCG à la dose de 300 UI améliore significativement le taux de gestation (43,9% pour les vaches témoins contre 62,3% pour les vaches traitées ; Sales *et al.*, 2011). Chez des vaches laitières en anœstrus, 400 UI d'eCG après sept jours de dispositif progestatif ont également montré un effet positif (Bryan *et al.*, 2013) sur le taux de réussite à l'IA réalisée dans les 7 jours suivant la fin du protocole (36,0% pour les vaches traitées à l'eCG contre 30,6% pour les vaches témoins). Pour finir, le taux de gestation augmente significativement chez des vaches laitières lors d'utilisation d'eCG en fin de protocole de synchronisation dans la publication de Souza *et al.* (2009a) : il passe de 33,8% chez les vaches traitées à 28,9% chez les vaches témoins.

Cependant, toutes les publications ne vont pas dans ce sens, et deux parmi les plus récentes montrent que le taux de gestation n'est pas amélioré par l'emploi de l'eCG chez les vaches laitières (Ferreira *et al.*, 2013 ; Pulley *et al.*, 2013). Ces deux derniers résultats pourraient s'expliquer par un faible nombre de vaches avec une note d'état corporel insuffisante incluses dans les essais cliniques. En effet, Souza *et al.* (2009a) ont mis en évidence que le taux de gestation était d'autant plus amélioré par l'emploi de l'eCG que les vaches avaient une note d'état corporel inférieure à 2,75. Il semblerait que l'eCG agisse de manière plus significative lorsque des facteurs limitants le succès des protocoles sont présents tels que la parité, la note d'état corporel (faible) et le statut physiologique (vaches en anœstrus) (Bryan *et al.*, 2013).

Tableau 4 : Bilan des différents protocoles utilisés dans les publications citées. P4 = progestérone naturelle ou progestatif sous forme de dispositif à libération prolongée. EB : benzoate d'œstradiol, EC : cypionate d'œstradiol.

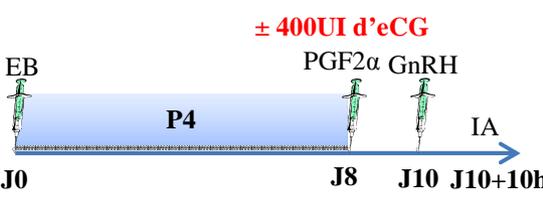
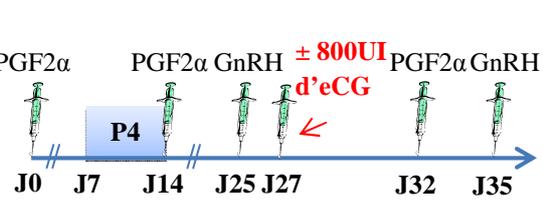
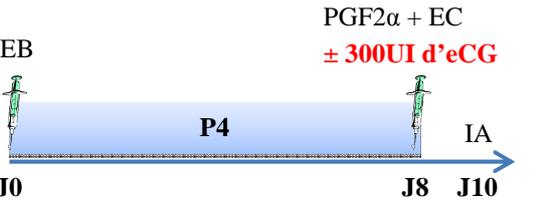
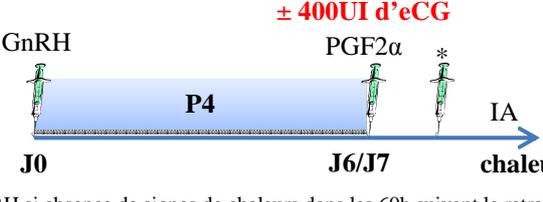
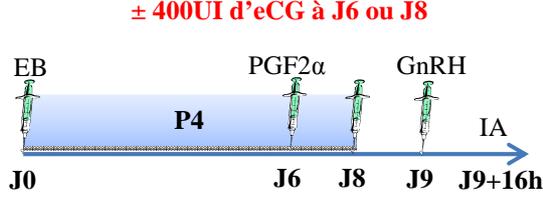
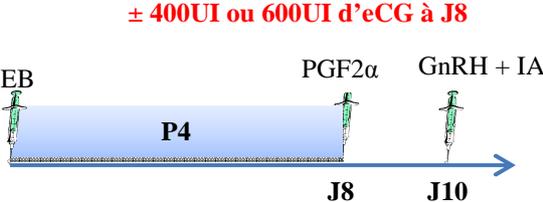
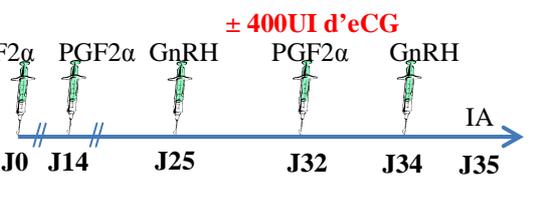
Auteurs	Individus	Protocole
Souza <i>et al.</i> , 2009a	Vaches laitières (N=742)	 <p>± 400UI d'eCG</p> <p>EB J0 P4 J8 PGF2α GnRH IA J10 J10+10h</p>
Kenyon <i>et al.</i> , 2011	Vaches laitières cyclées et en anœstrus (N=362)	 <p>PGF2α J0 P4 J7 J14 PGF2α GnRH ± 800UI d'eCG J25 J27 PGF2α GnRH J32 J35</p>
Sales <i>et al.</i> , 2011	Vaches allaitantes (zébus) en anœstrus (N=253)	 <p>EB J0 P4 J8 PGF2α + EC ± 300UI d'eCG IA J10</p>
Bryan <i>et al.</i> , 2013	Vaches laitières en anœstrus (N=1991)	 <p>GnRH J0 P4 J6/J7 PGF2α ± 400UI d'eCG IA J6/J7 * J8 chaleurs</p> <p>* : GnRH si absence de signes de chaleurs dans les 60h suivant le retrait de P4</p>
Dorneles Tortorella <i>et al.</i> , 2013	Vaches allaitantes en anœstrus (N=24)	 <p>EB J0 P4 J6 PGF2α GnRH IA J9 ± 400UI d'eCG à J6 ou J8 J9 J9+16h</p>
Ferreira <i>et al.</i> , 2013	Vaches laitières (N=920)	 <p>EB J0 P4 J8 PGF2α GnRH + IA J10 ± 400UI ou 600UI d'eCG à J8</p>
Pulley <i>et al.</i> , 2013	Vaches laitières (N=128)	 <p>PGF2α J0 P4 J14 J25 GnRH PGF2α GnRH IA J32 J34 J35 ± 400UI d'eCG</p>

Tableau 5 : Effets de l'eCG chez la vache : bilan de la littérature. NEC : note d'état corporel, FD : follicule dominant, FO : follicule ovulatoire, CJ : corps jaune, ↑ : augmentation, ↓ : diminution

Auteurs	Principales conclusions			
	Effet de l'eCG sur la croissance folliculaire	Effet de l'eCG sur l'ovulation	Effet de l'eCG sur le taux gestation	Effet de l'eCG sur la fonction lutéale
Souza <i>et al.</i> , 2009a	Pas d'effet sur le diamètre du FD	<ul style="list-style-type: none"> • Pas d'effet sur le pic de LH et le taux d'ovulation • Pas d'effet sur la variabilité du moment de l'ovulation 	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ (33,8% vs 28,9%) • D'autant plus si NEC < 2,75 	Pas d'effet sur la progestéronémie et le volume du CJ
Kenyon <i>et al.</i> , 2011	↑ : à J7, parmi les primipares, celles traitées à 800UI ont plus de follicules >10mm			↑ : Vaches traitées à 800UI ont une progestéronémie plus élevées à J42
Sales <i>et al.</i> , 2011	↑ entre J8 et J10 (1,40mm/j vs 0,95mm/j)	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ (88,6% vs 71,6%) • D'autant plus, si NEC < 2,75 • D'autant plus si FD est petit à J8 	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ (62,3% vs 43,9%) • D'autant plus si NEC < 2,75 	Supposé ↑ (car taille du FO corrélée à taille du CJ, selon Vasconcelos <i>et al.</i> , 2001)
Bryan <i>et al.</i> , 2013			<ul style="list-style-type: none"> • ↑ (36% vs 30,6%) • D'autant plus chez les femelles de moins de 2 ans • D'autant plus si vêlage depuis plus de 42 post-partum 	
Dorneles Tortorella <i>et al.</i> , 2013	↑ diamètre FD si traitement à J6		↑ si donné à J6 par rapport à J8 (27,3% vs 16%)	A 10 jours post-ovulation : <ul style="list-style-type: none"> • ↑ volume CJ et progestéronémie si traitement à J6 par rapport à J8 • ↓ taux de lutéolyse précoce
Ferreira <i>et al.</i> , 2013	Pas d'effet sur le diamètre du FD et du FO	<ul style="list-style-type: none"> • Pas d'effet sur le taux d'ovulation • Pas d'effet sur la variabilité du moment de l'ovulation 	Pas d'effet	Pas d'effet sur le volume du CJ et sur la progestéronémie
Pulley <i>et al.</i> , 2013	Pas d'effet sur le diamètre du FD	Pas d'effet sur le taux d'ovulation	Pas d'effet	Pas d'effet sur la progestéronémie ni sur le nombre de CJ/vache.

Bien que les études évaluant l'efficacité dans les traitements de maîtrise des cycles soient discordantes, en particulier chez la vache laitière, ses qualités supposées (effet FSH et LH de longue durée) sont intéressantes et peuvent correspondre à l'effet recherché dans les traitements de synchronisation actuels. Par son effet FSH, l'eCG est supposée permettre une meilleure croissance folliculaire et ainsi augmenter le diamètre du follicule ovulatoire qui est significativement corrélé à la taille du corps jaune formé ultérieurement (Vasconcelos *et al.*, 2001). Par son effet LH, l'eCG pourrait aider à l'induction de l'ovulation et, ainsi, diminuer la variabilité du moment de l'ovulation. Elle est également susceptible de favoriser la lutéinisation précoce du follicule ovulatoire et ainsi de participer à diminuer la mortalité embryonnaire précoce via une production accrue de progestérone. Si la dose de 400 UI est celle recommandée chez la vache laitière, elle semble donner des résultats aléatoires dans la littérature. Les doses de 500 UI et 600 UI mériteraient une investigation plus poussée afin de voir si elles donnent des résultats différents.

Le protocole que nous avons conduit a pour objectif d'évaluer les effets de différentes doses d'eCG en fin de traitement progestatif chez la vache laitière sur la réduction de la variabilité du moment de l'ovulation, l'augmentation du diamètre du follicule ovulatoire, puis du corps jaune associé et sur la progestéronémie post-ovulatoire.

Etude expérimentale

A-Matériels et méthodes

Le protocole a été conduit durant les mois d'avril et de mai 2012 dans un unique élevage.

I. Animaux

1. Description générale de l'élevage

L'élevage est situé à Martres-Tolosane dans le département de la Haute-Garonne (31). Il s'agit d'une exploitation familiale de cinq UTH (Unité de Travail Humain). Plusieurs ateliers sont présents sur le site dont, entre autres, un atelier bovin lait de 100 vaches de race Holstein. Le quota laitier de la ferme est de 720 000 L par an. La production moyenne est de 8000 litres par vache et par an. Le troupeau est inscrit au Contrôle Laitier.

Au moment de l'inclusion, les vaches étaient en stabulation libre paillée (690 m²) avec une aire d'exercice raclée et rainurée (297 m²). Le bâtiment a connu, ensuite, des transformations durant toute la durée des expériences pour passer en système logettes. Les vaches ont accès à un parcours extérieur de 1 ha.

Les animaux en lactation reçoivent une ration complète distribuée deux fois par jour après la traite. Elle est basée sur une production quotidienne moyenne de 30 kg de lait par vache. L'éleveur distribue par jour et par vache en matière brute : 27 kg d'ensilage de maïs, 3 kg d'ensilage d'herbe, 3,5 kg de tourteau de soja 48, 1,4 kg de foin de luzerne, 250 g d'aliment minéral vitaminé 5/29/5, 60 g de sel gemme. Du foin de prairie permanente et des pierres à lécher sont en libre accès.

La mise à la reproduction des vaches débute à partir de 60 jours post-partum. Les vaches sont inséminées sur chaleurs observées. Le troupeau est suivi par l'unité pédagogique de Pathologie de la Reproduction de l'ENVT qui rapporte plusieurs problèmes : rétentions placentaires (10% des vêlages), métrites, infertilité à chaleurs normales, anœstrus vrai (6% des vaches).

2. Recrutement des vaches

L'ensemble des vaches du troupeau se trouvant à plus de 60 jours post-partum a été soumis à une échographie ovarienne afin de déterminer la nature des structures présentes et de

mesurer leur diamètre. Le recrutement s'est effectué en deux fois, 25 vaches ont été recrutées en avril 2012 et 15 vaches en mai 2012. Les vaches présentant un kyste folliculaire ont été exclues ainsi que celles ne présentant aucune structure folliculaire de diamètre supérieur à 1 cm afin d'augmenter la probabilité de réponse à l'injection de RECEPTAL[®] (buséréline, MSD). Aucune vache pré-synchronisée par des prostaglandines n'a été admise ; cela ne correspond pas à l'utilisation habituelle du protocole sur le terrain.

Un examen vaginal a permis d'exclure les vaches présentant des signes d'endométrite clinique. Ce phénomène induit une baisse de fertilité et en particulier des troubles de la croissance folliculaire et de l'ovulation (Sheldon et Dobson, 2004). Les vaches recrutées n'avaient jamais reçu d'injection d'eCG d'après le carnet sanitaire d'élevage.

3. Données recueillies avant la mise en lots

Pour chaque animal, les données suivantes ont été recueillies

- Note d'état corporel (Edmonson *et al.*, 1989).
- Nombre de jours post-partum.
- Résultats du Contrôle Laitier pour le mois d'avril 2012
 - o Production laitière quotidienne le jour du contrôle ;
 - o Taux protéique ;
 - o Taux butyreux ;
- Taille et nature des structures ovariennes visibles à l'échographie.

4. Appariement

Quarante vaches ont été sélectionnées parmi celles correspondant aux critères d'inclusion. Chacune a été placée dans un des quatre lots de traitement eCG après classement des vaches par ordre croissant du nombre de jours post-partum (lot 0 UI, lot 400 UI, lot 500 UI, lot 600 UI), soit 4 lots de 10 vaches. Celles présentant un corps jaune au moment de l'inclusion ont été réparties de manière homogène entre les quatre lots. Deux vaches appartenant au lot 3 se sont blessées au cours des expériences, réduisant à 8 vaches l'effectif total du lot 3.

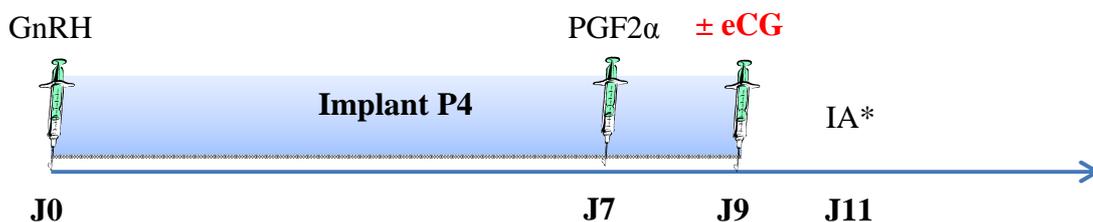
II. Protocole expérimental

L'ensemble des vaches a reçu le protocole suivant (figure 15) :

- **J0** : Injection d'un analogue de la GnRH : 10 µg de buséréline (RECEPTAL[®], MSD), soit 2,5 mL par voie intra-musculaire.
- **J0 à J9** : Mise en place de l'implant progestagène CRESTAR SO[®] (3 mg de norgestomet, MSD) par voie sous-cutanée auriculaire.
- **J7** : Injection d'un analogue des PGF2α (0,5 mg de cloprosténol, ESTRUMATE[®], MSD), soit 2 mL par voie intra-musculaire.

A J9, au moment du retrait de l'implant, les quatre lots ont reçu une injection différente par voie intra-musculaire :

- Lot 0 UI : Injection de 2 mL de CHRONOGEST[®] PMSG SOLVANT (MSD ; solvant aqueux : phosphate disodique dihydraté, phosphate monosodique dihydraté, acide phosphorique, hydroxyde de sodium, eau pour préparation injectable) ;
- Lot 400 UI : Injection de 2 mL de CHRONOGEST[®] PMSG 400 reconstitué dans le solvant (MSD) ;
- Lot 500 UI : Injection de 2 mL de CHRONOGEST[®] PMSG 500 reconstitué dans le solvant (MSD) ;
- Lot 600 UI : Injection de 2 mL de CHRONOGEST[®] PMSG 600 reconstitué dans le solvant (MSD).



* Les vaches ayant été vues en chaleur à J9 ont été inséminées à J10 et J11

Figure 15 : Protocole mis en œuvre. La dose d'eCG administrée est de 0 UI, 400 UI, 500 UI ou 600 UI en fonction du lot.

III. Collecte des données

1. Echographie ovarienne

Le suivi de la vague folliculaire et de l'ovulation a été réalisé par échographie transrectale comme cela est décrit dans la littérature (Driancourt, 2001 ; Roelofs *et al.*, 2004). Des échographies ovariennes par voie transrectale (échographes TRINGA LINEAR VET[®] et MyLabOne[®], sondes linéaires respectivement de 6 à 8 MHz et de 6 à 10 MHz ; ESAOTE, Poisy, France) ont été réalisées quotidiennement. Elles ont débuté le jour du retrait de l'implant et se sont poursuivies jusqu'à l'ovulation de tous les follicules dominants. Les follicules ont été mesurés chaque jour et les données ont été enregistrées. La taille des follicules était déterminée par la moyenne du plus grand diamètre et du diamètre maximal perpendiculaire à ce diamètre. Une ovulation était mise en évidence par la disparition à J + 1 du follicule dominant observé le jour J ; le jour de l'ovulation était le jour de la première ovulation dans les cas de double ovulation.

Une échographie utérine par voie transrectale a également été réalisée 35 jours après l'IA pour diagnostiquer la gestation.

2. Prélèvements sanguins

Des prélèvements sanguins ont été réalisés à J0, J9 puis quotidiennement jusqu'au jour de l'ovulation pour déterminer les concentrations sériques en 17 β -œstradiol. Les vaches ont été également prélevées à J0, J9, et cinq jours après l'ovulation observée mais uniquement pour le dosage de la progestéronémie. Le sang a été prélevé au niveau de la veine coccygienne par le système Vacutainer[®] dans des tubes secs de 10 mL. Après centrifugation, le sérum de chaque vache a été aliquoté et conservé au congélateur à -20°C.

3. Dosages hormonaux

- 17 β -œstradiol

Les échantillons sériques ont été envoyés sous couvert du froid négatif (- 20°C) à Atlanbio (Saint-Nazaire, France). Du sérum de trois veaux mâles Holstein âgés d'un mois environ a été également fourni au laboratoire afin d'étalonner la gamme. Les concentrations en 17 β -œstradiol ont été évaluées par un dosage radioimmunologique. Les limites basse et haute de quantification étaient respectivement de 5 pg/mL et 75 pg/mL. Le résultat était considéré comme validé si le coefficient de variation entre deux mesures successives était

inférieur à 30%. Dans le cas où il était supérieur à 30%, l'échantillon était dosé à nouveau. Les pourcentages de réactions croisées ont été fournis par le laboratoire (tableau 6).

Tableau 6 : Réactions croisées vis-à-vis de différents stéroïdes lors du dosage du 17 β -œstradiol sérique

Composés	Réactions croisées (%)
Estrone	2,40
Estrone- β -D-Glucoronide	0,20
Estrone-3-Sulfate	0,01
Equilin	0,34
D-Equilenin	3,40
17 α -œstradiol	0,21
16-kéto-œstradiol	0,21
17 β -œstradiol-3-Glucoronide	2,56
œstradiol-3-Sulfate	0,17
Estriol	0,64

- Progestérone

Les dosages de progestérone ont été réalisés à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse au laboratoire de Physiologie à l'aide d'un kit Coat-A-Count[®] (Siemens Diagnostic Healthcare, Los Angeles, USA). Celui-ci permet de faire un dosage radioimmunologique en phase solide pour la mesure quantitative de la 17 α -hydroxy-progestérone (4-pregnen-17 α -ol-3,20-dione) dans le sérum ou dans le plasma par compétition avec de la progestérone marquée à l'iode¹²⁵.

Du sérum a été prélevé sur trois veaux mâles de race Holstein âgés d'environ un mois ; leur progestéronémie a été considérée comme nulle. Ce sérum a permis l'élaboration des points de gamme dans du sérum bovin après dilutions d'une solution mère de progestérone à la concentration connue de 1 mg/mL. Les valeurs de la gamme étaient de 0 ng/mL (sérum de veau pur), 0,1 ng/mL, 0,8 ng/mL, 2 ng/mL, 4 ng/mL, 10 ng/mL, 20 ng/mL et 50 ng/mL. Lors de la validation de la gamme, la corrélation était bonne entre les valeurs attendues (concentrations théoriques connues à partir de la concentration de la solution mère) et les valeurs estimées après ajustement des données de pourcentage de liaison (radioactivité dans l'échantillon/radioactivité de la liaison maximale dans le zéro) en fonction des concentrations théoriques (figure 16). La limite basse de quantification a été validée à 0,1 ng/mL. La limite

haute de quantification a été arbitrairement fixée à la plus haute valeur de la gamme étalon, soit 50 ng/mL.

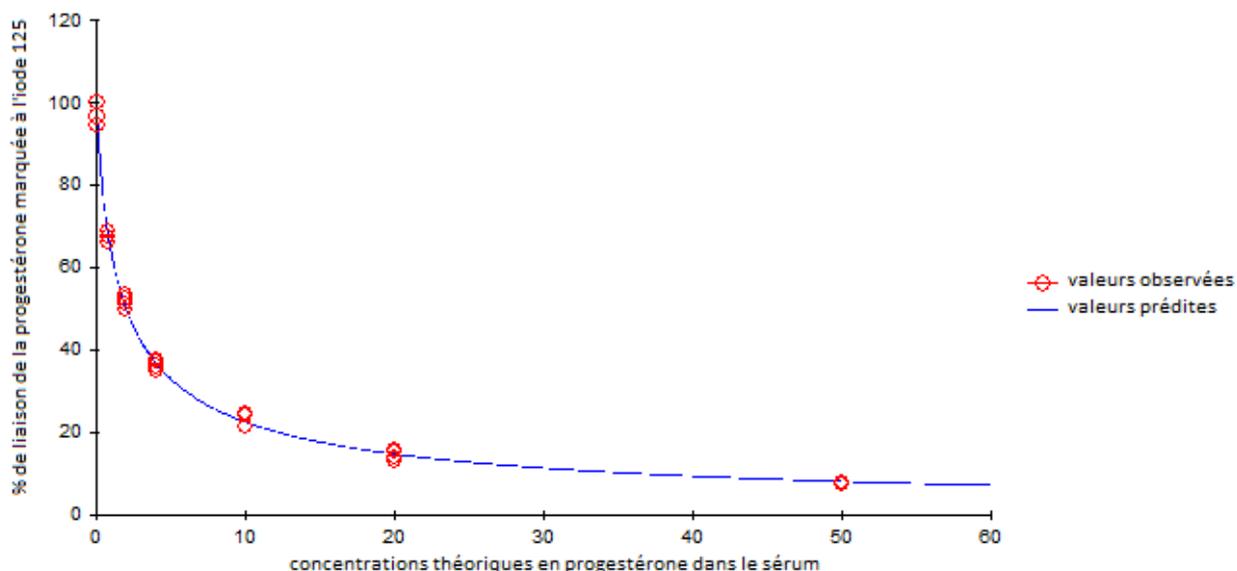


Figure 16 : Courbe étalon représentant les pourcentages de liaison de la progestérone marquée à l'iode¹²⁵ en fonction des concentrations théoriques en progestérone dans les sérums. Les valeurs observées sont représentées par des points rouges, les valeurs prédites après ajustement mathématique des données sont représentées par la courbe bleue.

Trois points de contrôle qualité du dosage (CQ) ont été utilisés aux concentrations théoriques de 1,4 ng/mL, 15 ng/mL et 35 ng/mL. Le pourcentage d'écart entre la concentration obtenue par le dosage et la concentration théorique n'a pas dépassé 15%, ce qui a permis de valider l'exactitude de la méthode. Le coefficient de variation intradosage moyen pour les trois CQ était inférieur à 7%. L'ensemble des échantillons de l'expérimentation a été traité au cours d'une même session de dosage. Les pourcentages de réactions croisées avec d'autres stéroïdes ont été fournis par le fabricant du kit (tableau 7).

Tableau 7 : Réactions croisées lors du dosage de la 17 α -hydroxy-progesterone par le kit Coat-A-Count[®]. D'après la notice d'utilisation du kit.

Composés		Réactions croisées (%)
Nom chimique	Nom usuel	
5 α -Androstan-17 β -ol-3-one	5 α -Dihydrotestostérone	0,0018
4-Androsten-17 β -ol-3-one	Testostérone	0,0096
5 β -Pregnan-3,20-dione	Pregnanedione	0,071
5 β -Pregnan-3 α ,17 α ,20 α -triol	Pregnanetriol	0,00083
4-Pregnen-11 β ,21-diol-3,20-dione	Corticostérone	0,0023
4-Pregnen-17 α ,21-diol-3,20-dione	11-Deoxycortisol	2,1
4-Pregnen-3,20-dione	Progesterone	0,578
4-Pregnen-21-ol-3,20-dione	Deoxycorticostérone	0,14
4-Pregnen-11 β ,17 α ,21-triol-3,20-dione	Cortisol	0,024
5-Pregnen-3 β -ol-20-one	Pregnenolone	0,019
5-Pregnen-3 β -ol-20-onesulfate	Pregnenolone sulfate	0,027
5-Pregnen-3 β ,17 α -diol-20-one	17 α -hydroxypregnenolone	3,2
5-Pregnen-3 β ,17 α -diol-20-one-sulfate	17 α -hydroxypregnenolone sulfate	3,8

4. Analyses statistiques

Les résultats nécessitant la comparaison de moyennes ont été traités à l'aide du logiciel Excel[®] par une ANOVA à un facteur. Les distributions, les taux d'ovulation et de gestation ont été comparés à l'aide d'un test de Fisher exact sur le logiciel R[®] (projet GNU, logiciel libre). La variabilité de l'évolution des concentrations en 17 β -œstradiol de chaque vache dans les lots a été étudiée à l'aide d'une régression logistique de type : $\log(p/(1-p)) = \mu + \text{lot} + \text{temps} * \text{lot} + \text{temps} + \text{vache} \{ \text{lot} \} + \varepsilon$, ε étant l'erreur aléatoire résiduelle, avec le logiciel SYSTAT[®] v10 (Systat Software, Chicago, Etats-Unis). Les variabilités des moments de l'ovulation et du pic de 17 β -œstradiol ont été analysées à l'aide d'un test de Bartlett par comparaison des variances entre les lots.

Les vaches ont été réparties en quatre lots selon la quantité d'eCG reçue (0 UI, 400 UI, 500 UI, 600 UI). Le sous-groupe des vaches ayant ovulé est appelé sous-groupe O, et le sous-groupe des vaches gravides au terme des expériences est appelé sous-groupe G. Des comparaisons ont été également faites en fusionnant les trois lots de vaches ayant reçu de l'eCG contre les vaches témoins n'ayant pas reçu d'eCG (lot 0 UI). Le lot de vaches résultant de cette fusion est appelé « lot eCG ».

B- Résultats

I. Population étudiée

1. Description de l'échantillon

Quarante vaches de race Holstein ont été sélectionnées comme indiqué précédemment (plus de 60 jours post-partum, présence d'un follicule supérieur à 1 cm, absence de kyste, absence de signes d'endométrite clinique ; tableau 8). Les dates des vêlages précédant la synchronisation s'étendent du 31/12/2010 au 06/02/2012. Les implants ont ainsi été mis en place 160 jours \pm 105,2 (moyenne \pm écart type) après vêlage, sur des animaux ayant une note d'état corporel moyenne de 2,3 \pm 0,7 points sur une échelle de 0 à 5 (Edmonson *et al.*, 1989). D'après le Contrôle Laitier du mois d'avril 2012, soit au début des expériences, la production laitière était de 32,4 \pm 8,6 kg/vache/j. Les taux protéiques et butyreux des vaches incluses étaient respectivement de 32,7 \pm 3 g/L et de 38,2 \pm 4,1 g/L.

Tableau 8 : Caractéristiques de la population (N=40)

Variable	Moyenne	Ecart-type	Minimum	Maximum
Rang de lactation	2,3	1,9	1	9
Mois de lactation (mois)	6,7	3,5	3	17
Durée écoulée depuis le vêlage (jours)	160	105,2	60	462
Note d'état corporel (échelle 0 à 5)	2,3	0,7	1	4
Production laitière (kg/j)	32,4	8,6	17,8	52
Taux protéique (g/L)	32,7	3,0	25,9	39,7
Taux butyreux (g/L)	38,2	4,1	29	48,6

2. Comparabilité initiale

Pour la constitution des lots, les vaches ont été appariées sur le nombre de jours après vêlage et la présence ou non d'un corps jaune. L'appariement a été correct pour ces deux variables (tableau 9). La répartition des variables ne diffère pas significativement entre les différents lots. La comparabilité de la note d'état corporel, des résultats de production laitière et de la progestéronémie au moment de l'inclusion a été vérifiée *a posteriori* : il n'y a pas de différence statistiquement significative entre les différents lots pour l'ensemble des paramètres (tableau 9). Les lots ont été comparés en excluant les deux vaches blessées au cours des expériences, appartenant initialement au lot 500 UI. Cela a ramené l'effectif de ce

lot à 8 vaches. A la pose de l'implant, 71% des vaches présentaient une activité lutéale (progestéronémie supérieure à 1 ng/mL).

Tableau 9 : Comparaison des lots à l'inclusion. Moyenne \pm écart type. Les critères ayant été utilisés pour la répartition en lots apparaissent en gras.

	Lot 0 UI (N=10)	Lot 400 UI (N=10)	Lot 500 UI (N=8)	Lot 600 UI (N=10)	P
Numéro de lactation	3,4 \pm 2,6	2,8 \pm 1,9	2,1 \pm 1,4	2,2 \pm 1,3	0,44
Mois de lactation (mois)	6,8 \pm 3,6	6,8 \pm 3,2	6,5 \pm 3,5	6,6 \pm 4,1	0,99
Durée écoulée depuis le vêlage (jours)	156,2 \pm 106,4	163,6 \pm 101,1	147,8 \pm 102,8	156,2 \pm 120,6	0,99
Note d'état corporel (échelle 0 à 5)	2,6 \pm 0,9	2,1 \pm 0,5	2,2 \pm 0,8	2,2 \pm 0,5	0,38
Production laitière (kg/j)	30,1 \pm 7,9	33,2 \pm 8,5	35,1 \pm 9,6	31,3 \pm 9,0	0,64
Taux protéique (g/L)	33,0 \pm 3,1	31,3 \pm 2,6	34,0 \pm 3,9	32,5 \pm 2,1	0,28
Taux butyreux (g/L)	39,7 \pm 4,7	38,0 \pm 4,4	38,8 \pm 3,9	36,6 \pm 3,4	0,39
% de vaches sans corps jaune échographiquement visible	60%	40%	40%	30%	0,51
% de vaches ayant une progestéronémie inférieure à 1 ng/mL à J0	40%	20%	37,5%	20%	0,65
Concentration sérique en 17 β -œstradiol à J0 (pg/ml)	9,15 \pm 3,2	8,87 \pm 2,6	9,05 \pm 3,3	10,36 \pm 5,6	0,82
Progestéronémie à J7 (ng/mL)	2,42 \pm 2,6	1,48 \pm 1,9	2,48 \pm 2,1	2,84 \pm 2,6	0,61

II. Effet de l'eCG sur l'ovulation

1. Taux d'ovulation

Le taux d'ovulation au sein d'un groupe est défini comme le nombre de vaches ayant ovulé au moins une fois dans les cinq jours suivant le retrait de l'implant sur le nombre total de vaches du groupe.

Au total, 30 vaches ont ovulé sur 38 et les taux d'ovulation sont respectivement de 90%, 70%, 62,5% et 90% pour les lots 0 UI, 400 UI, 500 UI et 600 UI (figure 17). Le taux d'ovulation moyen des lots traités est de 75% contre 90% pour le lot 0 UI (figure 18). Ces taux ne diffèrent pas entre les quatre lots ($p=0,41$), non plus entre le lot eCG et le lot 0 UI ($p=0,65$). Le taux moyen de double ovulation est de 31,3% et n'est pas significativement différent entre les lots où il est respectivement de 30%, 40%, 25% et 30% pour les lots 0 UI, 400 UI, 500 UI et 600 UI ($p=0,96$).

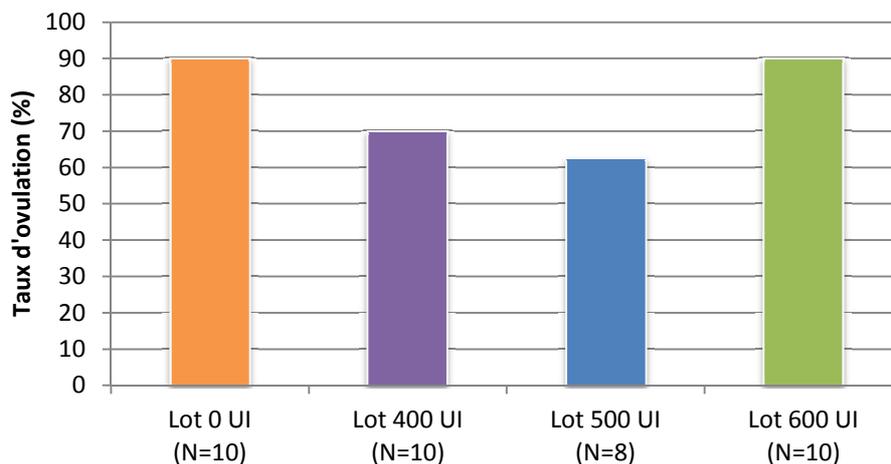


Figure 17 : Effet de la dose d'eCG reçue sur le taux d'ovulation ($p=0,41$) en fonction de la dose d'eCG administrée

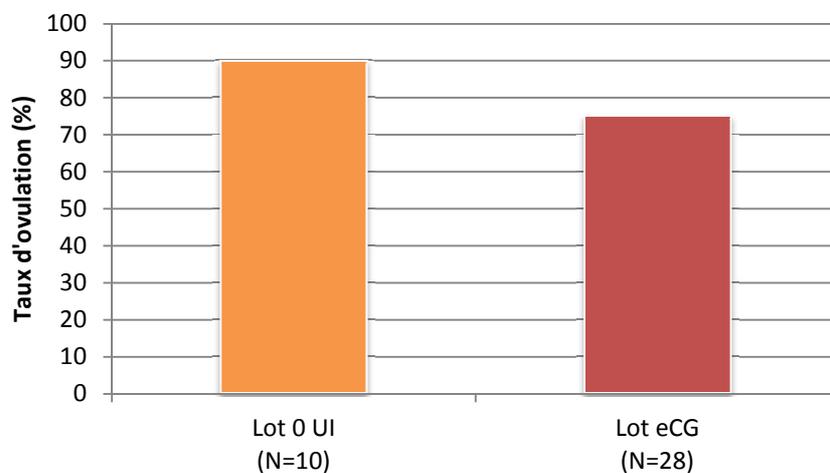


Figure 18 : Effet du traitement (eCG) sur le taux d'ovulation ($p=0,65$)

2. Durée de l'intervalle R-O (Retrait de l'implant – Ovulation)

Le retrait de l'implant a eu lieu à J9. L'ovulation a été déclarée pour une vache dès lors qu'un de ses follicules présents au jour J n'était plus présent au jour J+1 ; l'ovulation a été enregistrée dans l'intervalle [h – h+24], h étant le nombre d'heures écoulées depuis le retrait de l'implant.

Parmi les vaches ayant ovulé (sous-groupe O), l'intervalle R-O varie de 0 à 120h et 50% des vaches ont ovulé entre 48 et 72h. Vingt-sept pour cent ont ovulé avant 48h et 33% après 72h. En considérant que les ovaires ont été examinés toutes les 24h, la durée de l'intervalle R-O pour une vache donnée a été définie comme la valeur centrale de l'intervalle au cours duquel la vache a ovulé. Par conséquent, la durée moyenne de l'intervalle R-O pour l'ensemble des vaches est de $56h \pm 22,8$.

Il semble que dans les lots 0 UI et 400 UI, les vaches ovulent plus fréquemment dans l'intervalle R-O [48 à 72h] que dans les lots 500 UI et 600 UI (figure 19). En effet, 80% des ovulations ayant eu lieu après 72h sont survenues sur des vaches appartenant à ces deux derniers lots. Néanmoins, aucun effet significatif n'a été mis en évidence entre les quatre lots ($p=0,82$). De la même façon, la comparaison du lot eCG (N=21) et du lot 0 UI n'a pas mis en évidence de différence significative du traitement eCG sur le moment de l'ovulation ($p=0,63$; figure 20).

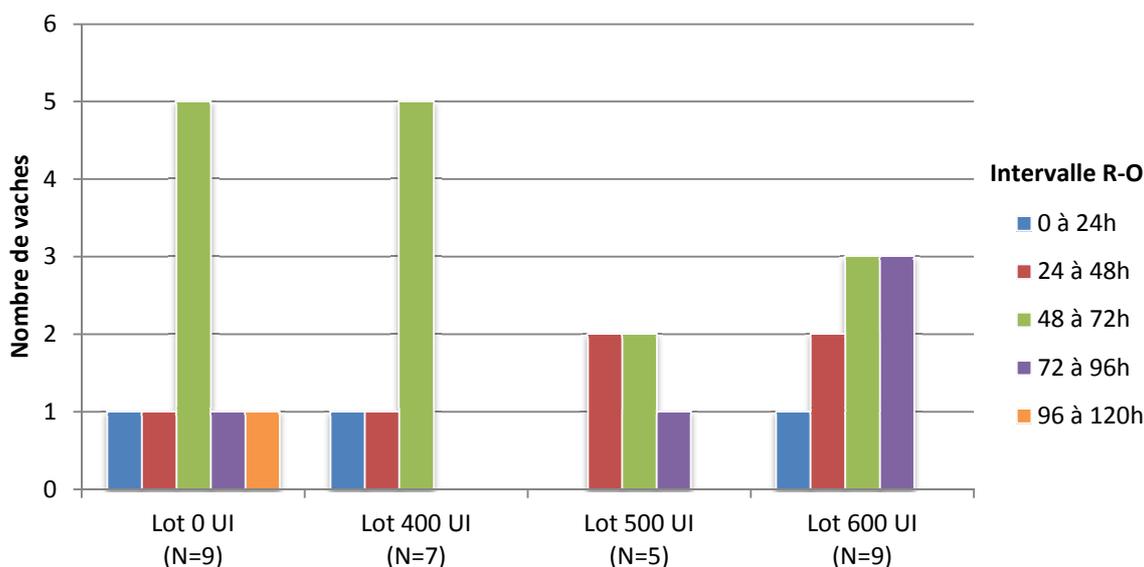


Figure 19 : Durée de l'intervalle Retrait de l'implant-Ovulation (R-O) parmi les vaches ayant ovulé ($p=0,82$) en fonction de la dose d'eCG reçue

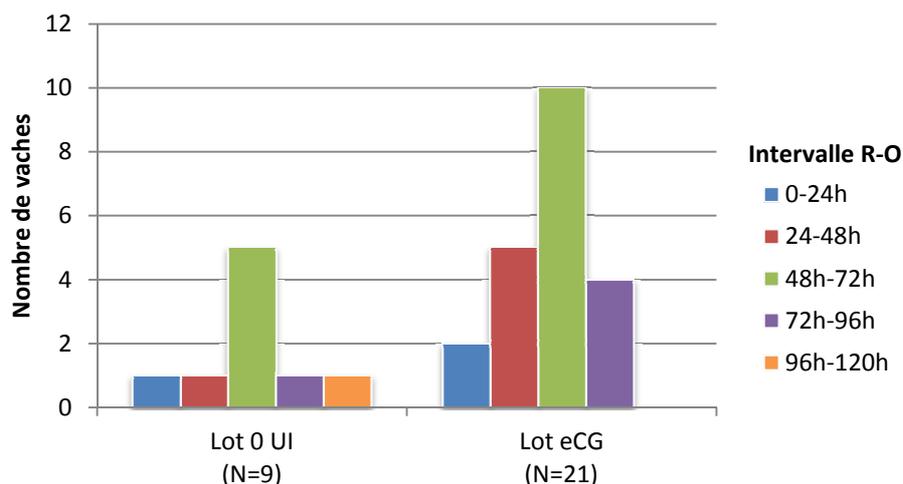


Figure 20 : Effet du traitement par l'eCG sur la durée de l'intervalle Retrait de l'implant-Ovulation (R-O) parmi les vaches ayant ovulé (p=0,63)

Seules des vaches ayant ovulé dans les 24 à 72h suivant le retrait de l'implant (donc entre J10 et J12 pour une IA systématique à J11) ont été gravides (figure 21). De plus, deux vaches sur les trois ayant ovulé dans l'intervalle [24 à 48h (i.e. J10-J11)] avaient également été inséminées sur chaleurs observées à J10 (en plus de l'IA prévue en fin de traitement à J11). Pour au moins 7 vaches sur 10 gravides, l'IA fécondante a donc eu lieu le jour de l'ovulation (figure 21).

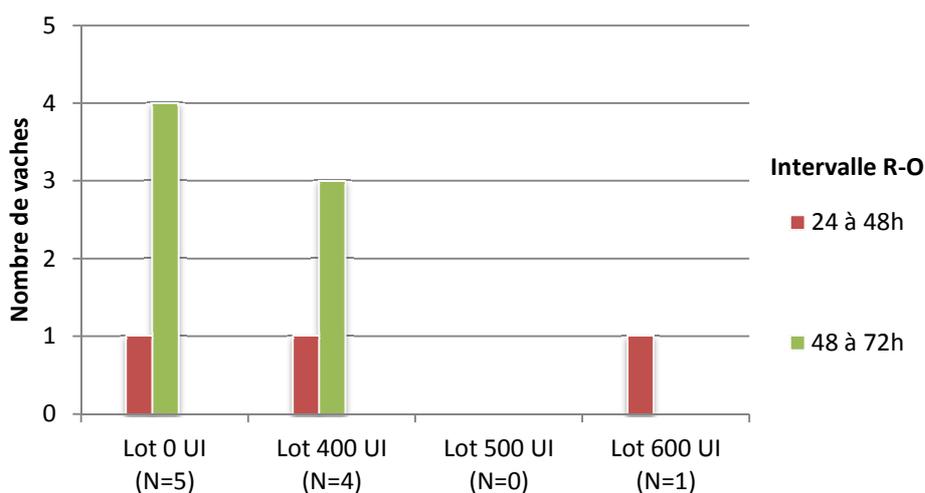


Figure 21 : Durée de l'intervalle Retrait de l'implant-Ovulation (R-O) parmi les vaches gravides selon la dose d'eCG reçue

3. Variabilité du moment de l'ovulation

Globalement les ovulations sont dispersées sur 120h. D'après la figure 19, il semblerait que la dispersion du moment de l'ovulation soit plus importante dans les lots 500 UI et 600 UI que dans les lots 0 UI et 400 UI. En effet, dans le sous-groupe O, 56% et 71% des vaches des lots 0 UI et 400 UI ont respectivement ovulé dans les 48 à 72h suivant le retrait de l'implant, alors que dans les lots 500 et 600 UI, aucun intervalle de temps n'apparaît majoritaire pour le moment de l'ovulation.

Cependant, le test de Bartlett, qui compare les variances, n'a pas mis en évidence de différence significative de la dispersion du délai de survenue de l'ovulation entre ces lots ($p=0,64$) parmi les trente vaches ayant ovulé. La comparaison du lot eCG et du lot 0 UI ne met pas non plus en évidence de résultat significatif ($p=0,26$). Enfin, la dispersion du moment de l'ovulation chez les dix vaches gravides n'est pas statistiquement différente entre les cinq vaches traitées et les cinq vaches témoins ($p=0,96$).

III. Effet de l'eCG sur le follicule ovulatoire

1. Dominance folliculaire

a. Diamètre du plus gros follicule

Le jour du retrait de l'implant, le diamètre moyen du plus gros follicule était de 1,5 cm \pm 0,3 avec un minimum à 0,3 cm et un maximum à 2,1 cm. La moyenne des diamètres de ce follicule a été comparée entre les vaches ayant ovulé et celles n'ayant pas ovulé. Aucune différence significative n'a été observée ($p=0,38$; figure 22). La tendance observée sur la figure 22 : une diminution du diamètre du follicule ovulatoire la veille de l'ovulation est confirmée par la figure 23 ($p=0,04$). Cela s'explique par la présence de cellules myoépithéliales de la thèque dans la paroi du follicule. Celles-ci entraînent sa contraction durant l'ovulation, ce qui peut conduire à une légère diminution du diamètre folliculaire juste avant la disparition complète de la structure.

Ensuite, le diamètre moyen du plus gros follicule semble plus élevé dans les lots traités que dans celui ne recevant pas d'eCG (figure 24). Aucune différence significative n'est présente lorsqu'on compare les quatre lots. Cependant, si globalement aucune différence significative n'est mise en évidence, à J13, le diamètre du plus gros follicule est significativement différent entre le lot eCG (1,96cm \pm 0,36) et le lot 0 UI (1,18 cm \pm 0,11) ($p=0,02$; figure 25).

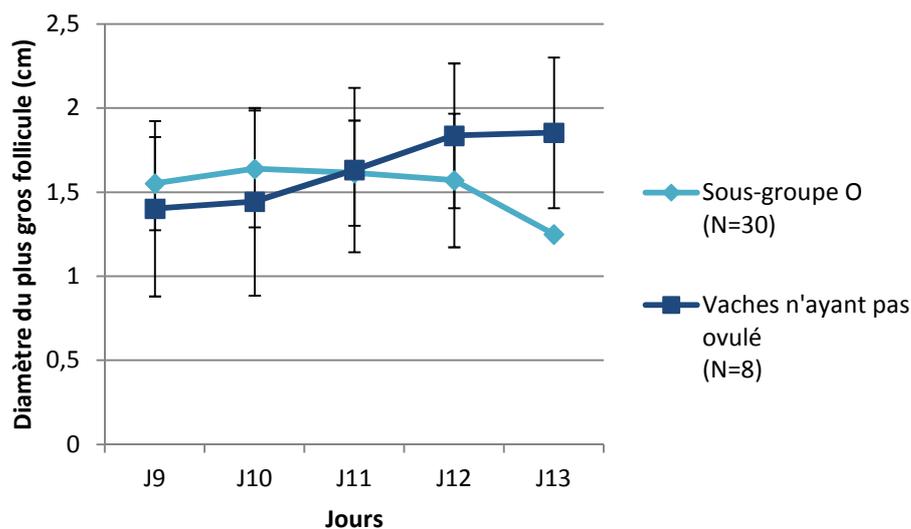


Figure 22 : Diamètre moyen du plus gros follicule : comparaison entre les vaches ayant ovulé (sous-groupe O) et celles n'ayant pas ovulé ($p=0,38$). J0 : mise en place de l'implant ; J9 : retrait de l'implant \pm injection d'eCG).

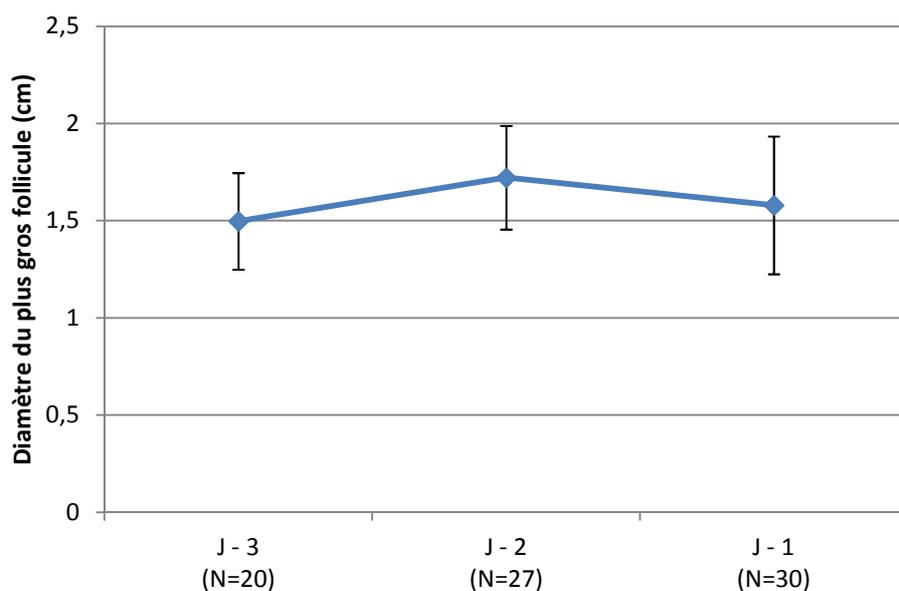


Figure 23 : Evolution du diamètre du follicule préovulatoire dans les jours précédant l'ovulation ($p=0,04$)

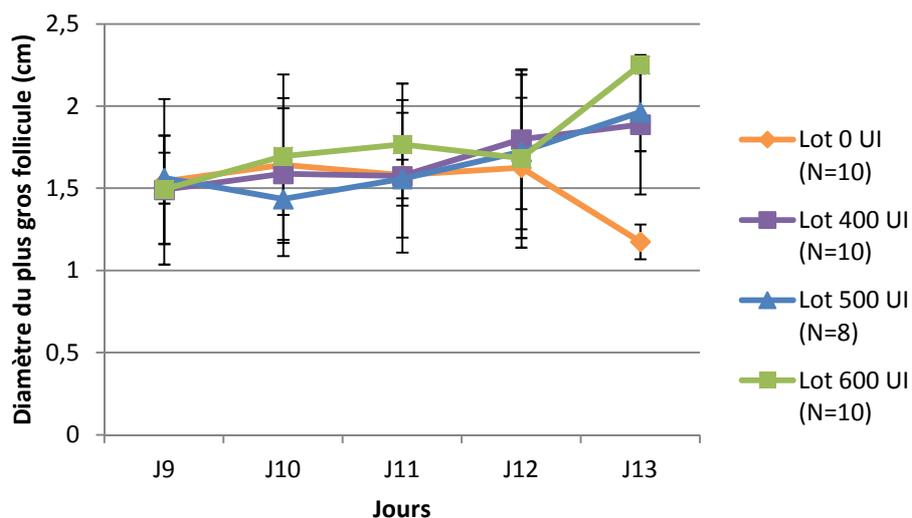


Figure 24 : Effets de la dose d’eCG sur le diamètre moyen du plus gros follicule.
 J0 : mise en place de l’implant ; J9 : retrait de l’implant ± injection d’eCG.

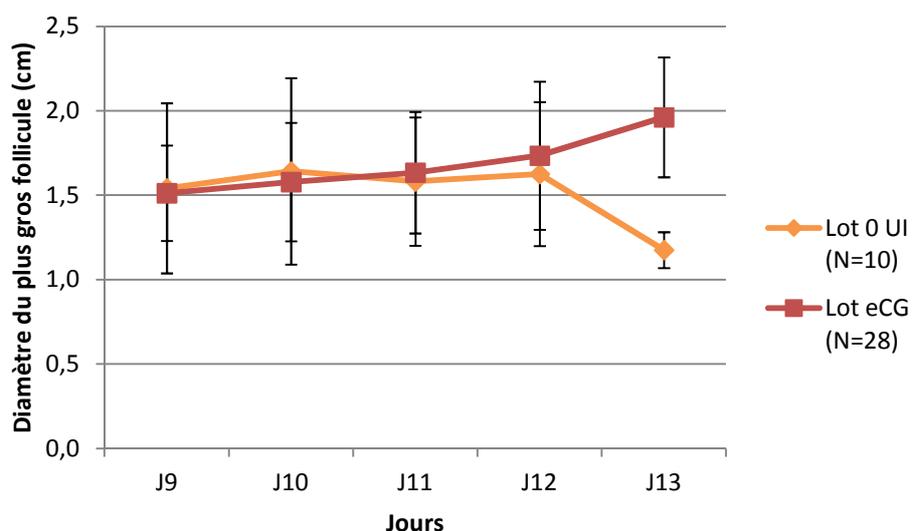


Figure 25 : Effets du traitement par l’eCG sur le diamètre moyen du plus gros follicule ; à J13, p=0,02. J0 : mise en place de l’implant ; J9 : retrait de l’implant ± injection d’eCG.

b. Effet de la dose d’eCG sur la cinétique des concentrations sériques en 17β-œstradiol

Les concentrations sériques en 17β-œstradiol ont été mesurées entre J9 et J14 pour chaque vache. Les concentrations varient de 2,5 pg/mL à 25,6 pg/mL. Les valeurs individuelles les plus hautes sont généralement observées à J9 ou à J10. Le suivi des concentrations moyennes en 17β-œstradiol des quatre lots ne montre pas de différence significative entre les lots à aucun temps entre J9 et J14 (figure 26).

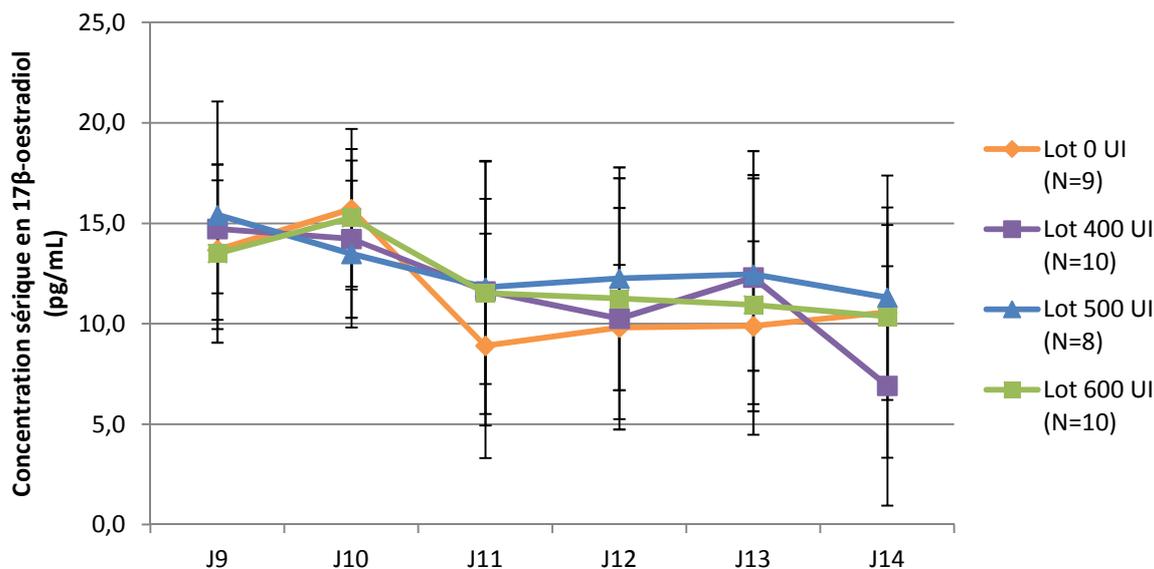


Figure 26 : Suivi de la concentration sérique en 17β-œstradiol à partir du retrait de l’implant/injection d’eCG (J9) en fonction du traitement.

En regroupant les vaches traitées (figure 27), aucune différence n’apparaît non plus sur la période J9 – J14.

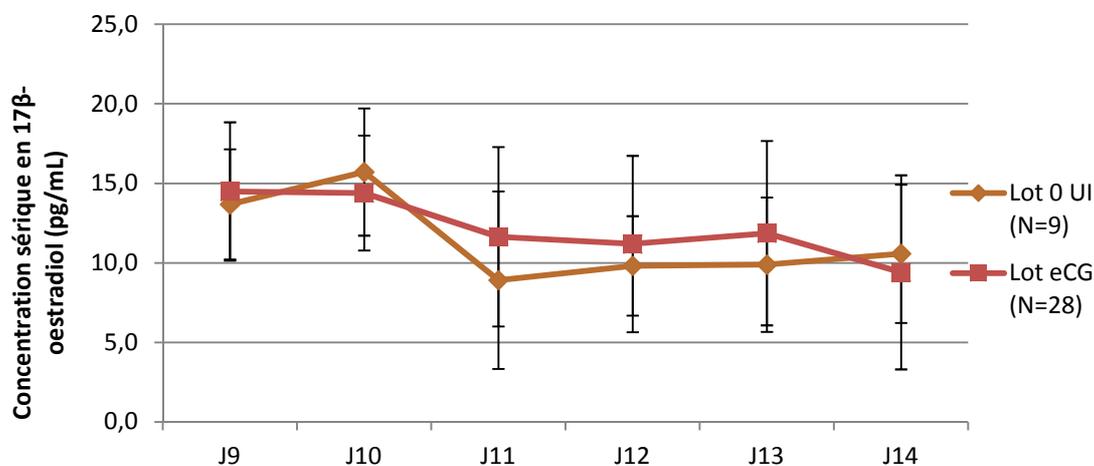


Figure 27 : Suivi de la concentration sérique en 17β-œstradiol à partir du retrait de l’implant/injection d’eCG (J9) pour le lot 0 UI et le lot eCG.

2. Follicule ovulatoire

a. Diamètre du follicule ovulatoire

Le diamètre du follicule ovulatoire est défini comme le plus grand diamètre mesuré pour un follicule donné avant son ovulation. Le diamètre moyen du follicule ovulatoire pour l'ensemble des vaches est de 1,8 cm \pm 0,3, avec un minimum de 1,2 cm et un maximum de 2,2 cm. Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les quatre lots au sein du sous-groupe O ($p=0,39$; figure 28) ni au sein du sous-groupe G ($p=0,97$). De même, dans les sous-groupes O et G, la comparaison de l'ensemble des animaux traités à l'eCG (lot eCG) et des animaux non traités (lot 0 UI) ne montre pas d'effet significatif ($p=0,17$ et $p=0,61$ respectivement pour les sous groupes O et G).

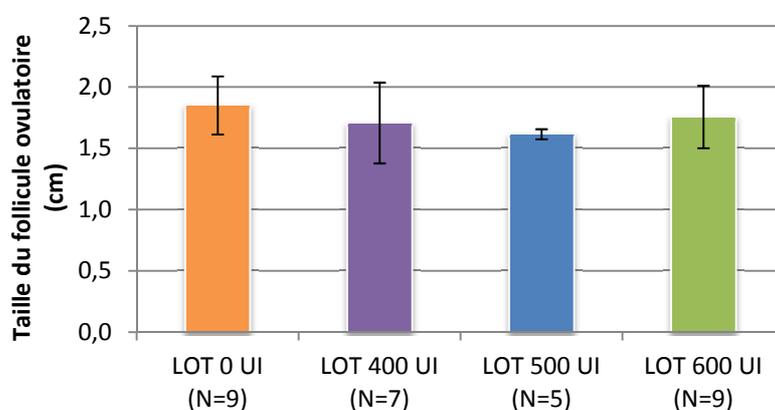


Figure 28 : Effet de la dose d'eCG sur la taille du follicule ovulatoire parmi les vaches ayant ovulé ($p=0,39$)

b. Pic de concentration sérique en 17β -œstradiol au pic

La concentration moyenne au pic de 17β -œstradiol est de 16,1 pg/mL \pm 3,8 pour l'ensemble des vaches incluses dans l'étude. Les minimum et maximum enregistrés au moment du pic sont respectivement de 8,2 et 23,6 pg/mL (figure 29). La comparaison des différents lots ne montre pas d'effet de l'eCG, quelle que soit la dose utilisée ni dans la population totale ($p=0,90$), ni dans les sous-groupes O ($p=0,82$) ou G ($p=0,99$). En regroupant les données, les concentrations de 17β -œstradiol ne diffèrent pas significativement entre le lot témoin (lot 0 UI) et le lot eCG ($p=0,99$).

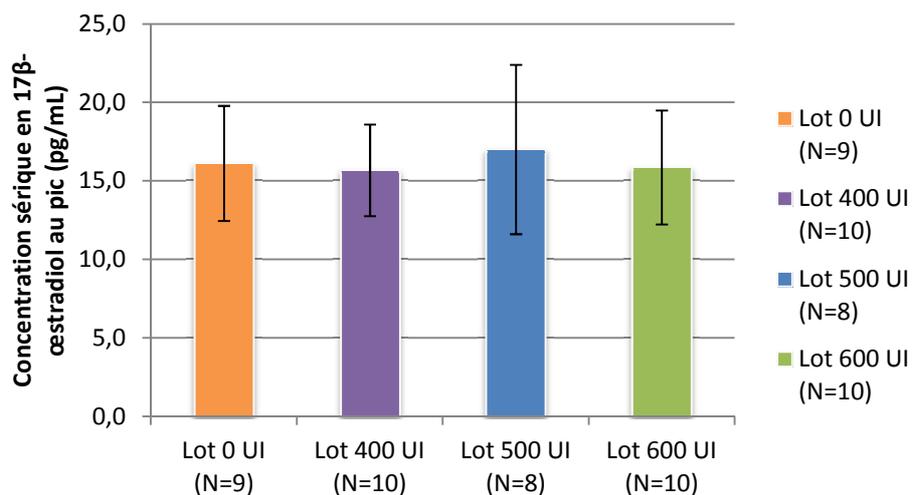


Figure 29 : Effets de la dose d’eCG sur la concentration sérique en 17β-œstradiol au pic pour l’ensemble des vaches (p=0,90)

Les vaches n’ayant pas ovulé n’ont pas eu une concentration plus basse en 17β-œstradiol au moment du pic puisqu’en moyenne, leur concentration sérique est de 17,6 pg/mL contre 16,0 pg/mL pour celles qui ont ovulé (figure 30). Cette différence n’est pas significative (p=0,35).

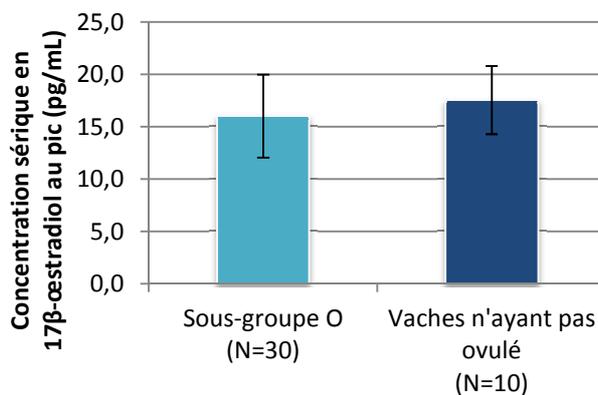


Figure 30 : Comparaison des concentrations sériques en 17β-œstradiol au pic entre les vaches ayant ovulé (sous-groupe O) et celles n’ayant pas ovulé (p=0,35)

En revanche, il est intéressant de noter qu’au sein du sous-groupe O, les vaches gravides au terme du protocole tendent à avoir un pic de concentration sérique en 17β-œstradiol avant l’ovulation plus élevé (17,7 pg/mL ± 2,6) que celles finalement non gravides (15,2 pg/mL ± 4,3) tous lots confondus (figure 31 ; p=0,08).

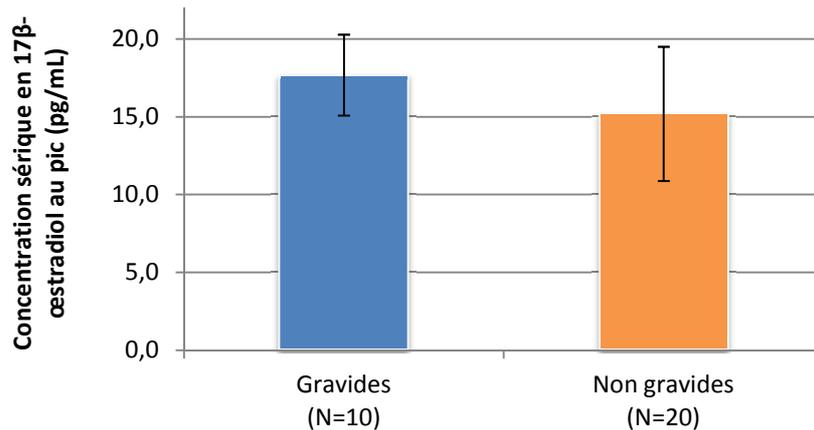


Figure 31 : Comparaison des concentrations sériques en 17β-œstradiol entre les vaches gravides et non gravides au terme des expériences parmi les vaches ayant ovulé (p=0,08)

3. Durée de l'intervalle R-P (Retrait de l'implant – Pic de 17β-œstradiol)

Pour chaque vache, le pic de 17β-œstradiol a été défini comme la valeur la plus élevée mesurée avant l'ovulation observée à l'échographie. Pour les vaches n'ayant pas ovulé, le pic a été défini comme la valeur la plus élevée mesurée entre J9 et J14. Le pic de 17β-œstradiol n'a pas pu être déterminé pour une vache sur les 38, sa concentration sérique étant toujours restée inférieure à la limite basse de quantification.

L'intervalle R-P varie de 0 à 72h après le retrait de l'implant. Près de 50% des vaches (18/37) présentent le pic de 17β-œstradiol 24 heures après le retrait de l'implant, 30% (11/37) dès le retrait de l'implant et donc avant toute action de l'eCG. Les 20% restant montrent un pic plus tardif, plus de 48h après l'injection d'eCG (figure 32).

La durée de l'intervalle R-P ne diffère pas significativement entre les lots (p=0,64 ; figure 32). De la même façon, le lot eCG (N=28) et le lot 0 UI (N=9) ne sont pas significativement différents quant à la durée de l'intervalle R-P (p=0,76).

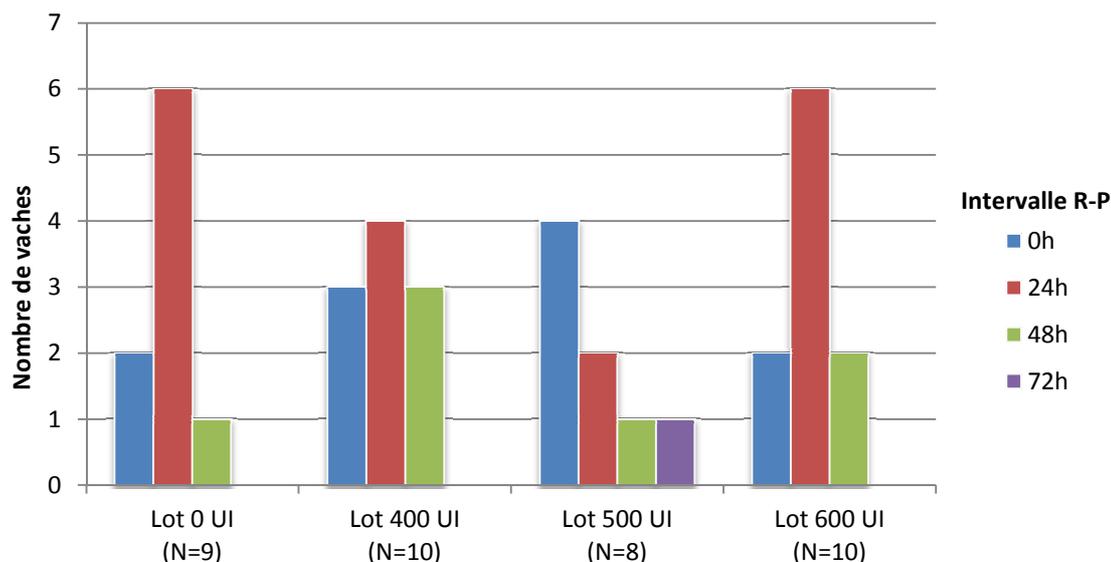


Figure 32 : Effet de la dose d’eCG sur la durée de l’intervalle Retrait de l’implant-Pic de 17 β -œstradiol (R-P) chez l’ensemble des vaches ayant eu un pic de 17 β -œstradiol (p=0,64)

L’analyse des données du sous-groupe O ne met pas en évidence de différence en comparant les quatre lots (p=0,63 ; figure 33), ni en comparant le lot témoin à l’ensemble des vaches traitées (p=0,56). De la même façon, au sein des vaches gravides, les intervalles R-P ne sont pas différents entre le lot eCG et le lot 0 UI (p=0,99).

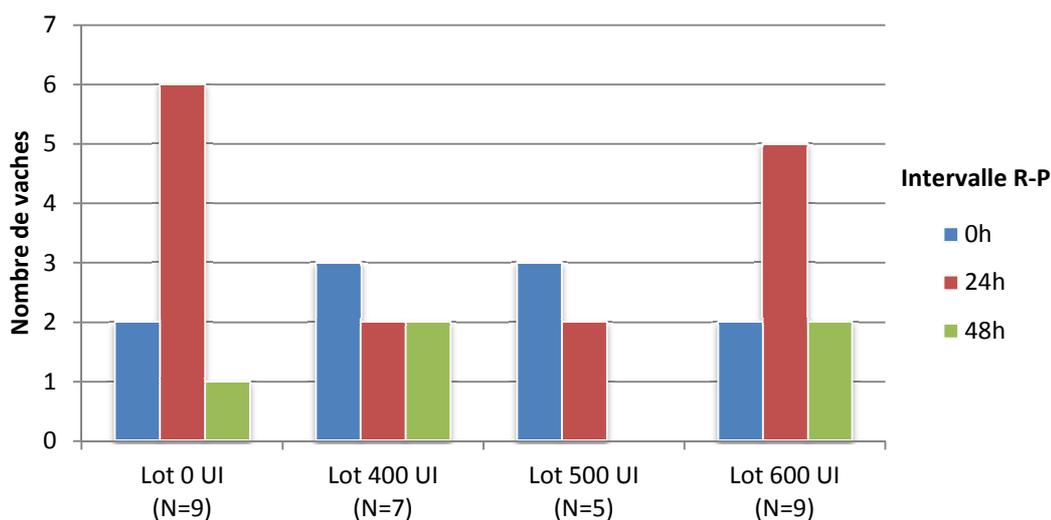


Figure 33 : Effet de la dose d’eCG sur la durée de l’intervalle Retrait de l’implant-Pic de 17 β -œstradiol (R-P) parmi les vaches ayant ovulé (p=0,63)

Dix vaches ont été gravides au terme des expériences. Parmi elles, cinq ont eu un pic de 17β -œstradiol 24h après le retrait de l'implant, trois le jour même du retrait et les deux dernières 48h après (figure 34). La durée de l'intervalle R-P n'est pas statistiquement différente entre les vaches gravides et non gravides ($p=1$). La distribution des données se fait de la même manière, et cet intervalle ne semble pas avoir d'influence sur la capacité d'une vache à être gravide.

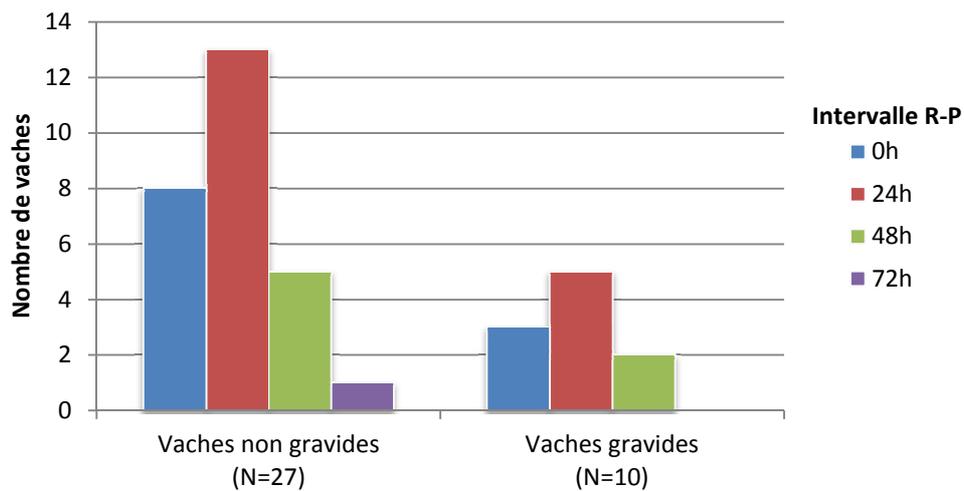


Figure 34 : Durée de l'intervalle entre le Retrait de l'implant et le Pic de 17β -œstradiol (R-P) selon la réussite de l'IA

4. Variabilité dans le temps du pic de 17β -œstradiol

D'après la figure 26, le pic de 17β -œstradiol se manifeste dans les 72h suivant le retrait de l'implant. Celui-ci semble avoir lieu précisément 24h après le retrait pour la majorité des vaches des lots 0 UI et 600 UI. Cependant, la comparaison des variances entre les lots n'a mis en évidence de différence entre les quatre lots ($p=0,77$) ni entre le lot eCG et le lot 0 UI ($p=0,76$). En se limitant aux individus des sous-groupe O ($p=0,63$) et G ($p=0,99$), aucun effet n'est observé lorsqu'on compare le lot eCG et le lot 0 UI.

Dans les conditions de l'expérience, l'eCG n'a donc pas d'effet sur la variabilité du moment de l'ovulation, ni sur le moment d'apparition du pic de 17β -œstradiol.

IV. Effet de l'eCG sur la progestéronémie post-ovulatoire

La progestéronémie a été évaluée, pour chaque vache, cinq jours après l'ovulation observée à l'échographie. Chez quatre vaches, les valeurs étaient inférieures à 1 ng/mL, 5 jours après l'ovulation observée à l'échographie ; ceci traduit une régression lutéale précoce (Dorneles Tortorella *et al.*, 2013) : ces vaches ont été exclues des analyses statistiques concernant la progestéronémie post-ovulatoire.

Celle-ci est en moyenne de $2,1 \pm 1,0$ ng/mL. Les valeurs minimale et maximale mesurées sont respectivement de 1,0 ng/mL et 4,2 ng/mL. Les résultats obtenus ne présentent pas de différence significative entre les quatre lots ($p=0,85$; figure 35). Au sein des vaches gravides, les vaches traitées ont une progestéronémie de 3,1 ng/mL contre 2,3 ng/mL pour les vaches non traitées. Cette observation n'est pas confirmée par un test statistique ($p=0,19$; figure 36).

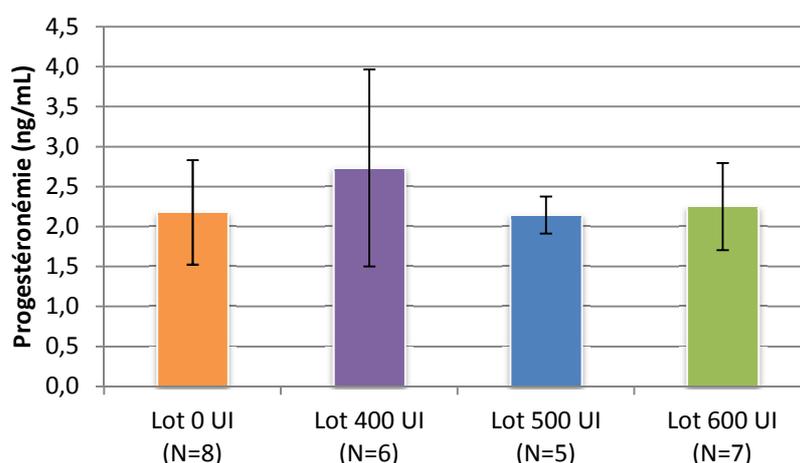


Figure 35 : Effet des traitements sur la progestéronémie 5 jours après l'ovulation chez les vaches ayant ovulé ($p=0,85$)

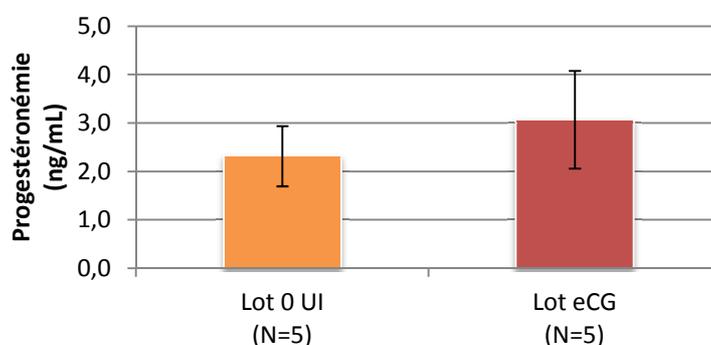


Figure 36 : Comparaison de la progestéronémie entre vaches traitées (lot eCG, N=5) et non traitées (lot 0 UI, N=5) chez les vaches gravides ($p=0,19$).

En revanche, parmi les vaches ayant ovulé (et sans lutéolyse précoce), la progestéronémie est significativement plus élevée chez les vaches gravides au terme des expériences que chez celles pour lesquelles l'insémination a échoué ($p=0,04$; figure 37). Elle atteint en moyenne $2,7 \pm 0,9$ ng/mL chez les vaches gravides contre $2,1 \pm 0,6$ ng/mL chez les autres.

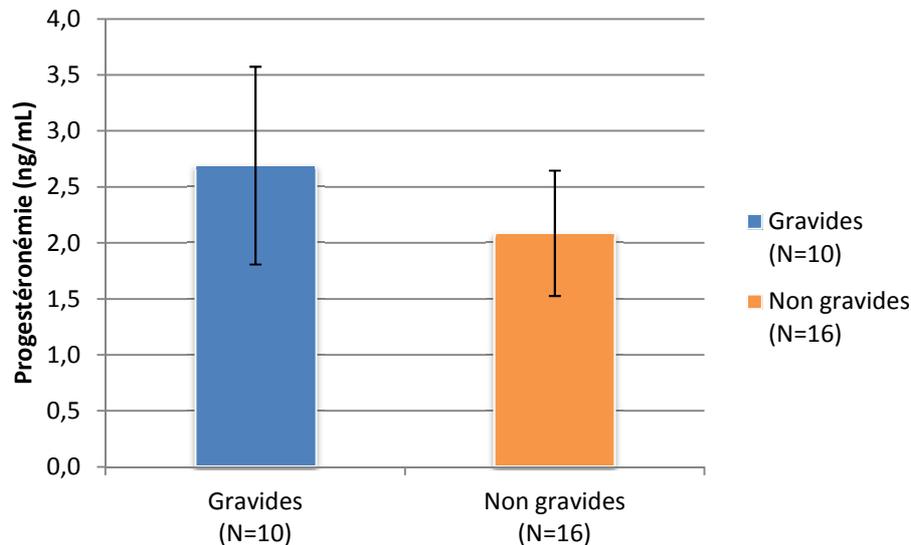


Figure 37 : Comparaison de la progestéronémie 5 jours après l'ovulation entre les vaches gravides et non gravides parmi les vaches ayant ovulé ($p=0,04$)

V. Effet de l'eCG sur le taux de gestation

Le taux de gestation au sein d'un groupe est défini comme le nombre de vaches gravides à 35 jours post-IA sur le nombre de vaches total du groupe. Au total, 10 vaches sur 38 étaient gravides 35 jours après l'IA, soit un taux de gestation moyen de 26,3%. Les taux de gestation étaient respectivement de 50%, 40%, 0% et 10% pour les lots 0 UI, 400 UI, 500 UI et 600 UI (figure 38A). Un effet significatif du lot est mis en évidence ($p=0,04$). Néanmoins, les comparaisons deux à deux avec le risque corrigé ne permettent pas de donner de résultat plus précis. La comparaison du lot témoin (lot 0 UI) avec les lots 500 UI et 600 UI regroupés montre un effet négatif significatif de l'eCG à ces doses ($p=0,01$). En fusionnant l'ensemble des données des vaches traitées (lot eCG), on obtient un taux de gestation moyen de 17,9% contre 50% sans eCG. L'eCG tend à diminuer le taux de gestation ($p=0,09$; figure 38B).

Si l'on s'intéresse au taux de gestation uniquement parmi les vaches ayant ovulé, les effets significatifs mis en évidence sont les mêmes en comparant les quatre lots ($p=0,04$; figure 39A) ou en comparant le lot 0 UI au lot eCG ($p=0,12$; figure 39B).

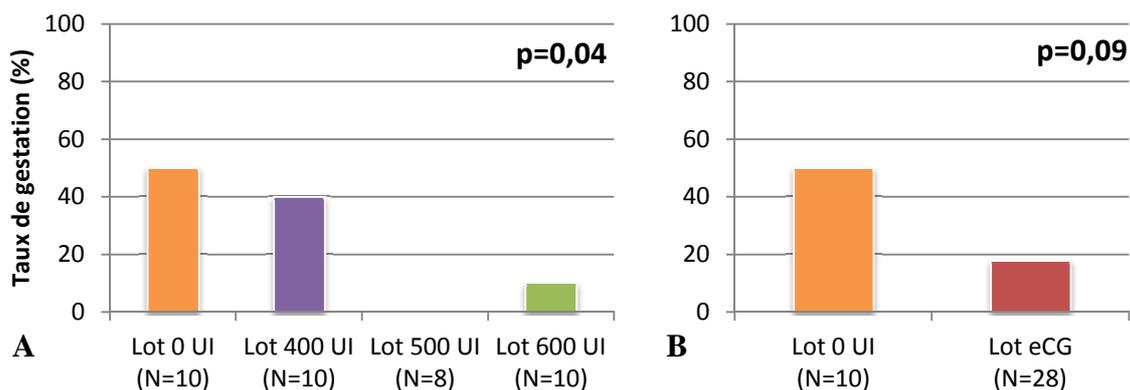


Figure 38 : Effets des traitements sur le taux de gestation pour l'ensemble des vaches.
 A : Comparaison des quatre lots, B : Comparaison du lot traité (lot eCG) et du lot témoin (lot 0 UI)

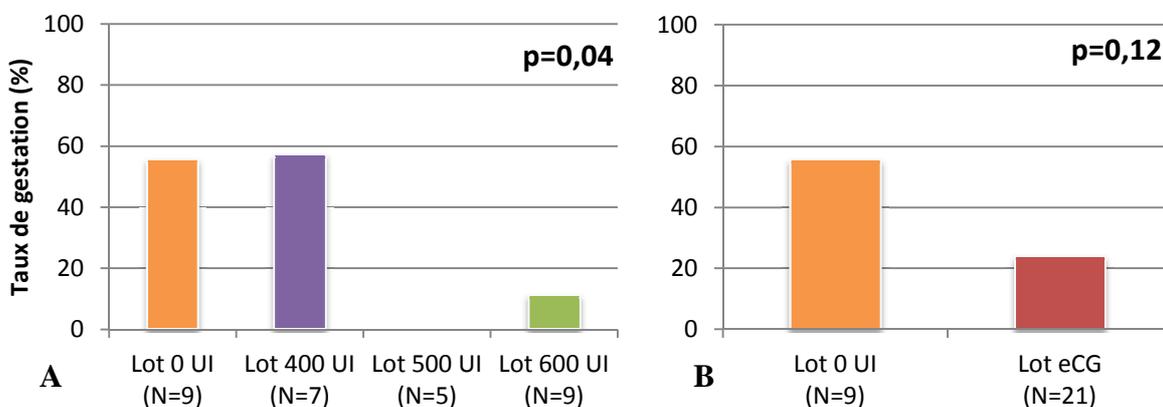


Figure 39 : Effets des traitements sur le taux de gestation parmi les vaches ayant ovulé.
 A : Comparaison des quatre lots, B : Comparaison du lot traité (lot eCG) et du lot témoin (lot 0 UI)

En conclusion, dans les conditions de l'expérience, l'eCG n'a eu aucun effet sur la variabilité du moment de l'ovulation ni sur le moment du pic d'œstradiol. L'emploi de l'eCG n'a également aucune action sur la taille du follicule ovulatoire, ni sur les concentrations sériques en 17β -œstradiol. Les vaches ayant reçu de l'eCG ont un taux d'ovulation non significativement différent de celui des vaches témoins avec une progestéronémie post-ovulatoire comparable entre les différents lots. En revanche, le taux de gestation est dégradé chez les vaches ayant reçu des doses d'eCG de 500 UI et 600 UI par rapport aux vaches témoins ($p=0,01$).

C- Discussion

I. Protocole expérimental

1. Animaux

- Uniformité de l'échantillon

Les animaux viennent tous du même élevage. Les différents facteurs de conduite de troupeau pouvant influencer la réponse au traitement sont donc les mêmes pour tous les animaux inclus dans l'étude. Cependant, le fait de choisir un seul élevage présente aussi des limites dans l'extrapolation des résultats. La littérature montre des réponses variables à l'eCG (tableau 5) et le facteur « élevage » peut influencer cette réponse. La taille des lots varie entre 8 et 10 animaux, ce qui représente un effectif faible. De plus, à l'intérieur des lots, les animaux sont assez différents entre eux. En effet, le nombre de jours post-partum varie de 60 à 462, ce qui traduit probablement la présence de vaches infertiles et de vaches à fertilité normale au sein de chacun des lots.

- Bâtiment

Au cours des expérimentations, le bâtiment des vaches laitières a subi des travaux importants pour passer d'un bâtiment avec aire paillée à une stabulation à logettes. Ces changements ont induit un stress important chez les vaches, qui ne se sont pas adaptées immédiatement aux logettes ; celles-ci ne s'y couchaient pas spontanément et par conséquent passaient plus de temps debout qu'habituellement. Or, le stress (reproduit expérimentalement par une injection d'ACTH, diminue la pulsativité de la LH, et de fait les concentrations plasmatiques en œstradiol. Cela empêche alors la survenue du pic de LH. Par conséquent, l'ovulation est très retardée, voire absente (Dobson *et al.*, 2008). Bien que toutes les vaches aient été soumises au même stress, les taux d'ovulation (62,5 à 90 %) et de gestation (10 à 50%) ont pu être détériorés par ce changement de bâtiment. De plus, on ne peut exclure que les vaches puissent présenter une sensibilité individuelle variable au stress.

- Alimentation

La note d'état corporel moyenne des vaches incluses est basse ($2,3 \pm 0,7$) pour un mois moyen de lactation de $6,7 \pm 3,5$. L'analyse de la ration avec le logiciel Larelev[®] (Enjalbert F, ENVIT, France) montre un léger déficit énergétique avec 0,89 UFL/kg de MS pour une recommandation supérieure à 0,92 UFL/kg. Ceci est confirmé par l'analyse des résultats du Contrôle Laitier ; environ 13% des vaches incluses ont un TB/TP supérieur à 1,4 tout

particulièrement en début de lactation, ce qui peut faire suspecter la présence de cétose subclinique. L'analyse de la ration montre également un déficit protéique avec 103 g de PDIE/kg de MS pour une recommandation à 110 g de PDI/kg de MS en ration complète chez un éleveur souhaitant exprimer le potentiel génétique de son troupeau. Le rapport PDIN/PDIE est cependant très élevée (excès de 350 g de PDIN par jour par rapport aux recommandations). Tout ceci peut être à l'origine d'une absence de fécondation de l'ovocyte, d'une diminution de l'activité ovarienne et d'une augmentation de la mortalité embryonnaire précoce (Weaver, 1987 ; Enjalbert, 2013).

- **Stade ovarien**

Les vaches ont été sélectionnées et incluses dans le protocole lorsqu'un follicule de diamètre supérieur à 1 cm était visible à l'échographie à J0. Au-dessus de 8-9 mm de diamètre, des récepteurs à LH sont présents dans la granulosa (Monniaux *et al.*, 2009). Ces récepteurs sont nécessaires à l'effet lutéinisant de la GnRH ou d'un analogue, injecté à J0. Pour augmenter la probabilité de présence d'un follicule dominant à J0, une présynchronisation à l'aide de deux injections de PGF2 α à 14 jours d'intervalle (Presynch), la seconde injection ayant lieu 10 ou 12 jours avant J0, aurait eu un intérêt. En effet, suite à un Presynch, entre 60 et 66% des vaches possèdent un follicule dominant capable d'ovuler en réponse à une injection de GnRH (Stevenson, 2011). Cependant, dans la pratique courante, afin de limiter les frais liés à l'utilisation des hormones, la présynchronisation par les prostaglandines F2 α est peu réalisée en Europe. C'est pourquoi, nous n'avons pas inclus de Presynch dans notre protocole expérimental afin de nous placer dans une situation proche de celles rencontrées en pratique.

2. Echographie

Les échographies ovariennes ont été réalisées quotidiennement à partir du retrait de l'implant CRESTAR SO[®]. Or, à trois reprises, deux opérateurs différents sont intervenus pour la mesure des follicules avec des différences de dextérité dans le maniement de la sonde échographique. Une seule personne pour réaliser les échographies aurait été préférable. Cependant, le partage du travail était nécessaire pour limiter la durée de stationnement des vaches au cornadis. A cela, il faut ajouter que les deux opérateurs travaillaient avec des échographes différents (Tringa Linear Vet[®] et MyLabOne[®]).

D'autre part, afin de caractériser le moment de l'ovulation de manière plus précise, il aurait été pertinent de réaliser les échographies deux fois par jour. Cependant, là encore, pour des raisons de bien-être animal et d'organisation de l'élevage, il n'aurait pas été possible d'augmenter la durée quotidienne de stationnement au cornadis.

Par ailleurs, d'après la littérature, les échographies répétées sur les vaches par voie transrectale n'ont pas d'effet sur le moment de l'ovulation, ni sur les concentrations en stéroïdes plasmatiques (Roelofs *et al.*, 2004).

3. Dosages hormonaux

Un seul prélèvement par jour est suffisant pour le dosage de la progestéronémie car celle-ci ne varie pas au cours de la journée (Hannan *et al.*, 2010). Concernant le 17β -œstradiol, sa concentration plasmatique décroît rapidement après le pic de LH, de 6 à 1 pg/mL en moins de 20h (Ginther *et al.*, 2013). Plusieurs prélèvements par jour auraient donc été souhaitables, mais non réalisables dans les conditions expérimentales.

De plus, pour compléter les résultats expérimentaux, il aurait été intéressant de doser la LH afin d'évaluer l'effet de l'eCG sur le pic pré-ovulatoire de LH. Cependant, cela aurait nécessité des prises de sang régulières toutes les 3 (Bloch *et al.*, 2006) ou 4h (Saumande et Humblot, 2005), ce qui était impossible en conditions d'élevage.

4. Choix du protocole et des doses d'eCG

Le protocole choisi pour les expériences est celui recommandé par MSD dans le résumé des caractéristiques du produit et classiquement utilisé lors de la mise en place de CRESTAR SO[®]. Les différentes publications sur l'eCG montrent que selon les pays et les systèmes d'élevage, cette molécule est utilisée de manière différente dans les protocoles de synchronisation des chaleurs (tableau 4). Le moment d'injection par rapport au retrait du dispositif progestatif est variable ainsi que la dose utilisée. Ainsi, il pourrait être intéressant de tester l'efficacité de l'eCG en l'injectant plus tôt dans le protocole. Son efficacité a été en partie démontrée lorsque l'eCG est injectée en même temps que les PGF2 α (Souza *et al.*, 2009a ; Sales *et al.*, 2011 ; Bryan *et al.*, 2013, tableaux 4 et 5). De plus, sur des vaches allaitantes en anœstrus, l'eCG est plus efficace sur le taux de gestation lorsqu'elle est injectée en même temps que les PGF2 α plutôt que 2 jours après (Dorneles Tortorella *et al.*, 2013, tableaux 4 et 5). Ceci serait imputable à une plus grande efficacité de l'injection précoce d'eCG sur la croissance et la taille du follicule dominant. En effet, elle permet d'augmenter la

production d'œstradiol par les cellules de la granulosa et le nombre de récepteurs à LH (Dorneles Tortorella *et al.*, 2013).

D'après les recommandations du laboratoire MSD, la dose de 300 UI doit être utilisée dans certaines configurations (figure 14). Cependant, le conditionnement de 300 UI n'existe pas et en pratique, cette dose n'est pas utilisée. C'est pourquoi le choix a été fait de comparer les trois conditionnements existants soit 400 UI, 500 UI et 600 UI avec un lot témoin traité uniquement au solvant. Des doses supérieures à 600 UI n'ont pas été testées ; elles auraient pu être responsables d'ovulations multiples non souhaitées chez les bovins. Les expériences de Bellows *et al.* (1972) mettent en évidence ce phénomène à partir de la dose de 800 UI. Cette publication est ancienne et la fréquence des doubles ovulations chez les vaches Holstein a augmenté ces dernières années (Lopez *et al.*, 2005). Il serait intéressant de réévaluer la dose minimale d'eCG à partir de laquelle le risque de double-ovulation augmente.

II. Résultats

1. Variabilité du moment de l'ovulation

La répartition des ovulations dans le temps montre que celles-ci ont eu lieu entre 0 à 120h après le retrait de l'implant. Plus de 50% des vaches ont ovulé entre 48 et 72h. Les études de Souza *et al.* (2009a) et Ferreira *et al.* (2013) se sont également intéressées à la répartition des ovulations après le retrait du dispositif progestagène. Dans ces deux publications, les durées moyennes de l'intervalle R-O sont respectivement de 67,5h et de 74,8h pour les lots traités à la dose de 400 UI contre $56h \pm 22,8$ dans notre expérience. Cependant, les protocoles expérimentaux ne sont pas identiques à celui utilisé ici puisqu'ils incluent, entre autres, du benzoate d'œstradiol en début de protocole et de la GnRH 48h après l'injection d'eCG (tableau 4). Dans l'étude de Walker *et al.* (1996) qui n'utilise pas de progestagène, des PGF2 α ont été injectées à des vaches après mise en évidence d'un corps jaune à l'échographie ; la durée de l'intervalle [PGF2 α – ovulation] est alors de 99,2h en moyenne, ce qui est comparable aux résultats obtenus ici. En effet 50% des vaches ont ovulé entre 96 et 120h après l'injection de PGF2 α .

De plus, dans les conditions de notre expérience, l'eCG ne permet pas de diminuer la variabilité du moment de l'ovulation de manière significative quelle que soit la dose utilisée. Ce résultat est également cohérent avec les données précédemment publiées (Souza *et al.*, 2009a ; Ferreira *et al.*, 2013) pour lesquelles aucun effet de l'eCG sur la répartition des ovulations au cours du temps n'a été mis en évidence.

2. Variabilité dans le temps du pic de 17 β -œstradiol

Dans les quatre lots, le pic de 17 β -œstradiol intervient entre 0 et 72h après le retrait de l'implant et près de 50 % des vaches ont un pic de 17 β -œstradiol à J10, soit 24h après le retrait du progestagène. Ces résultats sont en accord avec ceux présentés dans la littérature. En effet, dans l'étude de Bloch *et al.* (2006), le pic de 17 β -œstradiol intervient en moyenne entre 24 et 29h après le retrait du dispositif progestatif. L'eCG n'a pas d'effet significatif sur l'apparition du pic de 17 β -œstradiol à un moment donné.

3. Diamètre du follicule dominant

Le diamètre moyen du follicule dominant le jour du retrait de l'implant, soit 48h après l'injection de cloprosténol, est de 14,8 mm \pm 0,34. Ces résultats sont en accord avec ceux déjà obtenus sur des vaches laitières (Souza *et al.*, 2009a ; Ferreira *et al.*, 2013 ; Pulley *et al.*, 2013). Dans ces trois publications, 48h après l'injection de PGF2 α (\pm eCG), le diamètre du follicule dominant varie de 13,6 à 15,3 mm.

Ensuite, au cours de nos expériences, dans les jours suivant l'injection d'eCG, aucune différence significative n'a été mise en évidence concernant la croissance folliculaire en comparant les quatre lots. En revanche, 96h après l'injection d'eCG, parmi les vaches n'ayant pas encore ovulé, celles du lot 0 UI ont, en moyenne, un follicule dominant de plus petit diamètre que celles du lot eCG (11,8 mm \pm 1,1 contre 19,6 mm \pm 3,6 ; p=0,02). Cependant, cette observation peut être biaisée par le taux d'ovulation. En effet, celui-ci est plus élevé dans le lot 0 UI que dans le lot eCG, et l'absence d'ovulation conduit à une augmentation de la taille du follicule dominant (figure 22) ; ce dernier continue à grossir jusqu'au pic de LH. Par ailleurs, aucun effet de l'eCG sur la taille du follicule dominant chez la vache laitière n'est rapporté dans la littérature.

Il semblerait que l'effet FSH de l'eCG soit plus important chez les vaches allaitantes ; sur ces dernières un effet positif de l'eCG a été décrit sur la croissance folliculaire pré-ovulatoire (Sales *et al.*, 2011 ; Dorneles Tortorella *et al.*, 2013). A la dose de 300 UI le jour du retrait de l'implant et de l'injection des PGF2 α , l'eCG augmente la vitesse de croissance folliculaire dans les 48h suivant son injection (1,4 mm/jour \pm 0,1 contre 0,9 mm/jour \pm 0,1 pour le lot témoin). Ceci est associé à un diamètre significativement plus important du follicule dominant le jour de l'IA (13,9 mm \pm 0,2 contre 12,9 mm \pm 0,3 pour le lot témoin ; Sales *et al.*, 2011 ; tableaux 4 et 5). La publication de Dorneles Tortorella *et al.* (2013) présente un effet significatif de l'eCG lorsqu'il est injecté en même temps que les PGF2 α , sur la taille du follicule dominant, 72h après son injection (10 mm \pm 0,4 pour le lot traité contre

8,5 mm \pm 0,4 pour le lot témoin). Il serait intéressant de mesurer l'effet de l'eCG sur le diamètre du follicule dominant chez des génisses Holstein ou des vaches Holstein hors lactation. En effet, cela pourrait permettre d'évaluer si la production laitière est capable de modifier ou d'interférer sur la sensibilité à l'eCG.

4. Diamètre du follicule ovulatoire

Le diamètre moyen du follicule ovulatoire mesuré dans les 24h précédant l'ovulation est de 17,5 mm \pm 2,5, avec un minimum à 12 mm et un maximum à 22 mm, pour l'ensemble des lots. Cette taille correspond à celle décrite dans la littérature : le diamètre du follicule ovulatoire est compris chez la vache entre 13 et 19 mm (Ginther *et al.*, 1989 ; Bleach *et al.*, 2004). Avec l'utilisation d'un CRESTAR[®] classique (norgestomet + valérate d'œstradiol), Saumande et Humblot (2005) ont observé des tailles de follicules ovulatoires pouvant varier entre 10,5 et 18,5 mm chez des génisses de race laitière. Ferreira *et al.* (2013) ont enregistré des diamètres variants de 13,9 mm \pm 1,2 à 14,6 mm \pm 0,9 lors d'un protocole de synchronisation à base de progestagène (tableau 4).

Ce diamètre moyen n'est pas significativement différent entre les lots traités à l'eCG et les lots non traités et ce, quelle que soit la dose utilisée. Ce résultat est en accord avec les données publiées par Ferreira *et al.* (2013).

5. Taux d'ovulation

Le taux d'ovulation moyen des lots traités est de 75%, celui du lot témoin est de 90%, avec un taux de cyclicité initial de 71% pour l'ensemble des vaches incluses dans l'étude. Dans l'étude de Saumande et Humblot (2005) qui utilise l'ancien protocole CRESTAR[®] (avec une injection de valérate d'œstradiol au moment de la pose de l'implant) sans eCG, le taux d'ovulation sur 35 vaches était de 94,2%, avec une cyclicité préalable au traitement de synchronisation non déterminée. En revanche, Rutigliano *et al.* (2008) obtiennent un taux d'ovulation de 73,2% (N=252 vaches) pour un taux de cyclicité de 78,2% au cours d'un protocole incluant un progestagène durant 7 jours associé à une injection de PGF2 α au moment du retrait de l'implant. Il semblerait donc que le stress lié au changement de bâtiment dans notre expérience n'ait pas eu d'effet majeur sur le pic de LH puisque les taux d'ovulation des différents lots sont cohérents avec ceux présentés dans la littérature.

Aucun effet significatif de l'eCG n'a été mis en évidence sur le taux d'ovulation dans notre étude, ce qui est en accord avec les données bibliographiques sur les vaches laitières (tableau 5). Seule l'étude de Sales *et al.* (2011) sur des vaches allaitantes en anœstrus avait

montré un effet positif de l'eCG sur le taux d'ovulation. Le taux d'ovulation des vaches ayant reçu de l'eCG (N=123) était alors de 88,6% contre 71,6% pour les vaches témoins (N=134).

Le taux de double ovulation obtenu est en moyenne de 31,3% et n'est pas modifié par la dose d'eCG, y compris aux doses les plus élevées de 500 et 600 UI. Ce taux est légèrement supérieur au taux généralement obtenu chez la vache laitière en œstrus spontané qui se situe entre 15,5% (Lopez-Gatius *et al.*, 2005) et 26,8% (Lopez-Gatius *et al.*, 2002).

6. Taux de gestation

Dans notre étude, la dose d'eCG a eu un effet significatif sur le taux de gestation. En effet, les taux de réussite à la première IA des lots 0 UI et 400 UI, respectivement de 50% et de 40 %, sont supérieurs à ceux des lots 500 UI et 600 UI, respectivement de 0% et de 10%. Les résultats moyens de l'élevage disponibles dans le logiciel VET'ELEVAGE[®] indiquent un taux de réussite à la première IA de 29,2% sur l'année précédant les expériences (01/04/2011 au 01/04/2012). Ainsi, le protocole de synchronisation des chaleurs CRESTAR SO[®] semble avoir un effet bénéfique sur la réussite à l'IA lorsqu'il est utilisé sans eCG ou avec une dose d'eCG de 400 UI.

Nos résultats sont cohérents avec ceux obtenus en 2007. Ils indiquent un taux de gestation de 35,9% chez la vache Holstein synchronisée à l'aide de CRESTAR SO[®] associée à l'injection de 400 UI d'eCG (Chicoineau, 2007). En revanche, l'injection de 500 UI ou de 600 UI d'eCG au moment du retrait de l'implant de norgestomet paraît avoir un effet négatif sur le succès de l'IA. Des doses trop élevées d'eCG pourraient altérer la fonction lutéale. En effet, une expérience sur des génisses receveuses d'embryon synchronisées avec un traitement progestagène, avait montré un effet négatif de l'eCG sur le taux de gestation aux doses les plus élevées (400 UI et 600 UI). L'hypothèse avancée par les auteurs est qu'une progestéronémie trop élevée, consécutive à l'effet LH de l'eCG, aurait un effet défavorable sur le taux de gestation (Nogueira *et al.*, 2004). Il est important de noter que la dose d'eCG recommandée par MSD (figure 14) pour les vaches laitières de race Holstein est de 400 UI.

Néanmoins, d'autres auteurs ont montré une amélioration du taux de réussite à l'IA avec l'eCG dans des protocoles de synchronisation des chaleurs avec un dispositif progestagène. Chez la vache laitière, les premières expériences datent des années 80 avec un protocole hormonal proche de celui utilisé ici auquel se rajoute une injection de 5 mg de valérate d'œstradiol au moment de la pose de l'implant. Le taux de gestation obtenu alors était de 65,4% avec l'emploi de 500 UI d'eCG au moment du retrait de l'implant contre 59,6%

sans eCG (Aguer, 1981). Souza *et al.* (2009a) et Bryan *et al.* (2013) ont également mis en évidence un effet positif de l'eCG utilisée à la dose de 400 UI sur des vaches laitières. Dans les travaux de Souza *et al.* (2009a), le taux de gestation du lot traité à l'eCG est de 33,8% alors qu'il est de 28,9% dans le lot témoin. Les expériences de Bryan *et al.* (2013) ont porté uniquement sur des vaches en anœstrus. 400 UI d'eCG après sept jours d'implant progestatif ont permis d'améliorer la réussite des IA réalisées dans les 7 jours suivant la fin du protocole (36,0% pour les vaches traitées à l'eCG contre 30,6% pour les vaches témoins).

Une des différences entre les expériences précédentes et celle réalisée ici concerne le moment d'injection des PGF2 α . En effet, dans le protocole CRESTAR SO[®] classique, les prostaglandines sont injectées deux jours avant le retrait de l'implant et l'injection d'eCG. Dans les protocoles présentés par Souza *et al.* (2009a) et Bryan *et al.* (2013), l'injection de PGF2 α est simultanée au retrait de l'implant progestatif et à l'injection d'eCG. Ainsi il pourrait être intéressant de tester un protocole CRESTAR SO[®] remanié en avançant l'injection d'eCG de 48 heures. L'administration d'eCG dans le protocole CRESTAR SO[®] a lieu environ 48 à 72h avant l'ovulation. Or, l'eCG stimule la production d'œstrogènes via les cellules de la granulosa. L'augmentation de la production d'œstrogènes induites par l'eCG semble être reliée à une augmentation des récepteurs à LH nécessaires à l'ovulation et à la mise en place d'un corps jaune (Dorneles Tortorella *et al.*, 2013). L'administration plus précoce d'eCG pourrait permettre un effet plus efficace sur la sécrétion des œstrogènes, sur la croissance folliculaire et par conséquent sur la qualité de l'ovocyte et du corps jaune. Toutefois, l'utilisation d'un protocole modifié nécessiterait de préciser le moment des ovulations. D'une part pour vérifier la probable précocité du moment de l'ovulation par rapport à un CRESTAR SO[®] classique et d'autre part pour contrôler le nombre de doubles ovulations. En effet, l'injection d'eCG avant la présence d'un follicule dominant de taille supérieure à 10 mm pourrait induire le recrutement de plusieurs follicules.

On pourrait également décaler l'administration des PGF2 α pour retarder la chute de progestéronémie de 12 à 24h, et permettre ainsi un développement plus important du follicule dominant. Ceci pourrait entraîner l'obtention d'un plus gros corps jaune, et donc une progestéronémie post-ovulatoire plus élevée mais allongerait la durée de la dominance, ce qui pourrait avoir un effet néfaste sur la qualité de l'ovocyte (Austin *et al.*, 1999).

Cependant, aux doses de 400 UI (Pulley *et al.*, 2013 ; Ferreira *et al.* 2013) et 600 UI (Ferreira *et al.* 2013), on note une absence d'effet de l'eCG injectée simultanément aux PGF2 α sur le taux de gestation chez la vache laitière avec des effectifs respectifs de 68 et 145 pour les lots traités à l'eCG et 59 et 166 pour les lots témoins.

Par ailleurs, Sales *et al.*, (2011) ont démontré l'efficacité de l'eCG administrée simultanément aux PGF2 α le jour du retrait du dispositif progestatif sur des vaches allaitantes en anœstrus, le taux de gestation obtenu est alors de 62,3% pour le lot traité (150 vaches) à l'eCG contre 43,9% pour le lot témoin (153 vaches).

Il serait également intéressant de réaliser une étude à grande échelle qui comparerait deux protocoles CRESTAR SO[®], un utilisant 400 UI d'eCG au moment du retrait de l'implant, et l'autre sans eCG. On investiguerait ainsi sur la variabilité des effets observés et on conclurait sur l'intérêt de l'eCG lui-même, en distinguant les indications synchronisation des chaleurs et induction de l'ovulation.

7. Concentrations hormonales

- 17 β -œstradiol

Une récente synthèse de Martin *et al.* (2013) présente l'évolution temporelle des valeurs usuelles en 17 β -œstradiol chez la vache (figure 40). Concernant la cinétique du 17 β -œstradiol, dans notre étude, la comparaison des différents lots ne montre pas d'effet majeur de l'eCG. Toutefois, il semblerait qu'à J11, soit le jour de l'ovulation pour la majorité des individus, les vaches non traitées aient une concentration sérique plus basse que les autres. Ceci peut probablement s'expliquer par la longue demi-vie de l'eCG qui persiste dans le plasma 4 à 6 jours après l'injection. On peut supposer que par son effet FSH, l'eCG continue à stimuler des follicules qui sont eux-mêmes responsables de la production de 17 β -œstradiol.

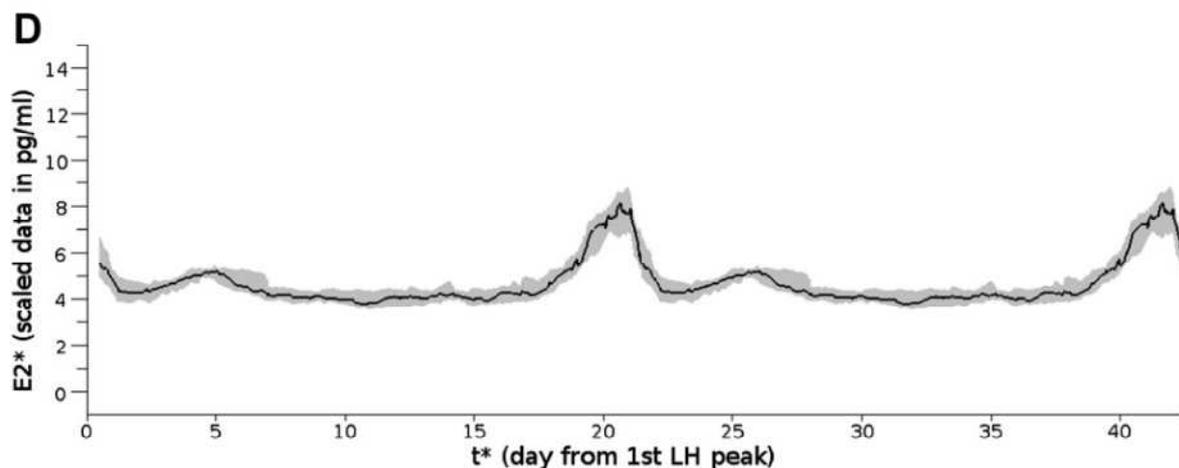


Figure 40 : Concentration plasmatique en 17 β -œstradiol au cours d'un cycle œstral chez la vache. D'après Martin *et al.*, 2013.

De plus, la concentration plasmatique en 17 β -œstradiol au moment du pic pré-ovulatoire est de l'ordre de 8 pg/mL d'après la synthèse de 33 publications (Martin *et al.*,

2013 ; figure 39). Les concentrations obtenues dans notre étude sont plus élevées et varient de 8,2 à 23,6 pg/mL au moment du pic. Chez les vaches gravides au terme des expériences, la concentration sérique en 17 β -œstradiol au moment du pic atteint même une moyenne de 17,7 pg/mL \pm 2,6. Cette différence importante entre les données bibliographiques et les résultats obtenus est probablement due à la technique de dosage du 17 β -œstradiol. Les données bibliographiques présentent des concentrations plasmatiques alors que les dosages de notre étude ont été réalisés sur du sérum. De plus, en fonction des publications, les concentrations au moment du pic de 17 β -œstradiol sont très variables, de 1,5 pg/mL (Cummins *et al.*, 2012) à 13,3 pg/mL (Endo *et al.*, 2012). La grande variabilité des concentrations peut également s'expliquer par le fait que le taux d'œstrogènes varie en fonction du métabolisme de l'animal ; la concentration plasmatiques en œstrogènes diminue notamment chez les vaches laitières hautes productrices (Wiltbank *et al.*, 2011) ou lorsque la vache est atteinte d'endométrite (Sheldon et Dobson, 2004). Dans ce dernier cas de figure, la diminution de la concentration est due à une plus faible taille du follicule dominant, or dans notre étude, la taille du follicule dominant était comparable à celle présentée dans la littérature. De plus, les vaches avaient des niveaux de production raisonnables (moyenne de 32,4 kg/jour de lait produit), ce qui n'explique pas une telle supériorité des concentrations obtenues.

Pour terminer, on observe une tendance à une plus forte concentration en 17 β -œstradiol au moment du pic chez les vaches gravides (17,7 pg/mL \pm 2,6) par rapport aux vaches finalement non gravides (15,2 pg/mL \pm 4,3) au terme des expériences. Ceci confirme l'amélioration du taux de gestation lorsque la croissance folliculaire est maîtrisée.

- Progestéronémie post-ovulatoire

Cinq jours après l'ovulation, la progestéronémie n'est pas significativement différente entre les lots ayant reçu de l'eCG et le lot témoin. Elle est en moyenne de 2,2 ng/mL \pm 0,7 dans le lot témoin et de 2,4 ng/mL \pm 0,8 dans le lot eCG pour les vaches ayant ovulé. Les valeurs obtenues cinq jours après l'ovulation sont comparables à celles présentées dans la bibliographie qui varient entre 1 et 3 ng/mL (Morris et Diskin, 2008 ; Martin *et al.*, 2013 ; figure 4). Il aurait été intéressant de poursuivre l'évaluation des concentrations de progestérone dans le temps au moins jusqu'à 15 jours post-ovulation. En effet, bien qu'elles ne soient pas significatives, il semblerait que les différences entre les lots traités à l'eCG et les lots témoins soient plus importantes au-delà de 10 jours post-ovulation (Souza *et al.*, 2009a ; Dorneles Torterella *et al.*, 2013 ; Ferreira *et al.*, 2013). Cependant, seule la progestéronémie précoce (entre J5 et J7) a un impact sur le développement et la survie de l'embryon (Diskin *et*

al., 2011). Nos résultats montrent que les vaches gravides à l'œstrus induit avaient une progestéronémie cinq jours après l'ovulation significativement supérieure à celles non gravides ($2,69 \text{ ng/mL} \pm 0,88$ contre $2,09 \text{ ng/mL} \pm 0,56$; figure 35).

III. Perspectives

La variabilité du moment de l'ovulation, le diamètre du follicule ovulatoire et la progestéronémie post-ovulatoire sont les paramètres principaux évalués après la mise en œuvre d'un protocole de synchronisation des chaleurs à base de norgestomet. L'emploi de l'eCG n'a eu aucun effet sur ces paramètres. Ainsi, si cette molécule ne répond pas entièrement à la problématique posée (amélioration du taux d'ovulation et réduction de la variabilité du moment de l'ovulation nécessaires pour augmenter le taux de gestation), et dans l'attente d'études à plus grande échelle, d'autres options pourraient être proposées pour améliorer la fertilité à l'œstrus induit.

1. Utilisation de l'hCG et de la GnRH pour la synchronisation du moment de l'ovulation

Lors d'un protocole CRESTAR SO[®], même si la majorité des vaches ovule dans les 48 à 72h suivant le retrait de l'implant, il serait intéressant de réduire la variation de l'intervalle R-O afin de maximiser le taux de réussite à l'IA. En effet, l'insémination est réalisée à temps fixe, 48 heures après le retrait de l'implant. Or, les meilleurs taux de gestation sont obtenus lorsque l'insémination a lieu dans les 16 heures précédant l'ovulation (Hockey *et al.*, 2010). Une insémination trop précoce, entre 25 et 40 heures avant l'ovulation, donne de moins bons résultats (Bloch *et al.*, 2006).

La folliculogenèse terminale ne peut avoir lieu en l'absence de FSH et le follicule terminal acquiert des récepteurs à LH à partir d'une taille de 9 mm (Monniaux *et al.*, 2009). L'apparition de ces récepteurs signifie que le follicule est capable de se lutéiniser et éventuellement d'expulser son ovocyte. Pour cela, le complexe cumulo-ovocytaire doit répondre à la LH et se mucifier. Afin d'induire l'ovulation sur une courte période, puisque l'eCG semble montrer des résultats inconstants, l'investigation de d'autres molécules à effet LH pourrait être intéressante, telles que l'hCG ou la GnRH.

L'hCG est l'équivalent chez l'humain de l'eCG ; elle est produite durant la grossesse et éliminée par voie urinaire. Elle agit chez la vache en se fixant sur les récepteurs à LH,

permet une ovulation 28h après l'injection (Monniaux *et al.*, 2009) et a une demi-vie de 30h. Elle est disponible dans une spécialité en France (CHORULON[®], MSD).

La GnRH est un décapeptide facilement synthétisable chimiquement qui a une durée de vie de quelques minutes. Il en existe plusieurs agonistes dans lesquels le remplacement d'un ou plusieurs acides aminés permet l'augmentation de la demi-vie par rapport à celle de l'hormone naturelle (Caraty *et al.*, 2001). Plusieurs analogues sont disponibles et ont obtenus une AMM chez la vache en France : la gonadoreline, un produit de synthèse, mais chimiquement identique à l'hormone naturelle (ACEGON[®], Zoétis ; CYSTORELINE[®], CEVA ; FERTAGYL[®], MSD), la léciréline (REPRORELIN[®], Vétoquinol), et la buséreléline (RECEPTAL[®], MSD ; BUSOL[®], Biové). L'injection de buséreléline entraîne une augmentation des concentrations sanguines en LH pour une durée de 5h environ (De Rensis *et al.*, 2010). Le pic de LH est atteint entre 30 min et 3h après l'injection selon l'agoniste de la GnRH utilisé (Souza *et al.*, 2009b ; Merle *et al.*, 2013). La principale différence entre la buséreléline, la léciréline et la gonadoreline concerne le pic de LH ; la gonadoreline induit un pic de LH d'amplitude significativement inférieure à ceux induits par la buséreléline et la léciréline (Merle *et al.*, 2013).

Les efficacités de la GnRH et de l'hCG ont été comparées. Chez des génisses Holstein présynchronisées par les PGF2 α , l'ensemble des animaux a ovulé dans les 24 à 48 heures sans différence significative observée entre les deux traitements. Cependant, l'absence de lot témoin ne permet pas d'évaluer l'efficacité intrinsèque de l'hCG et de la GnRH (Aslan *et al.*, 2011). L'hCG a également montré son efficacité dans la synchronisation et l'induction de l'ovulation dans des protocoles de type Ovsynch (GnRH à J0, PGF2 α à J7, GnRH à J9, IA à J10). Après le remplacement de la seconde GnRH par de l'hCG, les taux de gestation restent identiques. Il semblerait que l'injection simultanée de benzoate d'œstradiol et d'hCG (entre 250 et 750 UI), 12 heures après un traitement à base de PGF2 α chez des vaches avec un corps jaune mature, permette de raccourcir la durée moyenne d'apparition de l'œstrus et augmente la précision de la synchronisation de l'ovulation (Lopez-Gatius *et al.*, 1989, 2000). Lors de ce protocole, les œstrus sont apparus entre 30 et 40h après l'injection de PGF2 α , ce qui correspond au délai observé lors de protocoles Ovsynch. Cependant, le benzoate d'œstradiol est interdit en France depuis 2006 (directive européenne 2003/74/CE).

Ainsi, l'efficacité de la GnRH et de l'hCG semblent identiques pour induire l'ovulation. Cependant, l'hCG agit directement sur l'ovaire alors que la GnRH stimule l'hypophyse. Cette différence prend de l'importance dans les cas où la production de LH

endogène pourrait être insuffisante, par exemple en cas de déficit énergétique, lors d'un processus infectieux ou en cas de boiterie (Walsh *et al.*, 2011).

Des précautions sont tout de même à prendre avec l'emploi de l'hCG car, tout comme pour l'eCG, cette molécule de haut poids moléculaire peut induire des réactions immunogènes suite à une utilisation répétée chez les bovins (Giordano *et al.*, 2012). A titre d'exemple, chez le chat, il est conseillé d'attendre au moins 4 mois entre deux injections successives d'hCG (Swanson *et al.*, 1996). Chez la jument, des anticorps anti-hCG ont également été mis en évidence et peuvent persister plusieurs mois. Néanmoins, les juments possédant des anticorps anti-hCG restent capables d'ovuler (Roser *et al.*, 1979).

Par ailleurs, le prix de ces hormones est plus élevé que celui de l'eCG. En effet, une administration de 10µg de buséréline (RECEPTAL[®], MSD) revient à environ à 10,7€ HT (Catalogue Centravet, 2013) et une administration d'hCG à la dose de 1500 UI (CHORULON[®], MSD) coûte environ 12€ HT.

2. Utilisation d'œstrogènes et de FSH pour stimuler la croissance folliculaire

Il existe une corrélation entre la taille du follicule ovulatoire et la taille du corps jaune mis en place suite à l'ovulation (Vasconcelos *et al.*, 2001), et par conséquent la progestéronémie post-ovulatoire (Santos *et al.*, 2001). C'est pourquoi l'obtention d'un follicule ovulatoire de taille suffisante est un élément clé pour améliorer la survie ultérieure de l'embryon. De plus, stimuler la croissance folliculaire pourrait aussi permettre de mieux contrôler le moment de l'ovulation.

Les œstrogènes ont une efficacité démontrée sur la synchronisation de la croissance folliculaire (Diskin *et al.*, 2002) mais ils ne sont plus autorisés dans l'Union Européenne depuis 2006. Avant cette date, ils étaient classiquement utilisés au début des protocoles à base de progestagènes. Ils ont été remplacés depuis par de la GnRH dans le protocole CRESTAR SO[®] et les taux de gestation n'ont pas été altérés par ce changement (Beffara, 2007 ; Chicoineau, 2007 ; Picard-Hagen *et al.*, 2008). Notons que dans les protocoles PRID[®] (CEVA) et CIDR[®] (Zoétis), le benzoate d'œstradiol qui permettait de contrôler les vagues folliculaires n'a pas été substitué.

La FSH est classiquement utilisée dans les techniques de superovulation mais son utilisation a également été envisagée au cours de protocoles à base de progestagènes. Cependant, Sales *et al.* (2011) n'ont démontré aucun effet de cette gonadotropine lorsqu'elle est injectée simultanément aux PGF2α chez des vaches allaitantes en anœstrus. Friedman *et al.* (2010) ont indiqué que l'administration de faibles doses de FSH lors de l'émergence d'une

vague folliculaire au cours d'un cycle œstral pourrait avoir un effet bénéfique sur la follicule ovulatoire et sur la qualité de l'ovocyte. En effet, bien que les follicules soient plus sensibles à la LH après le processus de déviation, des récepteurs à la FSH sont aussi présents sur les follicules dominants supérieurs à 10 mm (Hampton *et al.*, 2004).

Les spécialités ayant une AMM en France pour l'induction de la superovulation (PLUSETND, Qalian ; STIMUFOLND, Reprobiol ; FOLLTROPINND, Bioniche) contiennent généralement de la LH et de la FSH porcines. Une administration de ces spécialités à des doses quatre fois plus faibles (Friedman *et al.*, 2010) que celles utilisées lors de superovulation pourrait également avoir un intérêt dans le soutien de la croissance folliculaire et dans l'induction de l'ovulation. Cependant, la demi-vie des hormones contenues dans ces produits est très courte et leur prix est élevé. Il faut compter environ 22 euros pour une injection de PLUSETND à un quart de la dose indiquée pour la superovulation.

3. Effets sur la progestéronémie post-ovulatoire

L'hCG peut augmenter la progestéronémie selon deux mécanismes. D'une part, elle a un effet direct sur le corps jaune principal et d'autre part, elle induit la formation de corps jaunes secondaires. L'injection d'hCG au moment de l'IA augmente la progestéronémie post-ovulatoire pendant deux à trois semaines (De Rensis *et al.*, 2010).

La GnRH exerce des effets similaires. Cependant le corps jaune formé après une ovulation induite par la GnRH n'est pas pleinement fonctionnel. Ainsi, les concentrations plasmatiques en progestérone sont supérieures après une ovulation induite à l'hCG par rapport à une ovulation induite par la GnRH. En effet, lors d'un protocole Ovsynch remanié (GnRH à J0, PGF2 α à J7, hCG à J9, IA à J10), la progestéronémie mesurée à J3, J6 et J9 post-IA est supérieure à celle mesurée lors d'un protocole Ovsynch classique avec deux GnRH (De Rensis *et al.*, 2008 ; figure 41).

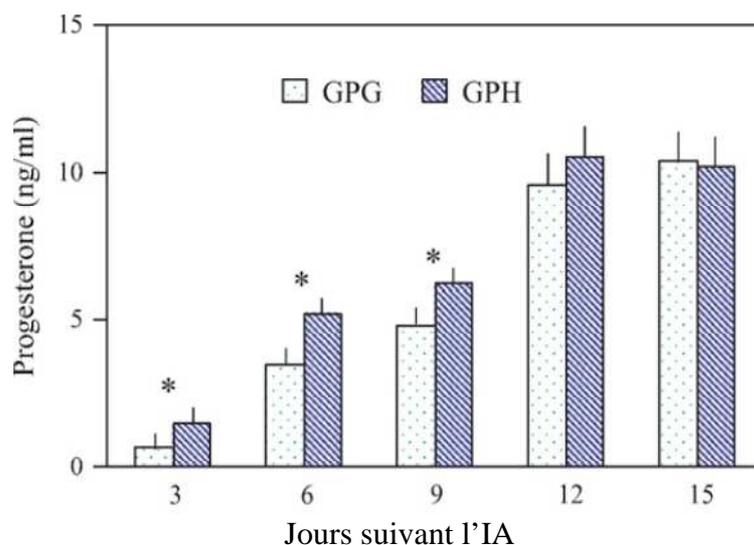


Figure 41 : Progestéronémie dans les jours suivant l'IA. Comparaison entre un protocole Ovsynch classique (GPG) et un protocole Ovsynch remanié où la seconde injection de GnRH est remplacée par de l'hCG (GPH) à la dose de 3300 UI. * = différence significative. D'après De Rensis *et al.*, 2008.

4. Et dans l'avenir ?

Chez l'Homme, l'hMG (human Menopausal Gonadotropin) est utilisée dans le traitement de l'infertilité. Les premières investigations chez les bovins datent de 1982 et concernent son utilisation dans les protocoles de superovulation à la dose de 600 UI (Lauria *et al.*, 1982). Cette hormone a une forte action FSH et un effet LH plus faible selon un rapport 2/1 (Sugano *et al.*, 2001). Il pourrait être intéressant de la tester dans des protocoles de synchronisation des chaleurs à des doses plus faibles que celles utilisées lors de la superovulation, selon le même principe que l'emploi de l'eCG. Cependant, le coût important de cette hormone limite son développement chez les bovins. En partant du principe que la dose nécessaire à l'ovulation est cinq fois plus faible que celle nécessaire à la superovulation, le coût de 120 UI d'hMG injectable (MENOPUR 75 UI[®]) revient à environ 180 euros (Vidal, 2014).

Plus récemment, le peptide KISS-1 ou kisspeptide a été découvert et identifié comme étant un acteur majeur dans le mécanisme de rétrocontrôle des stéroïdes sur la libération de GnRH (Monniaux *et al.* 2009). Ce peptide paraît avoir un effet LH bien supérieur à son effet FSH (Okamura *et al.*, 2013). Chez la brebis, en saison de reproduction, l'injection de cette molécule après le retrait d'un implant progestatif permet de déclencher l'ovulation dans les deux heures (Caraty *et al.*, 2007). Néanmoins, des résultats similaires ne sont pas retrouvés chez la jument où l'induction de l'ovulation n'est pas permise par le kisspeptide (Caraty *et al.*,

2012). L'emploi de kisspeptide pourrait être un nouvel outil dans la maîtrise de la reproduction chez les animaux domestiques. Cependant, aucune étude n'a encore été réalisée concernant l'induction de l'ovulation chez les bovins. De plus, le kisspeptide a une durée d'action très rapide, son utilisation dans le cadre de la recherche se fait sous forme de perfusion. Une utilisation « terrain » nécessiterait la création d'une formulation longue action, ou la mise au point d'un agoniste sur le même modèle que les agonistes de la GnRH. Cette thématique est actuellement un domaine de recherche important, notamment pour l'industrie pharmaceutique (Driancourt, 2014).

CONCLUSION

Dans les conditions terrain de notre expérience, l'intérêt de l'eCG n'a pas été démontré dans le cadre d'un protocole CRESTAR SO[®]. Notre étude n'a montré aucun effet de la choriogonadotrophine équine sur la variabilité du moment de l'ovulation, sur le diamètre du follicule ovulatoire ainsi que sur la progestéronémie post-ovulatoire. Il semblerait même que les concentrations de 500 UI et 600 UI ne soient pas adaptées aux vaches laitières en lactation. En revanche, le taux de réussite à l'IA obtenu dans les lots 0 UI et 400 UI est supérieur au taux moyen de l'élevage, ce qui suggère une plus grande efficacité du protocole CRESTAR SO[®] par rapport à l'insémination sur chaleurs spontanées. Il serait intéressant de quantifier économiquement le prix d'un protocole CRESTAR SO[®] par rapport à la perte engendrée pour l'éleveur par les IA non fécondantes et par conséquent par l'augmentation de l'intervalle vêlage – vêlage.

La réalisation d'une étude à grande échelle comparant deux protocoles CRESTAR SO[®] est prévue (l'un utilisant 400 UI d'eCG au moment du retrait de l'implant, et l'autre n'utilisant pas d'eCG) pour évaluer la variabilité des effets observés et conclure sur l'intérêt de l'eCG elle-même. Même si l'efficacité de l'eCG est finalement avérée, il resterait intéressant de comparer les efficacités relatives de l'eCG, l'hCG et de la GnRH. En effet, la GnRH est une molécule plus polyvalente que les deux choriogonadotropines et de production industrielle plus simple. Si la GnRH se révélait au moins aussi efficace que l'eCG ou l'hCG dans les protocoles d'induction et de synchronisation des chaleurs chez la vache, la production et la commercialisation de ces deux dernières pourraient être arrêtées.

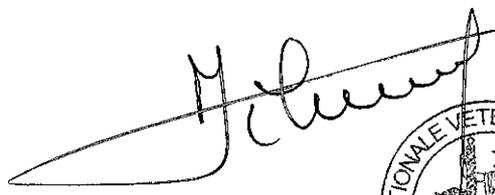
AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

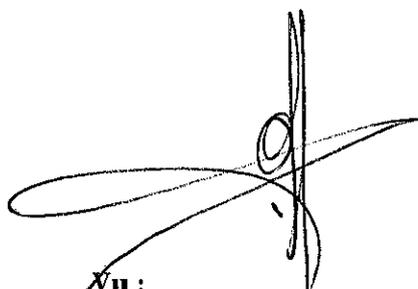
Je soussignée, *Sylvie CHASTANT*, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de *SABY Claire* intitulée « *Intérêt de l'eCG dans le contrôle du moment de l'ovulation dans un protocole à base de progestagènes chez la vache laitière* et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.


ECOLE NATIONALE VETERINAIRE
PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION
23, Chemin des Capelles
31076 TOULOUSE CEDEX

Fait à Toulouse, le 12 mai 2014
Professeur Sylvie CHASTANT
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse


Vu :
Le Directeur de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Professeur Alain MILON




Vu :
Le Président du jury :
Professeur PARANT Olivier
Professeur Olivier PARANT
Hôpital Paul de Vigulier
Service de Gynécologie-Obstétrique
830, avenue de Grande Bretagne
TSA 70034
31076 TOULOUSE Cedex 9

Vu et autorisation de l'impression :
Le Président de l'Université
Paul Sabatier
Professeur Bertrand MONTHUBERT
Par déléation, la Vice-Présidente du CEVU
Madame Régine ANDRÉ OBRECHT



Mlle SABY Claire
a été admis(e) sur concours en : 2009
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 25/06/2013
a validé son année d'approfondissement le : 06/03/2014
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

BIBLIOGRAPHIE

Aguer D (1981) Les progestagènes dans la maîtrise des cycles sexuels chez les bovins. *Rec. Med. Vet.*, 157:53-60.

Ailenberg M et Shemesh M (1983) Partial purification of a chorionic gonadotropin-like protein from bovine cotyledons. *Biol Reprod.* 28:517-522.

Allen WR (1969) The immunological measurement of pregnant mare serum gonadotrophin. *J Endocrinol.* 43(4):593-8.

Allen WR et Steward F (1993) Chapter 9 Equine chorionic gonadotropin. In : Mc Kinnon AO, Voss JL (eds), *Equine Reproduction.* Lea and Febiger, Philadelphia 81-96.

Allen WR, Wilsher S, Stewart F, Ousey J, Fowden A (2002) The influence of maternal size on placental, fetal and postnatal growth in the horse. II. Endocrinology of pregnancy. *J Endocrinol.* (2002) 172:237-246.

Andreu-Vázquez C, Garcia-Ispierto I, López-Gatius F (2012) Photoperiod length and the estrus synchronization protocol used before AI affect the twin pregnancy rate in dairy cattle. *Theriogenology.* 1;78(6):1209-16.

Apparailly F, Laurent-Cadoret V, Lecompte F, Chopineau M, Maurel MC, Guillou F, Combarous Y (1994) Structure-function relationships and mechanism of action of pituitary and placental gonadotrophins. *Reprod Fertil Dev.* 6:157-63.

Aslan S, Arslanbas D, Beindorff N, Bollwein H (2011) Effects of induction of ovulation with GnRH or hCG on follicular and luteal blood flow in Holstein-Friesian heifers. *Reprod Domest Anim.* 46(5):781-6.

Austin EJ, Mihm M, Ryan MP, Williams DH, Roche JF (1999) Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. *J Anim Sci.* 77(8):2219-26.

Bayril T et Yilmaz O (2013) Effect of timing of artificial insemination after synchronization of ovulation on reproductive performance in Holstein dairy cows. *Trop Anim Health Prod.* 45(2):411-6.

Beckers JF, Dewulf M, Versteegen J, Wouters-Ballman P, Ectors F (1988) Isolation of a bovine chorionic gonadotrophin (bCG). *Theriogenology.* 29:218 (abstract).

Beckers JF, Remy B, Baril G, Figueiredo JR, Bureau F, Sulon J, Saumande J (1995) Anti-eCG antibodies are transmitted via the colostrum in goats. *Theriogenology*. 43(1):165.

Beffara C (2007) Comparaison de l'efficacité du traitement de synchronisation des chaleurs Crestar[®] classique avec celle d'un nouveau traitement combinant buséréline, implant Crestar[®], prostaglandine F2 α et eCG chez la vache allaitante. Thèse de Doctorat Vétérinaire, ENVA, 100p.

Bellows RA, Short RE (1972) Superovulation and multiple births in beef cattle. *J Anim Sci*. 34 Suppl 1:67-79.

Bisinotto RS et Santos EP (2012) The use of endocrine treatments to improve pregnancy rates in cattle *Reprod Fertil Dev*. 24:258-266.

Bleach EC, Glencross RG, Knight PG (2004) Association between ovarian follicle development and pregnancy rates in dairy cows undergoing spontaneous oestrous cycles. *Reproduction*. 127(5):621-9.

Bloch A, Folman Y, Kaim M, Roth Z, Braw-Tal R, Wolfenson D (2006) Endocrine alterations associated with extended time interval between estrus and ovulation in high-yield dairy cows. *J Dairy Sci*. 89(12):4694-702.

Boland MP, Goulding D, Roche JF (1991) Alternative gonadotrophins for superovulation in cattle. *Theriogenology*. 35:5-17.

Bousfield GR, Butnev VY, Gotschall RR, Baker VL, Moore WT (1996) Structural features of mammalian gonadotropins. *Mol Cell Endocrinol*. 20;125(1-2):3-19.

Bryan MA, Bó G, Mapletoft RJ, Emslie FR (2013) The use of equine chorionic gonadotropin in the treatment of anestrus dairy cows in gonadotropin-releasing hormone/progesterone protocols of 6 or 7 days. *J Dairy Sci*. 96(1):122-31.

Caraty A, Duittoz A, Pelletier J, Thiéry JC, Tillet Y, Bouchard P (2001) Libération pulsatile des gonadotropines, de la prolactine, et de la GH. Le contrôle de la pulsativité de LH. In : *La Reproduction chez les mammifères et chez l'homme*. (Eds C Thibault and MC Levasseur, Ellipse, Paris, France) pp. 85-107.

Caraty A, Smith JT, Lomet D, Ben Saïd S, Morrissey A, Cognie J, Doughton B, Baril G, Briant C, Clarke IJ (2007) Kisspeptin synchronizes preovulatory surges in cyclical ewes and causes ovulation in seasonally acyclic ewes. *Endocrinology*. 148(11):5258-67.

Caraty A, Decourt C, Briant C, Beltramo M (2012) Kisspeptins and the reproductive axis: potential applications to manage reproduction in farm animals. *Domest Anim Endocrinol*. 43(2):95-102.

Carrière P (2012) Le cycle œstral. In : *Gestion de la reproduction chez les bovins laitiers* (Eds Med'Com, Paris, France) pp. 13-18.

Cavalieri J, Rubio I, Kinder JE, Entwistle KW, Fitzpatrick LA (1997) Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrine changes in bos indicus cows. *Theriogenology*. 47:801-14.

Centravet (2013) Catalogue sur <http://www.centravet.fr> consulté le 18/01/2014.

Chastant-Maillard S (2005) Actualités sur le cycle de la vache. In : *Reproduction des ruminants : maîtrise des cycles et pathologie. Point vét.* 36: Numéro spécial reproduction des ruminants, pp. 10-15.

Chicoineau V (2007) Comparaison de l'efficacité du traitement de synchronisation des chaleurs CRESTAR[®] classique avec celle du nouveau traitement CRESTAR SO[®] chez la vache laitière. Thèse de Doctorat Vétérinaire, ENVA, 90p.

Christie WB, Newcomb R, Rowson LE (1979) Ovulation rate and egg recovery in cattle treated repeatedly with pregnant mare serum gonadotrophin and prostaglandin. *Vet Rec*. 104(13):281-3.

CHRONOGEST[®] PMSG RCP (08/11/2010). *Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires 2011*. Eds du Point Vétérinaire, Courbevoie, France.

Clerget E, De Sousa NM, Bella A, Maghuin-Rogister G, Beckers JF (2008) Les glycoprotéines placentaires chez les mammifères. *Ann Endocrinol*. 69(1):18-29.

Cole HH, Hart GH, Lyons WR, Catchpole HR (1933) The development and hormonal content of fetal horse gonads. *Anat Rec* 56:275-289.

Combarous Y, Guillou F, Martinat N, Cahoreau C (1984) Origine de la double activité FSH + LH de la choriogonadotropine équine (eCG/PMSG) *Ann Endocrinol (Paris)*. 45:261-268.

Combarous Y, Galet C, Crépieux P, Chopineau M, Counis R (2001) Chapitre 5. Les gonadotropines : structure, fonctions, mécanismes d'action. In : *La reproduction chez les mammifères et l'homme*. (Eds C Thibault and MC Lévassieur, Ellipse, Paris, France) pp. 108-121.

Cummins SB, Lonergan P, Evans AC, Butler ST (2012) Genetic merit for fertility traits in Holstein cows: II. Ovarian follicular and corpus luteum dynamics, reproductive hormones, and estrus behavior. *J Dairy Sci*. 95(7):3698-710.

Dauzier L (1958) Physiologie du déplacement des spermatozoïdes dans les voies génitales femelles chez la brebis et la vache. *Ann Zootech.* 7:281-306, 8:5-37.

De Rensis F, Valentini R, Gorrieri F, Bottarelli E, Lopez-Gatius F (2008) Inducing ovulation with hCG improves the fertility of dairy cows during the warm season. *Theriogenology.* 69(9):1077-82.

De Rensis F, López-Gatius F, García-Ispuerto I, Techakumpu M (2010) Clinical use of human chorionic gonadotropin in dairy cows: an update. *Theriogenology.* 73(8):1001-8.

De Rensis F, López-Gatius F (2014) Use of equine chorionic gonadotropin to control reproduction of the dairy cow: a review. *Reprod Domest Anim.* 49(2):177-82.

Diskin MG, Austin EJ, Roche JF (2002) Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Domest Anim Endocrinol.* 23(1-2):211-28.

Diskin MG, Parr MH, Morris DG (2011) Embryo death in cattle: an update. *Reprod Fertil Dev.* 24(1):244-51.

Dobson H, Walker SL, Morris MJ, Routly JE, Smith RF (2008) Why is it getting more difficult to successfully artificially inseminate dairy cows ? *Animal.* 2(8):1104-1111.

Dorneles Tortorella R, Ferreira R, Tonello Dos Santos J, Silveira de Andrade Neto O, Barreta MH, Oliveira JF, Gonçalves PB, Pereira Neves J (2013) The effect of equine chorionic gonadotropin on follicular size, luteal volume, circulating progesterone concentrations, and pregnancy rates in anestrous beef cows treated with a novel fixed-time artificial insemination protocol. *Theriogenology.* 79(8):1204-9.

Driancourt MA (2001) Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology.* 1;55(6):1211-39.

Driancourt MA (2014) Du nouveau dans le cerveau... Les mécanismes contrôlant la sécrétation de GnRH enfin décryptés ! *Repro Mag.* Numéro 13.

Drion PV, Remy B, Houtain JY, Mac Namara M, Baril G, Heyman Y, Cognie Y, Theau-Clément MC, Leboeuf B, Ectors F, Segers K, Beckers JF (1998) Utilisation répétée des gonadotropins exogènes dans le contrôle de la reproduction : justifications, relations structure-activité biologique, effets secondaires potentiels. Une synthèse. *Ann Med Vet* 142:373-396.

Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Webster G (1989) A Body Condition Scoring Chart for Holstein Dairy Cows. *J Dairy Sci.* 72(1):68-78.

Endo N, Nagai K, Tanaka T, Kamomae H (2012) Profiles of ovarian steroids, luteinizing hormone and estrous signs from luteolysis to ovulation in lactating and non-lactating dairy cows. *J Reprod Dev.* 58(6):685-90.

Enjalbert F (2013) Cours d'alimentation 5^{ème} année productions animales. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Ferreira RM, Ayres H, Sales JN, Souza AH, Rodrigues CA, Baruselli PS (2013) Effect of different doses of equine chorionic gonadotropin on follicular and luteal dynamics and P/AI of high-producing Holstein cows. *Anim Reprod Sci.* 140(1-2):26-33.

Folman Y, Kaim M, Herz Z, Rosenberg M (1990) Comparison of methods for the synchronization of estrous cycles in dairy cows. 2. Effects of progesterone and parity on conception. *J Dairy Sci.* 73(10):2817-25.

Forastieri H et Ingham KC (1982) Thermal stability of human chorionic gonadotropin. Reversible dissociation of subunits at neutral pH. *J Biol Chem* 257(14):7976-81.

Friedman E, Glick G, Lavon Y, Roth Z (2010) Effects of low-dose Follicle-Stimulating Hormone administration on follicular dynamics and preovulatory follicle characteristics in dairy cows during the summer. *Domest Anim Endocrinol.* 39(2):106-15.

Ginther OJ, Knopf L, Kastelic JP (1989) Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. *J Reprod Fertil.* 87(1):223-30.

Ginther OJ, Pinaffi FL, Khan FA, Duarte LF, Beg MA (2013) Follicular-phase concentrations of progesterone, estradiol-17 β , LH, FSH, and a PGF 2α metabolite and daily clustering of prolactin pulses, based on hourly blood sampling and hourly detection of ovulation in heifers. *Theriogenology.* 79(6):918-28.

Giordano JO, Wiltbank MC, Fricke PM (2012) Humoral immune response in lactating dairy cows after repeated exposure to human chorionic gonadotropin. *Theriogenology.* 78(1):218-24.

Hagen-Picard N, Saint-Blancat M, Gipoulou C, Ponsard C, Ennuyer M, Defachelles J, DesCôteaux L (2008) Comment utiliser les programmes de synchronisation de la reproduction en France chez les vaches laitières. *Le Nouveau Praticien Vétérinaire.* 2(10):21-25.

Hampton JH, Bader JF, Lamberson WR, Smith MF, Youngquist RS, Garverick HA (2004) Gonadotropin requirements for dominant follicle selection in GnRH agonist-treated cows. *Reproduction.* 127(6):695-703.

- Hannan MA, Fuenzalida MJ, Siddiqui MA, Shamsuddin M, Beg MA, Ginther OJ** (2010) Diurnal variation in LH and temporal relationships between oscillations in LH and progesterone during the luteal phase in heifers. *Theriogenology*. 74(8):1491-8.
- Hockey CD, Morton JM, Norman ST, McGowan MR** (2010) Improved prediction of ovulation time may increase pregnancy rates to artificial insemination in lactating dairy cattle. *Reprod Domest Anim*. 45(6):239-48.
- Hoppen HO** (1994) The equine placenta and equine chorionic gonadotrophin – an overview. *Exp Clin Endocrinol*. 102:235-243.
- Jainudeen MR, Hafez ESE, Gollnick PD, Moustafa LA** (1966) Antigonadotropins in the serum of cows following repeated therapeutic pregnant mare serum injections. *Am J Vet Res*. 27(118):669-75.
- Kaim M, Bloch A, Wolfenson D, Braw-Tal R, Rosenberg M, Voet H, Folman Y** (2003) Effects of GnRH administered to cows at the onset of estrus on timing of ovulation, endocrine responses, and conception. *J Dairy Sci*. 86(6):2012-21.
- Kenyon AG, Lopes G Jr, Mendonça LG, Lima JR, Bruno RG, Denicol AC, Chebel RC** (2012) Ovarian responses and embryo survival in recipient lactating Holstein cows treated with equine Chorionic Gonadotropin. *Theriogenology*. 77(2):400-11.
- Laizeau JS** (2003) Facteurs de variation de la production d'embryons chez la vache laitière de race montbéliarde. Thèse de Doctorat Vétérinaire, ENVA, 182p.
- Laphorn AJ, Harris DC, Littlejohn A, Lustbader JW, Canfield RE, Machin KJ, Morgan FJ, Isaacs NW** (1994) Crystal structure of human Chorionic Gonadotropin. *Nature*. 369(6480):455-61.
- Lauria A, Oliva O, Genazzani AR, Cremonesi F, Crotti S, Barbetti M** (1982) Improved method to induce superovulation in cattle using human Menopausal Gonadotropin (hMG). *Theriogenology*. 18, 357-64.
- Le Mézec P, Barbat-Lettier A, Barbier S, Gion A, Ponsart C** (2010) Fertilité des principales races laitières – Bilan 1999-2008. Rapport d'étude, Institut de l'Élevage, 35p.
- Lopez H, Caraviello DZ, Satter LD, Fricke PM, Wiltbank MC** (2005) Relationship between level of milk production and multiple ovulations in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*. 88(8):2783-93.
- López-Gatiús F** (1989) Effects of cloprostenol, human chorionic gonadotropin and estradiol benzoate treatment on estrus synchronization in dairy cows. *Theriogenology*. 32(2):185-95.

López-Gatius F (2000) Reproductive performance of lactating dairy cows treated with cloprostenol, hCG and estradiol benzoate for synchronization of estrus followed by timed AI. *Theriogenology*. 1;54(4):551-8.

López-Gatius F, Santolaria P, Yániz J, Rutllant J, López-Béjar M (2002) Factors affecting pregnancy loss from gestation Day 38 to 90 in lactating dairy cows from a single herd. *Theriogenology*. 1;57(4):1251-61.

López-Gatius F, López-Béjar M, Fenech M, Hunter RH (2005) Ovulation failure and double ovulation in dairy cattle: risk factors and effects. *Theriogenology*. 15;63(5):1298-307.

Martinuk SD, Manning AW, Black WD, Murphy BD (1991) Effects of carbohydrates on the pharmacokinetics and biological activity of equine Chorionic Gonadotropin in vivo. *Biol Reprod*. 45(4):598-604.

Merle D, Frein P, Florentin S, Pelenc F, Lhermie G, Laizeau JS, Gayrard V, Picard-Hagen N (2013) Comparaison de la réponse en terme de LH et de progestérogène à la busérelina, à la gonadoreline et à la léciréline. *Proceedings Journée Bovine Toulousaine 2013*. p79-85.

Monniaux D, Caraty A, Clément F, Dalbiès-Tran R, Dupont J, Fabre S, Gérard N, Mermillod P, Monget P, Uzbekovas S (2009). Développement folliculaire ovarien et ovulation chez les mammifères. *Inra Prod. Anim.* 22, 59-76.

Morris D et Diskin M (2008) Effet of progesterone on embryo survival. *Animal*. 2:8, 1112-1119.

Nogueira MF, Melo DS, Carvalho LM, Fuck EJ, Trinca LA, Barros CM (2004) Do high progesterone concentrations decrease pregnancy rates in embryo recipients synchronized with PGF2alpha and eCG? *Theriogenology*. 61(7-8):1283-90.

Okamura H, Yamamura T, Wakabayashi Y (2013) Kisspeptin as a master player in the central control of reproduction in mammals: an overview of kisspeptin research in domestic animals. *Anim Sci J*. 84(5):369-81.

Papkoff H (1981) Variations in the properties of equine Chorionic Gonadotropin. *Theriogenology*. 15(1):1-11.

Peters AR, Mawhinney I, Drew SB, Ward SJ, Warren MJ, Gordon PJ (1999) Development of a gonadotrophin-releasing hormone and prostaglandin regimen for the planned breeding of dairy cows. *Vet Rec*. 145(18):516-21.

Pulley SL, Wallace LD, Mellieon HI Jr, Stevenson JS (2013) Ovarian characteristics, serum concentrations of progesterone and estradiol, and fertility in lactating dairy cows in response to equine Chorionic Gonadotropin. *Theriogenology*.79(1):127-34.

Reksen O, Gröhn YT, Havrevoll Ø, Bolstad T, Waldmann A, Ropstad E (2002) Relationships among milk progesterone, concentrate allocation, energy balance, milk yield and conception rate in Norwegian cattle. *Anim Reprod Sci*. 16;73(3-4):169-84.

Rigoglio NN, Fátima LA, Hanassaka JY, Pinto GL, Machado AS, Gimenes LU, Baruselli PS, Rennó FP, Moura CE, Watanabe IS, Papa PC (2013) Equine Chorionic Gonadotropin alters luteal cell morphologic features related to progesterone synthesis. *Theriogenology*. 79(4):673-9.

Roelofs JB, Bouwman EG, Dieleman SJ, Van Eerdenburg FJ, Kaal-Lansbergen LM, Soede NM, Kemp B (2004) Influence of repeated rectal ultrasound examinations on hormone profiles and behaviour around oestrus and ovulation in dairy cattle. *Theriogenology*. 62(7):1337-52.

Roser JF, Kiefer BL, Evans JW, Neely DP, Pacheco DA (1979) The development of antibodies to human Chorionic Gonadotrophin following its repeated injection in the cyclic mare. *J Reprod Fertil Suppl*. (27):173-9.

Rostami B, Niasari-Naslaji A, Vojgani M, Nikjou D, Amanlou H, Gerami A (2011) Effect of eCG on early resumption of ovarian activity in postpartum dairy cows. *Anim Reprod Sci*. 128(1-4):100-6.

Rowlands IW (1963) Levels of gonadotropins in tissues and biological fluids with emphasis on domestic animals. In. *Gonadotropins: their chemical and biological properties and secretory control*. WH Freeman and Company, San Francisco. 75-107.

Royal M, Mann GE, Flint APF (2000) Strategies for reversing the trend towards subfertility in dairy cattle. *Vet J*. 160, 53-60.

Rutigliano HM, Lima FS, Cerri RL, Greco LF, Vilela JM, Magalhães V, Silvestre FT, Thatcher WW, Santos JE (2008) Effects of method of presynchronization and source of selenium on uterine health and reproduction in dairy cows. *J Dairy Sci*. 91(9):3323-36.

Saint-Dizier M (2004) Etude de la réceptivité à eCG (equine Chorionic Gonadotropin) chez la jument gestante. Thèse d'université, Université de Tours. 126p.

Sales JN, Crepaldi GA, Giroto RW, Souza AH, Baruselli PS (2011) Fixed-time AI protocols replacing eCG with a single dose of FSH were less effective in stimulating follicular growth, ovulation, and fertility in suckled-anestrus Nelore beef cows. *Anim Reprod Sci*. 124(1-2):12-8.

Santos JE, Thatcher WW, Pool L, Overton MW (2001) Effect of human chorionic gonadotropin on luteal function and reproductive performance of high-producing lactating Holstein dairy cows. *J Anim Sci.* 79(11):2881-94.

Saumande J, Humblot P (2005) The variability in the interval between estrus and ovulation in cattle and its determinants. *Anim Reprod Sci.* 85(3-4):171-82.

Sheldon IM, Dobson H (2000) Effect of administration of eCG to postpartum cows on folliculogenesis in the ovary ipsilateral to the previously gravid uterine horn and uterine involution. *J Reprod Fertil.* 119(1):157-63.

Sheldon IM, Dobson H (2004) Postpartum uterine health in cattle. *Anim Reprod Sci.* 82-83:295-306.

Silva del Río N, Stewart S, Rapnicki P, Chang YM, Fricke PM (2007) An observational analysis of twin births, calf sex ratio, and calf mortality in Holstein dairy cattle. *J Dairy Sci.* 90(3):1255-64.

Souza AH, Viechnieski S, Lima FA, Silva FF, Araújo R, Bó GA, Wiltbank MC, Baruselli PS (2009a) Effects of equine Chorionic Gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. *Theriogenology.* 72(1):10-21.

Souza AH, Cunha AP, Silva EP, Gümen A, Ayres H, Guenther JN, Wiltbank MC (2009b) Comparison of gonadorelin products in lactating dairy cows: efficacy based on induction of ovulation of an accessory follicle and circulating luteinizing hormone profiles. *Theriogenology.* 15;72(2):271-9.

Stevenson JS (2011) Alternative programs to presynchronize estrous cycles in dairy cattle before a timed artificial insemination program. *J Dairy Sci.* 94(1):205-17.

Sugano M, Shinogi T, Nakada K, Nakao T (2001) Endocrine profiles and embryo quality in Japanese black cattle superovulated with human Menopausal Gonadotrophin and porcine Follicle Stimulating Hormone. *Reprod Domest Anim.* 36(2):57-63.

SYNCHRO-PART[®] PMSG RCP (22/12/2011). *Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires 2011.* Eds du Point Vétérinaire, Courbevoie, France.

Swanson WF, Roth TL, Graham K, Horohov DW, Godke RA (1996) Kinetics of the humoral immune response to multiple treatments with exogenous gonadotropins and relation to ovarian responsiveness in domestic cats. *Am J Vet Res.* 57(3):302-7.

Vasconcelos JL, Sartori R, Oliveira HN, Guenther JG, Wiltbank MC (2001) Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology*. 15;56(2):307-14.

Vidal (2014) Catalogue sur <http://www.vidal.fr> consulté le 20/03/2014.

Walker WL, Nebel RL, McGilliard ML (1996) Time of ovulation relative to mounting activity in dairy cattle. *J Dairy Sci*. 79(9):1555-61.

Walsh SW, Williams EJ, Evans ACO (2011) A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Anim Reprod Sci*. 123(3-4):127-38.

Weaver LD (1987) Effects of nutrition on reproduction in dairy cows. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 3(3):513-32.

Wiltbank MC, Sartori R, Herlihy MM, Vasconcelos JL, Nascimento AB, Souza AH, Ayres H, Cunha AP, Keskin A, Guenther JN, Gumen A (2011) Managing the dominant follicle in lactating dairy cows. *Theriogenology*. 76(9):1568-82.

Wu H, Lustbader JW, Liu Y, Canfield RE, Hendrickson WA (1994) Structure of human Chorionic Gonadotropin at 2.6 Å resolution from MAD analysis of the selenomethionyl protein. *Structure*. 2(6):545-58.

SABY Claire

Intérêt de l'eCG dans le contrôle du moment de l'ovulation dans un protocole à base de progestagènes chez la vache laitière.

La fertilité des vaches laitières est limitée par la difficulté de détection des chaleurs, une forte variabilité du moment de l'ovulation et une hypoprogéstéronémie post-ovulatoire. Les protocoles de synchronisation des chaleurs permettent d'apporter une solution. L'eCG (equine Chorionic Gonadotropin), hormone à action LH et FSH, utilisée en fin de protocole progestagen, est susceptible d'augmenter le taux d'ovulation, de raccourcir la fenêtre d'ovulation et finalement d'améliorer le taux de gestation.

Quatre dosages différents d'eCG (0, 400 UI, 500 UI, 600 UI) ont été comparés au cours d'un protocole CRESTAR SO[®] (implant auriculaire de norgestomet, progestagène ; MSD, Beaucouzé, France). Quarante vaches ont été sélectionnées dans un même élevage. Les taux d'ovulation obtenus ont été de 90%, 70%, 62,5%, 90% et les taux de gestation à J30 de 50%, 40%, 0%, 10% respectivement pour les lots sans eCG, 400 UI, 500 UI, 600 UI. L'eCG n'a pas modifié de façon significative la précision du moment de l'ovulation, le diamètre du follicule ovulatoire ou la progéstéronémie post-ovulatoire.

Dans les conditions de l'expérience, l'intérêt de l'eCG n'est donc pas démontré au cours d'un protocole CRESTAR SO[®]. L'utilisation des dosages de 500 UI et 600 UI semble même déconseillée chez la vache laitière. Une étude à grande échelle comparant deux protocoles CRESTAR SO[®], un utilisant 400 UI d'eCG au moment du retrait de l'implant, et l'autre n'utilisant pas d'eCG serait pertinente pour investiguer sur la variabilité des effets observés et conclure sur l'intérêt de l'eCG lui-même.

Mots-clés : eCG, PMSG, synchronisation de l'ovulation, vache laitière, follicule, œstradiol, progéstérone

Interests of eCG in the control of ovulation timing in a progestagen-based protocol in dairy cows.

Fertility of dairy cows is limited by the difficult heat detection, a high variability of the timing of ovulation and low post-ovulatory levels of plasma progesterone. The estrus synchronization protocols are considered as efficient tools for reproductive management. The eCG (equine Chorionic Gonadotropin) hormone, combining LH and FSH activities, when injected at the end of the progestagen protocol, could increase ovulation rate, shorten the ovulation time window and consequently improve the pregnancy rate. The effects of four different doses of eCG (0, 400 IU, 500 IU, 600 IU) were compared in a CRESTAR SO[®] protocol (ear implant of norgestomet, progestagen, MSD, Beaucouzé, France). Forty cows from the same herd were included in the trial. According to the eCG dose (0 IU, 400 IU, 500 IU, 600 IU), ovulation rates after the protocol were 90 %, 70 %, 62.5 %, 90 % and pregnancy rate at day 30 were 50%, 40 %, 0 %, 10 % respectively. The eCG did not significantly modify either the time window of ovulation, ovulatory follicle diameter, or post ovulatory levels of plasma progesterone. Under field conditions of our experiment, the interest of eCG was not demonstrated in a CRESTAR SO[®] protocol. The use of doses of 500 IU or 600 IU even could not be recommended in dairy cows. A large-scale study comparing two CRESTAR[®] SO protocols, without or with 400 IU eCG at the time of implant removal, would allow evaluating the interest of eCG in the estrus synchronization protocols.

Keywords : eCG, PMSG, synchronization of ovulation, dairy cow, follicle, estradiol, progesterone