

# L'infertilité dans l'espèce bovine: un syndrome

Prof. Ch. Hanzen  
Année 2015-2016  
Université de Liège  
Faculté de Médecine Vétérinaire  
Service de Thériogenologie des animaux de production  
Courriel : [Christian.hanzen@ulg.ac.be](mailto:Christian.hanzen@ulg.ac.be)  
Site : <http://www.therioruminant.ulg.ac.be/index.html>  
Publications : <http://orbi.ulg.ac.be/>  
Facebook : <https://www.facebook.com/Theriogenologie>

## Table des matières

1.	Objectifs .....	2
1.1.	Objectif général .....	2
1.2.	Objectifs spécifiques .....	2
1.2.1.	Objectifs de connaissance	2
1.2.2.	Objectifs de compréhension	2
1.2.3.	Objectifs d'application	2
2.	Introduction générale .....	2
3.	Etiologie .....	3
3.1.	Facteurs généraux.....	3
3.2.	L'absence de fécondation .....	4
3.2.1.	La conduite d'élevage	4
3.2.2.	Les pathologies génitales femelles	5
3.3.	La mortalité embryonnaire .....	6
3.3.1.	Aspects cliniques de la mortalité embryonnaire	6
3.3.2.	Facteurs étiologiques	8
3.3.3.	Pathogénie de la mortalité embryonnaire	19
4.	Diagnostic.....	21
4.1.	Le diagnostic de troupeau.....	22
4.2.	Le diagnostic individuel.....	22
4.2.1.	L'examen vaginal	22
4.2.2.	L'examen transrectal	22
4.2.3.	Les examens complémentaires	22
5.	Traitements.....	23
5.1.	Moyens de lutte au niveau du troupeau .....	23
5.2.	Moyens de lutte individuels .....	23
5.2.1.	Les traitements non-hormonaux	23
5.2.2.	Les traitements hormonaux	23

6. Pour en savoir plus.....	34
7. Tableaux.....	35

## **1. Objectifs**

### **1.1. Objectif général**

Ce chapitre revêt une importance extrême car l'infertilité correspond à un motif d'appel fréquent , « ma vache n'est pas pleine » et traduit les conséquences des pathologies du post-partum ou pubertaire précédemment décrites.

Le chapitre passe en revue les étiologies spécifiques ou non d'une absence de fécondation et/ou de mortalité embryonnaire en mettant l'accent sur les aspects individuels ou de troupeau. Les traitements spécifiques ou non, hormonaux ou zootechniques du syndrome infertilité sont passés en revue.

### **1.2. Objectifs spécifiques**

#### **1.2.1. Objectifs de connaissance**

- Citer le critère qui en pratique permet de définir une vache infertile
- Définir la mortalité embryonnaire précoce et tardive
- Enoncer les fréquences de la non fécondation, mortalité embryonnaire et avortements
- Citez les hypothèses diagnostiques de la non fécondation et/ou de la mortalité embryonnaire
- Enoncer les symptômes échographiques de la mortalité embryonnaire
- Enoncer l'hormone responsable spécifique du maintien de la gestation
- Enoncer les méthodes individuelles et de troupeau du diagnostic de la mortalité embryonnaire tardive.
- Enoncer les traitements hormonaux de l'infertilité

#### **1.2.2. Objectifs de compréhension**

- Faire un schéma du mécanisme hormonal du maintien de la gestation
- Expliquer brièvement l'effet des facteurs responsables d'une non fécondation
- Expliquer brièvement les effets des facteurs responsables de mortalité embryonnaire.
- Expliquer les critères de diagnostic clinique d'une mortalité embryonnaire
- Justifier les protocoles hormonaux applicables au traitement individuel de l'infertilité
- Commenter les mesures zootechniques applicables au traitement de l'infertilité.

#### **1.2.3. Objectifs d'application**

- Choisir sur base d'une anamnèse et d'un examen clinique la stratégie thérapeutique adaptée à la situation physiopathologique d'une vache infertile

## **2. Introduction générale**

La fertilité se définit notamment comme la possibilité d'obtenir une gestation avec une voire deux inséminations, on parlera d'infertilité dans le cas contraire. Son amélioration demeure un des objectifs prioritaires pour optimiser le potentiel de reproduction et donc de production de l'élevage bovin. On peut en effet raisonnablement estimer que sur 100 vaches ou génisses inséminées, 50 d'entre elles seulement donneront naissance 9 mois plus tard à un veau vivant. C'est dire l'importance des pertes rencontrées qui schématiquement relèvent de 4 grands syndromes : l'absence de fécondation, la mortalité embryonnaire, l'avortement ou et l'accouchement prématuré.

Diverses études ayant eu recours à l'abattage des animaux 2 à 3 jours après l'insémination ont

démontré que le taux de fécondation est compris entre 71 et 100 %. Chez les animaux repeat-breeders par contre, ce pourcentage est compris entre 60 et 72 %. Lors de superovulation, cette absence de fécondation est également plus fréquente chez les repeat-breeders que chez les animaux normaux.

Diverses publications ont également été consacrées au problème des avortements et/ou accouchements prématurés. Ces travaux ont fait état de leur fréquence ainsi que de leur étiologie. En ne considérant que les cas diagnostiqués par l'éleveur ou le vétérinaire, la fréquence des avortements serait en moyenne de 1,9 % (0,4 à 5,5 %). Elle serait en moyenne de 6,9 % (3,6 à 10,6 %) si sont pris en compte non seulement les cas cliniques d'avortement mais également les pertes non cliniquement diagnostiquées, situation habituelle au cours des 150 premiers jours de gestation.

Les synthèses consacrées à la mortalité embryonnaire sont demeurées à ce jour, relativement peu nombreuses. Il est vrai que l'analyse de cet important problème aux conséquences économiques redoutables n'est pas chose aisée. La période embryonnaire classiquement définie comme la période comprise entre la fécondation et la fin de l'organogenèse soit le 42<sup>ème</sup> jour de gestation environ implique pour son déroulement un synchronisme optimal entre les divers aspects morphologiques, physiologiques, endocrinologiques, biochimiques, immunologiques et génétiques qu'elle implique. Par ailleurs, son étude *in vivo* n'est pas chose aisée. Cependant, l'important développement des recherches dans les domaines de la biotechnologie de l'embryon a permis de lever une partie du voile sur les facteurs potentiellement responsables.

L'infertilité se traduit par l'augmentation de l'index de fertilité au-delà de sa valeur moyenne de troupeau généralement admise soit 1,5 à 2. Elle entraîne pour l'éleveur un manque à gagner certain puisqu'elle contribue à augmenter le délai nécessaire à l'obtention d'une gestation. Le repeat-breeding en est une des manifestations cliniques fréquemment rencontrée. Sera qualifiée d'infertile ou de repeat-breeder toute vache non gestante après deux voire trois inséminations artificielles ou naturelles, qui a une activité cyclique régulière et qui ne présente aucune cause majeure cliniquement décelable susceptible d'être responsable de son infertilité.

La fréquence du repeat-breeding dans les exploitations bovines est comprise selon les auteurs entre 10 et 24 %. La détermination de la fréquence normale repose sur un simple calcul de probabilité. Ainsi, si  $P$  représente la probabilité d'une gestation en 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup>... insémination alors la probabilité de non gestation ( $I$ : infertile) lors d'un numéro d'insémination donné est égal à  $I = (1-P)n$ . Si la probabilité de gestation en première insémination est de 0.6; valeur habituellement considérée comme un objectif, alors la probabilité de non-gestation après deux inséminations est égal à 0.16 c'est à dire que 16 % des animaux ne seront pas gestants après avoir été inséminés deux fois. Aussi, l'évaluation de la fréquence normale d'animaux repeat-breeders dans une exploitation devrait idéalement tenir compte du pourcentage de gestation en première insémination qui y est constaté.

Les paramètres de quantification de la fertilité sont décrits de manière plus exhaustive dans le chapitre consacré à la gestion de la reproduction bovine.

### **3. Etiologie**

Certains qualifiés de généraux peuvent traduire leurs effets aussi bien par de la non fécondation que par une mortalité embryonnaire précoce. D'autres sont plus spécifiques et concernent davantage l'un ou l'autre mécanisme pathogénique.

#### **3.1. Facteurs généraux**

Les *lésions inflammatoires de l'utérus* peuvent s'opposer à la fécondation en détruisant les spermatozoïdes ou au développement embryonnaire précoce. De nombreuses études ont confirmé le fait que le diagnostic et donc le traitement tardif des métrites augmente la fréquence des animaux repeat-breeders. Les lésions induites par les métrites telle que la fibrose périglandulaire surtout si elle concerne une grande partie de l'endomètre, ont également été reconnues comme cause de repeat-breeding.

Des anomalies du recrutement folliculaire vers le 12ème jour du cycle précédent l'insémination peuvent être à l'origine de modifications de la séquence ovulatoire, de défauts de la maturation ovocytaire voire du développement embryonnaire et par conséquent d'infertilité. D'autres auteurs ont également identifiés 2 à 51 jours après l'oestrus, chez les repeat-breeders un nombre plus faible de follicules de taille comprise entre 1 et 3 mm que chez les animaux témoins. L'altération du processus de la croissance folliculaire pourrait donc s'exercer également à long terme.

Un effet de la race sur la fréquence des non fécondations et des mortalités embryonnaires précoces a été rapporté. Il concerne aussi bien les mâles que les femelles. Diverses études ont également établi une corrélation entre la fécondité des mâles et celles de leurs descendants aussi bien mâles que femelles.

D'une manière générale, il est bien démontré qu'une augmentation de la température externe se traduise par une augmentation de l'infertilité.

Les relations entre fertilité et alimentation ne sont pas aisées à étudier. D'abord parce que les facteurs alimentaires impliqués sont multiples et que d'autre part ils peuvent exercer leurs effets à moyen voire long terme. Il n'est donc possible que de mettre l'accent sur les relations les plus caractéristiques. Le repeat-breeding serait davantage imputable à une perte de poids par l'animal qu'à son état maigre. La fertilité ne serait donc perturbée que pendant la période de déficit énergétique. La carence ou l'excès de protéines sont nuisibles à la fertilité. Mais plus que les valeurs absolues des apports, il faut tenir compte des apports relatifs par rapport à l'énergie et par rapport à la production laitière voire par rapport aux dysfonctionnements hépatiques éventuellement présents tels que la stéatose ou la distomatose qui réduisent les capacités de détoxification de cet organe. L'augmentation de l'urée et de l'ammoniac est préjudiciable à l'obtention d'une fertilité normale. Les effets des minéraux sont difficilement identifiables. Des carences en Ca, P, Mn, Co, Cu, Zn peuvent se traduire par de l'infertilité. Il a été clairement établi que les apports en vitamine E-Se ne modifient pas la fertilité des bovins. Le rôle de la vitamine 1A et ou du beta carotène est controversé. Des carences en vitamine C ont également été suspectées.

### 3.2. L'absence de fécondation

#### 3.2.1. La conduite d'élevage

##### a. L'insuffisance de la détection des chaleurs

Selon les études, on peut estimer que 5 à 30 % des vaches présentent le jour de l'insémination des concentrations élevées en progestérone (Senger et al. J.Anim.Sci. 1988, 66, 1010-1016). Ce pourcentage peut dans certains élevages à problèmes être encore plus élevés. Ce fait explique sans doute en partie pourquoi le taux de repeat-breeders semble être directement proportionnel avec la taille des troupeaux. En effet, dans les grands élevages, la détection des chaleurs est souvent moins bonne. De la même manière, les conditions d'élevage c'est-à-dire la nature ou la conception des locaux en favorisant ou non l'expression ou non des chaleurs peuvent modifier indirectement la fréquence du repeat-breeding.

Diverses études ont confirmé que le risque de repeat-breeding est en relation directe avec la présence d'une concentration trop élevée de la progestérone dans la matière grasse au moment de l'oestrus (Waldmann et al. 2001 : Anim.Reprod.Sci. 2001,65,33-41 ; Gustafsson et al. Anim.Reprod.Sci., 1986,10,261-273 ; Bage et al. Theriogenology, 1997,47,141-142). La cause peut en être trouvée dans une mauvaise identification des signes de chaleurs. Il est possible également que l'augmentation de la progestérone au moment des chaleurs se traduise par une réduction des signes comportementaux (Schopper et Claus Zuchthygiene, 1986,21,237-240), la progestérone inhibant les effets comportementaux des oestrogènes. Une balance hormonale déséquilibrée peut se traduire par une modification des signes comportementaux tant sur le plan qualitatif (extériorisation plus intense chez

les repeat-breeders : Bage 1998 in Waldmann et al. 2001) que quantitatif (oestrus prolongé chez les repeat-breeders : Gustafsson et al. Anim.Reprod.Sci., 1986,10,261-273).

*b. Choix du moment de l'insémination:*

Classiquement, on préconise d'inséminer l'après-midi une vache vue en chaleurs le matin et d'inséminer le lendemain matin une vache vue en chaleurs l'après-midi. En effet, les meilleurs taux de gestation sont obtenus lorsque les animaux sont inséminés au cours des 6 dernières heures de l'œstrus, des résultats étant encore satisfaisants dans les 6 heures qui suivent la fin des chaleurs. Par contre, les taux de gestation obtenus avec des inséminations plus précoces ou plus tardives sont insuffisants. Peut donc se poser le problème du choix du moment optimal de l'insémination pour les 25 % de vaches dont les chaleurs sont courtes c'est-à-dire inférieures à 6 heures. L'absence de rôle de garde des inséminateurs soulève également un autre problème pratique si les animaux viennent en chaleurs le dimanche. Rappelons que la durée de vie des spermatozoïdes est de 24 heures et celle de l'ovocyte de 5 heures.

*c. Endroit anatomique de l'insémination:*

Une réduction de 22% de gestation a été rapportée si le dépôt de la semence se faisait dans le canal cervical au ou niveau de l'exocol. Il existe une grande différence d'habileté entre les inséminateurs ou les éleveurs surtout s'ils sont en période de formation.

**3.2.2. Les pathologies génitales femelles**

L'absence de fécondation peut résulter de troubles au cours de la période périovulatoire. L'existence de certains d'entre eux a été bien démontrée, d'autres sont plus hypothétiques.

*a. L'absence d'ovulation*

Certaines études faites après abattage des animaux ont démontré que dans 8 à 10 % des cas de repeat-breeding l'ovulation n'avait pas eu lieu. Il semble néanmoins peu probable que cette pathologie puisse s'accompagner d'une cyclicité normale. Cependant, il n'est pas impossible de penser que l'absence d'ovulation puisse s'accompagner d'une lutéinisation précoce du follicule (LUF syndrome: Luteinized Unruptured follicle syndrome), phénomène qui a été observé chez la femme et plus particulièrement chez la femme infertile. Ce phénomène a été observé chez la jument particulièrement en fin de période de reproduction. D'autres troubles de l'ovulation ont été suspectés comme l'existence de follicules ovulant alors qu'ils ne renferment pas d'ovocytes (follicules "vides").

*b. L'ovulation asynchrone*

Un asynchronisme dans la séquence oestrus-ovulation a également été invoqué pour expliquer l'absence de fécondation. Selon certains auteurs, ce phénomène serait observé chez 18 % des animaux infertiles. D'autres auteurs ont cependant tendance à minimiser l'importance de cette étiologie.

*c. Les pathologies de l'oviducte*

Les récoltes d'embryons réalisés 6 à 11 jours après l'œstrus, montrent des taux de récupération d'embryons ou d'ovocytes beaucoup plus faibles chez les animaux repeat-breeders que chez les animaux normaux. Ce fait tendrait à prouver que les vaches à problèmes présentent soit une dégénérescence rapide et totale des ovocytes et/ou des embryons soit, plus vraisemblablement une absence d'ovocytes dans le tractus génital. Outre l'absence d'ovulation, il convient donc de prendre également en compte la possibilité d'une mauvaise captation de l'ovocyte par le pavillon tubaire soit une obstruction des oviductes. Les lésions histo-anatomiques de l'oviducte peuvent être congénitales (ovaires encapsulés, aplasie des oviductes...) ou acquises (adhérences, obstructions, hydrosalpinx...suite à des césariennes, énucléations de corps jaunes, endométrites, instillations utérines...); Selon les études 4 à 19 % des animaux infertiles seraient concernés par ces problèmes.

*d. L'immunisation antispermatique*

Certains auteurs ont avancé la possibilité d'une production locale dans les voies génitales femelles

d'anticorps antispermatoïques. L'hypofertilité observée en médecine humaine serait due à une réduction par phagocytose ou par immobilisation du nombre de spermatozoïdes atteignant l'endroit de fécondation ou à un blocage de l'interaction ovocyte-spermatozoïde. En médecine vétérinaire, divers travaux démontrent l'existence possible d'anticorps spermo-agglutinants. Ce phénomène d'immunisation expliquerait certains cas où des vaches inséminées ou saillies sans succès avec le sperme d'un même taureau, sont gestantes dès la première tentative avec le sperme d'un autre taureau.

### 3.3. La mortalité embryonnaire

La chronologie des premières étapes du développement embryonnaire a été développée dans le chapitre 25 relatif à la production d'embryons *in vivo*. De même le chapitre 6 relatif au diagnostic de gestation a rappelé les principales modifications hormonales relatives à la gestation chez la vache.

Nous nous limiterons dès lors à signaler que morphologiquement, la période embryonnaire présente chez les ruminants et la truie plusieurs caractéristiques qu'il n'est pas inutile de rappeler pour mieux comprendre la pathogénie de la mortalité embryonnaire. Ces trois espèces se caractérisent par un allongement extrêmement important du blastocyste, résultat d'une intense prolifération trophoblastique, une fois ce dernier sorti de sa pellucide. Elles se distinguent également par une durée de vie libre relativement longue qui rend l'embryon beaucoup plus dépendant du milieu utérin. Par ailleurs et à la différence des rongeurs et des primates qui ont un placenta de type hémochorial (réaction déciduale), l'implantation de l'embryon est, chez les ruminants et la truie, beaucoup plus superficielle, le placenta étant de type syndesmo-chorial (ruminants) ou épithélio-chorial (truie, jument). Elle ressemble de ce fait davantage à une fixation qu'à une nidation. Le moment de cette fixation est variable selon les espèces. Elle s'observerait au plus tôt vers le 13<sup>ème</sup> jour de gestation chez la truie, le 15<sup>ème</sup> jour chez la brebis, le 30<sup>ème</sup> jour chez la vache et le 37<sup>ème</sup> jour chez la jument.

C'est également au cours de cette période que les embryons vont dans les espèces plus fréquemment polytociques se distribuer (plus que migrer au sens strict) dans les cornes utérines de manière passive. Chez la vache, la migration de l'embryon demeure exceptionnelle. Elle est plus fréquente chez la brebis. Chez la jument, elle est particulièrement importante entre le 10<sup>ème</sup> et le 19<sup>ème</sup> jour de gestation. Elle a été impliquée dans le mécanisme du maintien de la gestation.

#### 3.3.1. Aspects cliniques de la mortalité embryonnaire

##### 3.1.3.1. Méthodes de quantification

La quantification de la mortalité embryonnaire dans l'espèce bovine n'est pas chose aisée. Il faut y voir le manque d'harmonisation de sa définition et donc de la période considérée mais également l'emploi de méthodes aussi différentes que l'abattage des animaux, la récolte d'embryons, les dosages hormonaux, la palpation rectale ou l'échographie. La quantification de la mortalité embryonnaire tardive procède en fait le plus souvent de l'association de méthodes précoces de diagnostic de nature hormonale (progesterone, PAG/PSPB), échographique ou manuelle et de méthodes tardives faisant habituellement appel à la palpation manuelle ou à la simple notation du retour en chaleurs de l'animal ou de sa réinsémination (Tableau 1). On comprend aisément que ces méthodes de quantification sont de nature à surévaluer ou sous-évaluer selon les circonstances la fréquence de la mortalité embryonnaire. Divers biais de quantification sont en effet possibles. Ils résultent de différences voire de variations en fonction du stade de gestation de la sensibilité des méthodes utilisées d'autant que le statut de gestation ou de non-gestation sont rarement connus en pratique dans un troupeau avant la mise en place de l'une ou l'autre méthode de diagnostic. Ils peuvent également relever du fait que certaines méthodes telle la palpation manuelle peuvent dans certaines circonstances être responsables d'une mortalité embryonnaire. Enfin le degré d'exactitude du diagnostic peut également dépendre de la qualité de la détection des chaleurs. Ainsi la confirmation progesteronique d'une gestation peut être erronée si l'animal inséminé 21 jours plus tôt n'était pas en chaleurs. De même, la manifestation d'une chaleur par un animal auparavant confirmé gestant ne constitue pas nécessairement la preuve d'une interruption de gestation. Pour interpréter la fréquence de la mortalité embryonnaire tardive, il nous

semble donc important de considérer non seulement le stade de gestation auquel le diagnostic précoce a été posé mais également la méthode et le délai utilisés pour en établir le diagnostic tardif.

Déterminées par *abattage des animaux* au cours des 35 premiers jours de la gestation, les pertes imputables à la mortalité embryonnaire sont comprises entre 10 et 36 % chez les animaux normaux (Bearden et al. 1956, Kidder et al. 1954, Boyd et al. 1969, Ayalon 1978) et entre 24 et 72 % chez les animaux repeat-breeders (Tanabe et Almquist 1953, Tanabe et Casida 1949, Hawk et al. 1955, O'Farrell et al. 1983). Les *récoltes d'embryons* réalisées vers le 7<sup>ème</sup> jour de gestation estiment entre 7 et 16 % le nombre d'embryons dégénérés (Diskin et Sreenan 1980, Roche et al. 1981, Maurer et Chenault 1983, Ayalon 1981).

Le degré d'exactitude d'un diagnostic précoce (J21 à J24) de gestation par *dosage de la progestérone* est compris entre 75 et 85 % (Booth et Holdsworth 1976, Dobson et Fitzpatrick 1976, Gowan et Etches 1979, Heap et al. 1976, Hoffman et al. 1976, Pennington et al. 1976, Pope et al. 1976, Shemesh et al. 1978). Des suivis journaliers ou bi voire trihebdomadaires de la progestéronémie au cours des premières semaines de la gestation sont venus par ailleurs confirmer que la fréquence de la mortalité embryonnaire au cours des 40 à 50 premiers jours de la gestation était comprise entre 12 et 23 % (Franco et al. 1987, Bulman et Lamming 1979, Gowan 1982).

Evaluées sur base d'un diagnostic précoce de gestation par *échographie*, la fréquence de la mortalité embryonnaire serait selon les études comprises entre le 1<sup>er</sup> et le 3<sup>ème</sup> mois de gestation entre 2 et 30 % (Humblot et Thibier 1984, Kastelic et al. 1989, Badtram et al. 1991, Pieterse et al. 1990, Chaffaux et al. 1986, Taverne et al. 1985, Hanzen et Delsaux 1987, Willemse et Taverne 1989, Hanzen et Laurent 1991). De même entre le 2<sup>ème</sup> et le 5<sup>ème</sup> mois de gestation, la fréquence d'interruption de la gestation évaluée par l'association d'un diagnostic manuel précoce et tardif de la gestation est comprise entre 1 et 31 % (Thurmond et Picano 1993b, Abbott et al. 1978, Alexander et al. 1995, White et al. 1989, Paisley et al. 1978, Warnick et al. 1995, Lopez-Gatius et al. 1996, Franco et al. 1987, Vaillancourt et al. 1979).

### 3.1.3.2. Manifestations cliniques

Les manifestations cliniques de la mortalité embryonnaire et par conséquent la possibilité d'en faire le diagnostic dépendent étroitement du moment de son apparition. Cliniquement il semble logique de distinguer la mortalité embryonnaire précoce de la mortalité embryonnaire tardive. La première ferait référence à la période pour laquelle on ne dispose d'aucun moyen de diagnostic de gestation soit environ les 20 premiers jours suivant l'insémination. La seconde concernerait la période pendant laquelle peuvent être mises en place des méthodes de confirmation de gestation, qu'elles soient hormonales (progestérone, PAG, PSPB), échographique ou manuelles. Il semble donc opportun d'envisager séparément le devenir clinique d'une mortalité embryonnaire précoce et tardive.

Les conséquences cliniques d'une mortalité embryonnaire précoce sont non seulement frustres mais étroitement dépendantes du moment de son apparition et plus précisément de la possibilité pour l'embryon d'avoir ou non eu le temps de synthétiser le signal inhibiteur de la lutéolyse. Ainsi une mortalité embryonnaire observée avant le 14<sup>ème</sup>-16<sup>ème</sup> jour de gestation ne modifie pas la longueur du cycle. A l'inverse, observée naturellement ou induite par l'ablation chirurgicale de l'embryon après le 14<sup>ème</sup>-16<sup>ème</sup> jour suivant l'insémination elle se traduit par un allongement de 5 à 10 jours du cycle voire par une absence de retour en chaleurs de l'animal (Humblot et Dalla-Porta 1984, Betteridge et al. 1980, Martal et al. 1979, Laing 1949, Wiltbank et al. 1956). Cette seconde possibilité est davantage rencontrée chez des génisses normales que chez des génisses repeat-breeders dont les embryons présentent plus fréquemment un retard de développement et des altérations morphologiques du bouton embryonnaire (Albihn et al. 1991). Cette observation est importante puisque la capacité de production de la trophoblastine dépend de la taille de l'embryon, celle-ci devant être acquise à un moment bien particulier et peut être influencée par différents facteurs dont en particulier le stress thermique (Biggers et al. 1987). Ainsi, seuls les embryons ayant une taille supérieure à 15 mm entre le 15<sup>ème</sup> et le 17<sup>ème</sup> jour de gestation sont chez la vache capable de synthétiser la trophoblastine de type 1 (Geisert et al. 1988).

L'échographie et les suivis hormonaux ont permis de préciser le devenir de l'embryon et des liquides embryonnaires lors d'une mortalité embryonnaire tardive observée naturellement ou induite manuellement ou pharmacologiquement. L'absence de battements cardiaques constitue le signe le plus évident d'une mortalité embryonnaire (Kahn et Leidl 1989, Pierson et Ginther 1984b, Curran et al. 1986b). Celle-ci est habituellement précédée d'une diminution de la fréquence cardiaque.

Le devenir de l'embryon et de ses annexes va dépendre du fait que la mortalité embryonnaire précède ou non la régression lutéale. La mort naturelle de l'embryon ou induite par une injection intra-utérine de colchicine ou par un écrasement manuel de la vésicule embryonnaire s'accompagne d'une régression lutéale dont la durée moyenne est de 3 jours mais peut être de 42 jours (Kastelic et al. 1991). Il s'en suit la possibilité d'une rétention prolongée de l'embryon et de ses enveloppes qui dans ce cas prennent un aspect dégénéré (mortalité embryonnaire primaire) (Dawson 1974 phc 1551, Ball et Carroll 1963, Parmigiani 1978, Kassam et al. 1987). A l'inverse, l'injection d'une prostaglandine 24 jours (Kastelic et Ginther 1989), 40 jours (Kosugiyama et al. 1978), 29 à 52 jours (Millar 1974) ou 35 à 70 jours (Lindell et al. 1980/1981) après l'insémination ou une mortalité embryonnaire spontanée faisant suite à une régression lutéale (Kastelic et al. 1991) se traduit habituellement par l'expulsion dans les quelques jours suivants d'un embryon non dégénéré et de ses enveloppes (mortalité embryonnaire secondaire). Dans les deux cas cependant, l'embryon et ses enveloppes sont plus fréquemment expulsés au travers du col utérin que résorbés (Kastelic et Ginther 1989). Il semblerait donc que le phénomène de résorption souvent évoqué soit erroné.

Sur le plan hormonal, l'injection d'une prostaglandine ou l'induction artificielle d'une infection utérine au moyen d'*Actinomyces pyogenes* s'accompagne d'une diminution de la concentration plasmatique de la PSPB. La progestéronémie diminue brutalement après l'injection d'une prostaglandine mais se maintient à un niveau élevé pendant une vingtaine de jours après l'administration d'*Actinomyces pyogenes* (Semambo et al. 1992). Lors de mortalité embryonnaire tardive spontanée, la progestéronémie diminue 3 à 42 jours plus tard (Kastelic et al. 1991, Kassam et al. 1987). Cette diminution s'accompagne dans 60 % des cas de celle de la PSPB. L'absence de corrélation entre ces deux hormones implique donc la détermination simultanée de leurs concentrations pour contrôler une mortalité embryonnaire (Humbot et al. 1988). La mortalité embryonnaire ne s'accompagne d'aucune libération importante de prostaglandine F2alpha (Kassam et al. 1987).

### 3.3.2. Facteurs étiologiques

Ils sont présentés de manière synthétique dans le tableau 7.

#### 3.2.3.1. Facteurs propres à l'embryon

##### a. Les anomalies chromosomiques

Les anomalies chromosomiques (délétion, duplication) peuvent être hérétées ou acquises au cours de la gamétogénèse, de la fécondation (polyspermie, absence d'expulsion du globule polaire) ou de l'embryogenèse (formation d'un nombre excessif supérieur à 25 % de cellules polyploïdiques) (King 1985, Hare et al. 1980). Ainsi, les traitements de superovulation augmentent le risque de polyspermie, celle-ci apparaissant plus fréquemment après injection de PMSG que de FSH (King 1985).

La fréquence des anomalies caryotypiques (translocations, mutations) d'embryons produits in vivo et analysés avant le 18<sup>ème</sup> jour de gestation serait en moyenne de 10 % (7 à 36 %) (King et al. 1990, King et al. 1995). Elles concernent le plus souvent les embryons âgés de moins de 7 jours. Cette fréquence diminue avec l'âge de l'embryon, preuve indirecte de leur implication dans la mortalité embryonnaire, celle-ci pouvant être considérée comme un élément régulateur essentiel des embryons anormaux (King et al. 1990, Iwasaki et al. 1992). Elles représenteraient une des causes majeures de mortalité embryonnaire et fœtale.

Les translocations 1/29 et 7/21 sont les principales décrites dans l'espèce bovine (King 1991, Hanada et al. 1981, Gustavsson et Rockborn 1964, Gustavsson 1979). La translocation 1/29 est héritable

(Langhammer et Schwerin 1985) et commune à de nombreuses races de bovins mais plus particulièrement aux races Pie Rouge suédoise, Charolaise et Simmenthal (Gustavson 1979). Comme la translocation 7/21 (Hanada et al. 1995), elle entraîne une réduction de 3 à 8 % de la fertilité (Langhammer et Schwerin 1985, Maurer et Vogt 1988) mais se traduit davantage encore par une mortalité embryonnaire que par une absence de fécondation (Schmutz et al. 1991). Résultant d'une ségrégation anormale des chromosomes au cours de la méiose, elle entraînerait la formation d'un chromosome submétacentrique suite à la fusion de deux chromosomes non homologues acrocentriques (1 et 29) (King et al. 1991). Les bovins homozygotes ou hétérozygotes pour cette translocation aurait respectivement 58 ou 59 chromosomes. Récemment, une étude caryotypique plus spécifique d'embryons au jour 5, obtenus par fécondation *in vitro* a identifié un taux de développement plus lent des embryons haploïdes ou polyploïdes que des embryons mixoploïdes (embryons avec des blastomères de ploïdies différentes) ou diploïdes (Kawarsky et al. 1996).

Diverses mutations au niveau des gènes de contrôle du développement peuvent également être responsables de la mortalité de l'embryon (Viuff et al. 1994). Dans ce contexte, l'origine du père exercerait une influence certaine (Coleman et al. 1987, Ley 1985). Semblable influence a également été observée chez la brebis à l'encontre de la synthèse de trophoblastine (Vallet et Bazer 1988). Plus spécifiquement, il a été démontré qu'une déficience en uridine-monophosphate-synthétase, élément régulateur de la synthèse des acides nucléiques, génétiquement déterminée par un gène autosomal récessif pouvait être responsable de mortalité embryonnaire concernant le plus souvent des embryons homozygotes avant le 40<sup>ème</sup> jour de gestation (Shanks et al. 1992, Shanks et Robinson 1989). Deux pourcents des vaches Holsteins seraient hétérozygotes (Robinson et al. 1984, Shanks et al. 1987). Il n'est pas exclu de penser que les manipulations engendrées par la fécondation *in vitro* puissent également être responsable d'une augmentation des anomalies chromosomiques (King 1985, Iwasaki et al. 1992).

*b. Le sexe de l'embryon*

Le sexe du foetus est déterminé au moment de la fécondation, son expression n'apparaissant que beaucoup plus tard. Une capacité de développement dépendante du sexe a été démontrée chez les embryons bovins produits *in vivo* et *in vitro*. Les embryons de sexe mâle se développeraient plus rapidement que ceux de sexe femelle tout au moins jusqu'au stade de blastocyste (Avery 1989, Avery et al. 1989, Xu et al. 1992, Yadav et al. 1993). En effet, 95 % des embryons sexés au 7<sup>ème</sup> jour de gestation se révèlent être des mâles (Avery et al. 1991). De même, les embryons de sexe femelle seraient plus sensibles à une biopsie réalisée en vue de la détermination du sexe (Gutierrez et al. 1995).

L'absence de différences significatives du sex-ratio habituellement rapportée à l'encontre des veaux nouveau-nés laisse supposer que les embryons de sexe mâle seraient davantage exposés à une mortalité embryonnaire ou fœtale (Berg et al. 1992).

*c. Le nombre d'embryons*

Dans l'espèce bovine, la double ovulation s'observe dans 75 % des cas sur le même ovaire (Hanranhan 1983). Elle s'accompagne ou non, en cas de gestation (Sreenan et Diskin 1989), d'un plus grand risque de mortalité embryonnaire (Gordon et al. 1962, Rowson et al. 1971, Erb et Morrison 1959, Day et al. 1995). Celle-ci est plus fréquente si les deux gestations se développent dans la même corne utérine (Day et al. 1995) et davantage encore si la corne droite est concernée (Echterkamp et al. 1990). Chez la brebis, la mortalité embryonnaire est plus fréquente chez les femelles qui présentent deux ou plus de deux ovulations surtout si celles-ci concernent le même ovaire (Willingham et al. 1986, White et al. 1981, Casida et al. 1966). D'autres auteurs ont fait cependant des observations inverses (Doney et al. 1973). Il est intéressant d'observer que dans l'espèce ovine la migration utérine d'un embryon est beaucoup plus fréquente lorsque les deux ovulations sont observées sur le même ovaire que sur des ovaires différents (Scanlon 1972). Par ailleurs, il n'est pas exclu que les changements de présentation du ou des foetus en cours de gestation puissent également être à l'origine de pertes embryonnaires et ou fœtales (Reimers et al. 1973).

Le transfert d'embryons offre une méthode alternative intéressante à l'augmentation du nombre de

veaux produits par un même animal donneur. Il est couramment admis que le transfert chirurgical ou non de deux embryons entraîne un taux de gestation supérieur à celui obtenu par le transfert d'un seul embryon (36 à 67 % vs 60 à 91 %) (Renard et al. 1977, Brand et al. 1977, Heyman et al. 1977, Renard et al. 1978, Heyman 1985). Semblable observation a été faite après transfert de trois embryons (Izaike et al. 1991). Cependant, le nombre d'embryons perdus est proportionnel au nombre d'embryons transférés. Ainsi, trois mois après le transfert de deux ou de trois embryons à des receveuses, le pourcentage d'embryons encore présents était respectivement de 37% et de 30%. La perte de tous les embryons transférés est plus fréquemment observée après le transfert de trois (23 % des cas) que de deux embryons (29 % des cas) (Izaike et al. 1991). De même, le taux de survie des embryons transférés dans la corne contralatérale au corps jaune est habituellement inférieur (31 à 39 %) à celui observé à l'encontre des embryons transférés dans la corne ipsilatérale (46 à 69 %) (Heyman et al. 1977, Tervit et al. 1977, Kastelic et al. 1991, Christie et al. 1979, Del Campo et al. 1983). Ce fait a été imputé au mécanisme local de l'effet antilutéolytique de l'embryon (Christie et al. 1979).

Tant chez la souris et la lapine que la truie on a observé une réduction de la taille de la portée avec l'âge de l'animal (Talbert et Krohn 1966, Adams 1970, Gosden 1979, Hill et Webb 1982). Chez la souris, cette observation a été imputée à une modification de la vascularisation et du contenu en collagène de l'endomètre. Chez la truie, espèce polytocique, la taille de la portée dépend bien sûr du nombre d'ovulations mais également de l'espace utérin dévolu à chaque embryon ou foetus (Wu et al. 1987), l'effet réducteur sur le nombre d'embryons se manifestant surtout après le 35<sup>ème</sup> jour de gestation. Ainsi, jusque 14 embryons, la taille de la portée dépend surtout du nombre d'ovulations. Au delà de ce nombre, elle est davantage fonction de la longueur de l'utérus (Wu et al. 1989). Il est également intéressant de noter que dans cette espèce, la position de l'embryon dans la corne utérine peut hypothéquer son devenir. Ainsi, les embryons localisés à l'extrémité des cornes ont davantage d'espace que ceux localisés à leur base. Ceci explique sans doute pourquoi l'incidence des momifications fœtales est plus grande dans le tiers inférieur que supérieur de la corne (Dziuk et Hentzel 1977). Chez la brebis, il existe une relation entre le nombre et le poids des cotylédons et le poids de l'agneau (Alexander 1964), les agneaux simples sont plus lourds que les jumeaux et ceux-ci le sont davantage que les triplés (Bradford et al. 1986).

### 3.2.3.2. Facteurs parentaux

#### a. Facteurs paternels

Diverses publications ont fait état de l'effet négatif exercé par un sperme de mauvaise qualité sur le risque de mortalité embryonnaire précoce (Courot et Colas 1986, Dejarnette et al. 1992, Setchell et al. 1988). De même l'influence du taureau sur le développement embryonnaire a été observé dans diverses expériences de fécondation *in vivo* (Coleman et al. 1987, Miller et al. 1982) et *in vitro* (Eyestone et First 1989b, Hillery et al. 1990, Shi et al. 1990). Le rôle des spermatozoïdes accessoires a été démontré (Saacke et al. 1991).

Le taureau serait sans effet sur la fréquence de la mortalité embryonnaire tardive évaluée par le taux de non-retour entre 25 et 35 jours (Humblot et Denis 1986, Mares et al. 1961, Bar Anan et al. 1979) ou par un suivi progesteronique (Ball 1978). D'autres auteurs ont fait des observations inverses (Wijeratne 1973, Bulman 1979).

#### b. Facteurs maternels

##### ● L'environnement de l'oviducte

L'oviducte et plus particulièrement la jonction utéro-tubaire est le siège de la fécondation et des premières étapes du développement embryonnaire jusqu'au stade 8 à 16 cellules, atteint vers le 2<sup>ème</sup>-3<sup>ème</sup> jour de gestation. Son rôle a particulièrement été identifié dans le cadre de la fécondation *in vitro*, la levée du blocage au stade 8-16 cellules ne pouvant être obtenu que par une coculture avec les cellules de l'oviducte (Eyestone et First 1989a). Il exerce également un rôle essentiel dans le cadre de la

migration des embryons. En effet, lors de superovulation, l'augmentation du nombre d'embryons dégénérés récoltés a été imputée à leur passage trop rapide dans l'utérus suite à une accélération de leur transport dans l'oviducte sous l'effet de l'augmentation trop précoce de la progestérone synthétisée par des follicules prématûrement lutéinisés (El Banna et Hafez 1970).

Plusieurs dizaines de protéines et facteurs de croissance ont été identifiés dans le liquide tubaire, mélange de transsudat sanguin et de sécrétions des cellules épithéliales (Malayer et al. 1988, Gerena et Killian 1990). Leur rôle mitotique sur les premiers stades du développement embryonnaire a été suggéré (Gandolfi et al. 1989, Gandolfi et al. 1992, Gandolfi 1994). Par ailleurs, on a identifié dans l'oviducte des concentrations en ions, vitamines et acides aminés (taurine, glycine) fort différentes des concentrations plasmatiques (Leese 1988). Cependant, à ce jour l'addition dans le milieu de culture de facteurs de croissance n'a pas eu les résultats espérés (Flood et al. 1993).

Ces découvertes jointes à celles relatives au métabolisme énergétique de l'embryon (Rieger 1992) offrent des perspectives intéressantes dans la compréhension du développement *in vitro* des embryons.

- L'environnement utérin

Réalisant des transferts croisés d'embryons entre donneuses et receveuses repeat-breeders et normales Tanabe conclut à l'importance plus grande du milieu utérin que de l'origine de l'embryon. (Tanabe et al. 1985).

Les recherches relatives aux relations existantes entre l'environnement utérin et l'embryon ont essentiellement concerné les protéines d'origine endométriale et embryonnaires. Cependant, de nombreuses inconnues subsistent encore et seul le rôle de quelques unes d'entre elles a été approché. Ainsi, la phosphatase alcaline a été impliquée dans les interactions endomètre-trophoblaste observées entre le 22<sup>ème</sup> et le 24<sup>ème</sup> jour de gestation (Leiser et Wille 1975). Plus récemment, on a observé une augmentation de la concentration endométriale d'une synthétase entre le 15<sup>ème</sup> et le 18<sup>ème</sup> jour de gestation (Schmitt et al. 1993). De même, une protéine de liaison dont la synthèse est stimulée par la progestérone a été rendue responsable du transfert à l'embryon du rétinol (Thomas et al. 1992). Des facteurs de croissance tels que l'IGF I et II (Insulin Growth Factors) ont été isolés dans le liquide de lavage utérin d'animaux gestants et non-gestants (Geisert et al. 1991).

Les protéines d'origine embryonnaire ont fait l'objet de davantage d'études en particulier celles impliquées dans le mécanisme de reconnaissance de la gestation telles la trophoblastine (Thatcher et al. 1989) et les interférons (Roberts et al. 1992).

Etudiant la composition du milieu utérin au 7<sup>ème</sup> jour de la gestation, Wiebold rapporte une augmentation significative du glucose, des protéines totales, du calcium, du magnésium et du potassium lorsqu'un embryon dégénéré était récolté. De même, il observe une tendance à l'augmentation du zinc et du phosphore (Wiebold 1988 phc 8141). Ayalon rapporte également une augmentation du calcium, du phosphore, du potassium et du zinc en cas d'embryons dégénérés mais n'observe pas de modifications de la concentration en protéines (Ayalon 1978). Chez les animaux repeat-breeders, on a observé des concentrations utérines plus faibles en protéines, sodium, phosphore et glucose mais plus élevées en calcium, potassium et magnésium que chez les animaux normaux (Lamothe et Guay 1970).

- La race et l'âge de l'animal

Plusieurs études ont confirmé il y a de nombreuses années déjà l'absence de relations entre la race et la fréquence de la mortalité embryonnaire (Casida 1950, Kidder et al. 1954, Boyd 1965). Cependant plusieurs auteurs ont confirmé l'effet négatif exercé par l'inbreeding sur la fréquence de la mortalité embryonnaire (Mares et al. 1961, Conneally et al. 1963).

L'effet de l'âge de l'animal sur les pertes embryonnaires et fœtales a rarement été décrit. Il est vrai que ce genre d'étude comporte un biais important, à savoir le faible pourcentage, parmi les vaches âgées, des animaux qui ont déjà présenté un avortement. En effet, le plus souvent cette pathologie s'accompagne de la réforme de l'animal (Thurmond et al. 1990, Thurmond et Picano 1993a).

Selon les études, la mortalité embryonnaire est plus fréquente chez les primipares (Erb et Holtz 1958) ou chez les vaches avec plus de 5 lactations (Boyd et Reed 1961, Ball 1978) que les vaches entre la deuxième et la quatrième lactation. D'autres études confirment la plus grande fréquence d'avortements

chez les vaches âgées de 3 et 4 ans (Mitchell 1960, Withers 1957). Semblable corrélation avec l'âge n'a pas été observée par d'autres auteurs (Erickson et al. 1976).

### ***3.2.3.3. L'insémination artificielle***

La fréquence de la mortalité embryonnaire est 4 fois plus élevée chez les animaux inséminés plus de trois fois que chez les autres (20.3 % vs 5.2 %) (Vaillancourt et al. 1979). Wijeratne observe également une augmentation de la mortalité embryonnaire avec le numéro d'insémination, que les animaux aient été inséminés avec du sperme frais ou congelé (Wijeratne 1973). De même, le pourcentage d'embryons dégénérés ou anormaux est significativement plus élevé chez des génisses repeat-breeders que chez des génisses normales (Linares 1981/1982, Gustafsson 1985).

De même, le moment de l'insémination par rapport à l'ovulation revêt une certaine importance et remet ce faisant en exergue l'importance de la qualité de la détection des chaleurs. En effet, réalisant un suivi échographique journalier du moment de l'ovulation (JO), Kastelic observe une fréquence plus élevée de mortalité embryonnaire entre le 29<sup>ème</sup> et le 32<sup>ème</sup> jour de gestation parmi les animaux inséminés deux jours avant l'ovulation (3/40) que le jour précédent l'ovulation (0/96) (Kastelic et al. 1991).

### ***3.2.3.4. Les biotechnologies de la reproduction : la fécondation in vitro***

#### ***a. La fécondation in vitro : interprétation des résultats et conséquences***

A ce jour, les taux de gestation observés après transfert d'embryons frais ou congelés obtenus après fécondation in vitro d'ovocytes prélevés sur des ovaires d'animaux abattus ou par ponction échoguidée (Greve et Madison 1991, Brackett et Zuelke 1993, Hanzen et Goffin 1998) sont comparables voire légèrement inférieurs à ceux rencontrés après transfert d'embryons récoltés in vivo (Takada et al. 1991, Reichenbach, 1992a, 1992b, Xu et al. 1987, Looney et al. 1994). Une publication récente a fait le point sur les résultats de la fécondation in vitro. Selon les conditions expérimentales, la fertilisation d'ovocytes obtenus par ponction d'ovaires prélevés après abattage des animaux, s'observe dans 41 à 76 % des cas et le stade morula ou blastocyste est atteint dans 12 à 20 % des cas (Brackett et Zuelke 1993). Ces résultats sont comparables à ceux obtenus après prélèvement des ovocytes par ponction échoguidée des follicules puisqu'en moyenne 15 % (3 à 41 %) des ovocytes mis en maturation atteignent le stade de morula ou de blastocyste (Hanzen et Goffin 1998).

Force est cependant de constater que les études comparatives conduites dans des environnements contrôlés sont rares. Des différences existent et leurs raisons sont multiples. Tout d'abord, les embryons obtenus in vivo et in vitro présentent des caractéristiques morphologiques et physiologiques fort différentes (Pollard et Leibo 1994, Brackett et Zuelke 1993, Hackett et al. 1993, Wright et Ellington 1995). Par exemple, la densité moindre des embryons produits in vitro les rend plus sensibles à la congélation (Pollard et Leibo 1994). Ces différences peuvent également résulter de la qualité fort variable des gamètes mâles et femelles utilisés mais également de la difficulté de définir un milieu optimal de maturation des ovocytes et de développement des premiers stades embryonnaires (Hackett et al. 1993). De même, l'interruption de la gestation pendant la période embryonnaire ou fœtale est plus fréquente après le transfert d'embryons obtenus in vitro ou par clonage (20 %) qu'in vivo (5 %) (Betteridge et Loskutoff 1993, Kruip et Den Haas 1997) et surtout si les embryons obtenus in vitro ont été congelés (Ishimori et al. 1993, Massip et al. 1983, Zhang et al. 1993).

Il importe également que soient davantage précisés voire harmonisés les critères d'évaluation de la qualité des ovocytes et des embryons, condition préalable à l'interprétation et à la comparaison des résultats obtenus. Classiquement, la qualité des ovocytes est déterminée par examen microscopique en se référant à des critères morphologiques tels que le degré de compacité des cellules du cumulus ou encore l'homogénéité et l'opacité du cytoplasme de l'ovocyte (De Loos et al. 1989, Hazeleger et al. 1995). Celle des embryons peut être évaluée par coloration (Purcell et al. 1985), par la mesure de son activité enzymatique (O'Fallon et Wright 1986), ou de sa capacité à absorber le glucose (Brinster 1968) ou encore par des critères ultrastructurels tel l'aspect du réticulum endoplasmique (Hytte et Nieman 1990). Cependant, pour des raisons pratiques évidentes, cette évaluation fait appel à des critères

morphologiques (Lindner et Wright 1983, Shea 1981) tels que la forme de l'embryon, la couleur du cytoplasme, le nombre et le degré de compaction des cellules, la taille de l'espace perivitellin, le nombre de cellules dégénérées, la fréquence et la taille des vésicules cytoplasmiques. Ces critères permettent de vérifier en fait que l'embryon a atteint un degré de développement correspondant au stade de gestation. En effet, chez les bovins, un asynchronisme de 3 jours ou plus se traduit par une réduction du pourcentage de gestation après transfert (Elsden et al. 1978).

Initialement 4 catégories de qualité d'embryon ont été distinguées. L'embryon excellent est sphérique avec des cellules de taille, de couleur et d'aspect comparables, L'embryon dit de bonne qualité est fort semblable et ne présente que quelques blastomères de forme irrégulière et très peu de vésicules cytoplasmiques. L'embryon de qualité moyenne ne présente que peu de problèmes si ce n'est la présence de vésicules dans des cellules dégénérées. L'embryon de mauvaise qualité se caractérise par un nombre important de blastomères dégénérés, des cellules de taille variable et un grand nombre de vésicules. Transférés à des animaux receveurs, le taux de gestation est respectivement de 45, 44, 27 et 20 % (Lindner et Wright 1983). En l'absence de différence significative entre les embryons de classe 1 et 2, un système de classification en trois classes a été proposé, bon, moyen et mauvais (Farin et Farin 1995). Ces systèmes d'évaluation, bien qu'en partie subjectifs, sont néanmoins étroitement corrélés avec le taux de gestation (Hasler et al. 1987, Lindner et Wright 1983 inn10870). Ainsi, après le 42<sup>ème</sup> jour de gestation, le pourcentage d'avortements est plus élevé après le transfert d'un embryon de mauvaise (7,7 %) que de bonne (4 %) qualité (Callesen et al. 1992).

Les conséquences de l'obtention d'un embryon obtenu *in vitro* sur son développement ultérieur jusqu'au stade fœtal voire néonatal commencent à être étudiées (Walker et al. 1996). Dans l'espèce ovine, cette méthode de reproduction se traduit par un allongement significatif de la durée de la gestation et du poids de l'agneau (Walker et al. 1992, Holm et al. 1994). Dans l'espèce bovine, les embryons de classe 1 obtenus *in vitro* présentent plus fréquemment de la mortalité embryonnaire que les embryons morphologiquement de même qualité, produits *in vivo*. Par ailleurs, leur durée de gestation est plus longue. De même, à 7 mois leur poids est 17 % plus élevé et leurs mensurations squelettiques sont disproportionnées par rapport à leur poids corporel. Enfin, bien que comparables en couleur et aspect, le nombre des cotylédons est moindre comparé au poids corporel des foetus (Farin et Farin 1995). Cette observation n'est pas sans relation avec l'effet multiplicateur sur le bouton embryonnaire rapporté à l'encontre d'embryons bovins (Iwazaki et al. 1990) ou porcins (Papaionnaou et Ebert 1988) transférés dans des oviductes de rongeurs.

*b. Facteurs propres à l'ovocyte*

L'embryon acquiert avant la fécondation sa capacité à se développer. Les techniques de prélèvement *in vivo* d'ovocytes en vue de leur maturation et fécondation *in vitro* ultérieures ont mis en exergue l'importance de divers facteurs susceptibles d'influencer la qualité des follicules ponctionnés et dès lors celle de l'ovocyte qu'ils renferment mais surtout sa capacité à être fécondé et à produire un embryon de qualité normale. On sait par exemple que la maturation nucléaire est plus rapide *in vitro* qu'*in vivo* (King et al. 1986). Au nombre de ces facteurs, il est important de mentionner de manière prioritaire le stade du cycle auquel le prélèvement est réalisé, l'état corporel et l'âge des animaux prélevés. Ainsi, l'état de sous-nutrition des animaux prélevés, réduit la qualité du développement ovocytaire et embryonnaire (Lopez Ruiz et al. 1996, Dominguez 1995). Aucun effet de l'âge ne semble à ce jour avoir été démontré (Katska et Smorag 1984, Revel et al. 1995) pour autant que les animaux soient âgés de plus de 6 à 8 mois (Duby et al. 1996). Le stade du cycle a davantage d'importance. La capacité de développement jusqu'au stade de blastocyste est plus grande pour des ovocytes prélevés en milieu qu'en fin ou en début de cycle (Machatkova et al. 1995). De même, la présence d'un corps jaune sur l'ovaire ponctionné influencerait favorablement la qualité du développement embryonnaire (Thonon et al. 1993) mais serait sans influence sur celle de la maturation ovocytaire (Fukui et Sakuma 1980).

Plus spécifiquement, le potentiel de développement des ovocytes prélevés dans des follicules de diamètre égal ou supérieur à 6 mm est plus grand que s'ils ont été prélevés au sein de follicules de taille inférieure (Mc Caffrey et al. 1992). Cette observation est complémentaire du fait qu'à la différence des

ovocytes maturés *in vivo* dans le follicule, les ovocytes prélevés au sein de follicules immatures ne peuvent être fertilisés que si leur maturation est réalisée en présence de cellules folliculaires et d'hormones appropriées (Leibfreid-Rutledge et al. 1989). L'importance de l'environnement hormonal préalable se trouve conforté par le fait que les traitements de superovulation sont susceptibles de le modifier et dès lors d'influencer négativement la qualité des ovocytes et des embryons obtenus (voir *infra*) (Greve et al. 1989). De même, certains cas de repeat-breeding chez les génisses s'expliqueraient indirectement par l'allongement de l'intervalle entre le début de l'oestrus et le pic de l'hormone LH et par la libération insuffisante de cette hormone (Gustafsson et al. 1986, Erb et al. 1976, Maurer et Echterkamp 1982).

Le clonage constitue une méthode intéressante pour multiplier le potentiel génétique d'un animal. Il suppose le recours à des ovocytes receveurs obtenus *in vivo* ou *in vitro*. La méthode d'obtention de l'ovocyte est sans influence sur le pourcentage de développement après inoculation d'un noyau embryonnaire (Barnes et al. 1993, Yang et al. 1993). Cependant, le taux de reprise du développement apparaît être moindre si l'embryon a été obtenu *in vitro* plutôt qu'*in vitro* (Heyman et al. 1994, Yang et al. 1993).

### 3.2.3.5. Les facteurs biologiques

#### a. Données cliniques

De nombreuses études ont été consacrées aux germes spécifiques et non-spécifiques du tractus génital au cours du post-partum, chez les repeat-breeders, lors d'endométrites ou d'avortements (Bartlett et al. 1986, Chaffaux et al. 1991, Cohen et al. 1995, Dohoo et al. 1984, Eaglesome et al. 1992a, 1992b, Griffin et al. 1974a, 1974b, Hussain et al. 1990, Hartigan 1977, Olson et al. 1984, Vallet et al. 1987).

Quelques publications ont fait état d'une relation entre la manifestation par l'animal d'une pathologie utérine et la possibilité d'une interruption de la gestation. Ainsi, parmi les 15 cas d'interruptions de gestation observés au cours des 100 premiers jours suivant la fécondation, 73 % des animaux avaient été traités pour endométrites, cervicites, repeat-breeding ou avaient présenté un cycle allongé (Paisley et al. 1978). Une étude plus récente observe également une multiplication par 2,6 et 1,8 du risque d'interruption de gestation entre le 42<sup>ème</sup> et le 150<sup>ème</sup> jour respectivement chez les animaux qui ont présenté un pyomètre ou une rétention placentaire, la manifestation par l'animal d'un kyste ovarien ou de repeat-breeding étant sans effet (Lopez-Gatius et al. 1996).

L'implication directe des germes spécifiques et surtout non-spécifiques n'a fait l'objet que de quelques publications au demeurant fort contradictoires. Ainsi, une mortalité embryonnaire est-elle observée dans les 6 jours suivant l'injection expérimentale d'*Actinomyces pyogenes* entre le 27<sup>ème</sup> et le 41<sup>ème</sup> jour de gestation (Semambo et al. 1991). De même, l'inoculation d'*Haemophilus somnus* à des génisses superovulées entraîne une diminution du nombre d'embryons récoltés et une réduction de leur capacité à se développer en culture (Kaneene et al. 1986, 1987). L'injection intraveineuse de ce germe est susceptible d'induire une mortalité embryonnaire ou un avortement (Widders et al. 1986). Par contre, aucune *Brucella abortus* n'est retrouvée dans le liquide de récolte de vaches, brucelliques ou inoculées, superovulées (Stringfellow et al. 1982, Voelkel et al. 1983). L'administration intra-utérine de *Leptospira interrogans hardjo* n'induit aucun signe d'infection utérine (Vahdat et al. 1983), ni ne diminue le taux de gestation (Whitmore 1985).

Les études cliniques ou expérimentales relatives à *Mycoplasma* ont apporté des conclusions opposées (Hirth et al. 1970, Erno et Philips 1969). L'exposition *in vitro* d'embryons à *Ureaplasma diversum* n'en induit aucune altération visible (Britton et al. 1988). L'injection expérimentale par voie intraveineuse du virus *BHV-1* à des génisses séronégatives 7 à 14 jours après l'insémination induit une mortalité embryonnaire (Miller et Van der Maaten 1986, 1987), conséquence possible d'une atteinte endométriale, embryonnaire (Bowen et al. 1985) ou lutéale (Miller et Van der Maaten 1985). L'administration intra-utérine au moment de l'insémination (Grahn et al. 1984) ou en début de gestation (Archbald et al. 1979) du virus de la maladie des muqueuses (BVD) induit une diminution du pourcentage de fécondation et augmente celui d'embryons dégénérés, conséquence résultant davantage d'une atteinte endométriale qu'embryonnaire (Donis 1988).

b. Transmission par la fécondation in vitro

Le recours de plus en plus fréquent au transfert d'embryons et à la fécondation in vitro pose le problème du rôle potentiel de ces méthodes dans la transmission d'infections virales ou bactériennes et donc dans la mortalité embryonnaire. Le risque semble néanmoins limité eu égard aux résultats des recherches entreprises en ce domaine (Guerin et al. 1997, Singh 1988).

◊ Contamination de l'ovocyte

A ce jour, seule la contamination intracellulaire de l'ovocyte par le parvovirus (Bane et al. 1990) ou par le *Campylobacter fetus* (Bielanski 1994) a été démontrée. La contamination intrafolliculaire de l'ovocyte par *Leptospira hardjo* a également été observée après une induction expérimentale de l'infection (Bielanski et Surujballi 1996). On ne peut néanmoins exclure la possibilité pour certains virus tels le *BVD* (Bielanski et Dubuc 1994b) ou le *BHV-1* (Miller et Van Der Maaten 1984, Miller et Van Der Maaten 1985, Miller et Van Der Maaten 1986, Miller et Van Der Maaten 1987 in 6433, Bielanski et Dubuc 1994a, , Guerin et al. 1989, Singh et al. 1982, Booth et al. 1995, Booth et al. 1992) dans l'espèce bovine, le virus de la scrapie chez les ovins (Foster et al. 1992) et le parvovirus (Bane et al. 1990) ou le virus responsable du PRRS syndrome (Done SH In Pig Reproduction. Problems, practices and principles. Cambac Associates Publication 1999) chez les porcins de pénétrer dans l'ovocyte au moment de la fécondation, leur présence ayant été démontrée dans le liquide folliculaire, les cellules de la granuleuse ainsi que dans l'ovaire, l'oviducte ou l'utérus.

◊ Contamination de l'embryon dans le tractus génital

L'embryon transféré ou non peut être contaminé lors de son transit dans l'oviducte ou la corne utérine par des germes connus pour leur tropisme génital et leur capacité de liaison à la membrane pellucide tels *Brucella*, *Campylobacter*, *Leptospira*, *Vibrio*, *l'Infectious Pustular Vaginitis virus*, *Haemophilus somnus*, *Chlamydia*, *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma bovigenitalium*, *Ureaplasma diversum* (Britton et al. 1988, Kaneene et al. 1986, Kapoor et al. 1989, Rohde et al. 1990, Otoi et al. 1992). En ce qui concerne le prion responsable de la BSE, aucun tropisme génital n'a été démontré à son encontre (Barlow et al. 1990).

◊ Contamination du matériel animal utilisé pour la FIV

Le matériel animal (ovaires, cellules d'oviductes, sperme, sérum) utilisé pour la fécondation in vitro (FIV) peut également constituer une source de contamination des embryons par un virus (Bielanski et al. 1993, Guerin et al. 1988, Guerin et al. 1989, Booth et al. 1992, Avery et al. 1993, Bielanski et Dubuc 1994a, Bielanski et Dubuc 1994b, Rossi et al. 1990).

De même, on ne peut exclure la possibilité que certains virus tels les virus herpès bovins et porcins ou le virus de la stomatite vésiculeuse ou que certaines bactéries comme *Brucella ovis*, *E.Coli*, *M.paratuberculosis*, *Streptococcus spp.* ou *Mycoplasma spp.* puissent rester adhérents et contaminer l'embryon une fois celui-ci sorti de sa membrane pellucide. De même, on sait que certains virus tels le *BVD* ou le *BHV-1* peuvent se fixer aux spermatozoïdes et constituer ce faisant une source d'infection lors de la fécondation in vivo ou in vitro (Bielanski et al. 1993, Guerin et al. 1990). Il est communément admis que la membrane pellucide d'embryons obtenus in vivo constitue une barrière de protection efficace quelle que soit la taille de l'agent causal suspecté et la durée d'exposition. Néanmoins, il n'est pas impossible de penser que la différence de structure et de contenu protéique entre des membranes pellucides obtenues in vivo et in vitro (Riddell et al. 1993) puisse être responsable d'une modification de leur résistance à l'infection (Stringfellow et Wrathall 1995) et que la fécondation in vitro constitue un facteur de risque supplémentaire d'infection et donc de mortalité embryonnaire.

Ces éventualités semblent néanmoins avoir des effets limités. En effet, à l'heure actuelle, l'effet délétère sur la qualité et le nombre d'embryons obtenus n'a été observé que dans des conditions d'infection expérimentale (Bielanski et al. 1993 phc 10914, Wentinck et al. 1991 in 10914) ou après utilisation de sperme provenant d'un taureau infecté de manière persistante par le virus du *BVD* (Guerin et al. 1992). Le risque est limité par le recours à des procédés (gradients de percoll, procédures de swim-up...) visant

à réduire, voire éliminer, les bactéries présentes dans le sperme utilisé pour la fécondation in vitro (Bielanski et al. 1992), par l'addition d'antibiotiques aux milieux de culture (Otoi et al. 1992), par le lavage des embryons au moyen de trypsine, méthode connue pour éliminer les particules virales (Stringfellow et al. 1990, Singh et al. 1982, Gillespie et al. 1990) ou encore par l'utilisation de sérum décontaminés par irradiation (Rossi et al. 1990) ou de substituts de sérum (Seidel et al. 1990, Palasz et al. 1993, Palasz et al. 1995). Semblables précautions peuvent se révéler néanmoins insuffisantes notamment à l'encontre des mycoplasmes et uréaplasmes (Thompson et al. 1988), du parvovirus porcin (Gradil et al. 1994) ou du virus de la stomatite vésiculeuse (Stringfellow et al. 1989), voire du BVD (Bielanski et al. 1992). Par ailleurs, à ce jour, aucun risque de transmission par transfert d'embryon n'a été démontré à l'encontre de la maladies des muqueuses (Mc Vicar et al. 1986, Mebus et al. 1991, Singh et al. 1986), de la leucose enzootique (Bouillant et al. 1981, Eaglesome et al. 1994), de la blue-tongue (Bowen et al. 1983, Thomas et al. 1983), de la brucellose (Barrios et al. 1988, Del Campo et al. 1987, Stringfellow et al. 1988) et du BHV-1 (Thibier et Nibart 1987).

### 3.2.3.6. Facteurs environnementaux

#### *a. L'alimentation*

Il est depuis longtemps connu que les vaches ou génisses qui gagnent du poids pendant la période de reproduction ont un taux de gestation supérieur à celles qui en perdent (Wiltbank et al. 1962). Il a été suggéré qu'une balance énergétique négative se traduirait par une concentration en progestérone plus faible.

La quantité et la qualité des apports protéiques ne sont pas sans conséquences. Ainsi, l'augmentation de protéines dégradables dans le rumen constituerait un risque d'augmentation de la concentration en ammoniacal (Jordan et al. 1983) et donc de l'urée plasmatique et urinaire (Elrod et Butler 1993). Plusieurs études ont confirmé la relation inverse existante entre la fertilité et l'urémie (Kaim et al. 1983, Ferguson et al. 1991, Canfield et al. 1990, Elrod et Butler 1993).

Chez les petits ruminants par contre ces relations ont davantage été étudiées (Ashworth 1995). Les embryons provenant de brebis sous-alimentées sont de moins bonne qualité (Mc Kelvey et al. 1988). Semblable observation a été faite à l'encontre de chèvres receveuses (Mani et al. 1994). A l'inverse, il est bien connu qu'une suralimentation des brebis au début de gestation est habituellement associée à une augmentation de la mortalité embryonnaire (Williams et Cumming 1982). Un excès alimentaire serait responsable d'une augmentation de l'afflux sanguin au niveau du tractus digestif et de l'ovaire (Parr 1992). Ce processus accélérerait le catabolisme de la progestérone. La diminution de la progestéronémie entraînerait une diminution et une modification des polypeptides et autres enzymes synthétisés par l'endomètre et responsables du transport de nutriments au travers du placenta (Ashworth et al. 1989b). L'exemple le plus étudié est la retinol-binding-protein impliquée dans le transport de la vitamine A et sécrétée à la fois par l'embryon (Trout et al. 1991) et l'endomètre (Harney et al. 1993) sous l'influence de la progestérone (Thomas et al. 1992). Un autre exemple fréquemment évoqué est celui des facteurs de croissance et en particulier de l'insuline growth factor (IGF) et de ses protéines de liaisons (Ko et al. 1991).

Les mycotoxines et la zéralénone en particulier ont été à une occasion rendus responsables d'avortements dans l'espèce bovine (Kallela et Ettala 1984). Le gossypol, un composé phénolique trouvé dans les graines de coton et la gossypolone, un de ses principaux métabolites, sont connus pour inhiber le développement embryonnaire in vitro (Zirkle et al. 1988) ainsi que la synthèse de progestérone par les cellules lutéales (Gu et al. 1990, Gu et al. 1991).

#### *b. La température, la saison*

Les variations saisonnières des performances de reproduction doivent être interprétées à la lumière des influences réciproques, au demeurant difficilement quantifiables et donc le plus souvent confondues, exercées par les changements rencontrés au cours de l'année dans la gestion du troupeau,

l'alimentation, la température, l'humidité et la photopériode. Dans les régions tropicales et subtropicales, divers auteurs ont enregistré une diminution de la fertilité au cours des mois d'été coïncidant habituellement avec des périodes prolongées de température élevée (Thatcher 1974, Badinga et al. 1985, Coleman et al. 1985). L'effet de la température sur les performances de reproduction se traduirait par une diminution des signes de chaleurs (Stott et Williams 1962, Vincent 1972), par la diminution de la progestéronémie significativement plus basse selon certains auteurs en été qu'en hiver (Rosenberg et al. 1977) ou par une réduction du taux basal ainsi que de la libération préovulatoire du taux de LH (Madan et Johnson 1973). Chez la vache, Vaillancourt n'observe aucune variation de la fréquence de la mortalité embryonnaire avec la saison. Dans l'espèce ovine, certains auteurs ont constaté une augmentation de la fréquence de la mortalité embryonnaire chez les animaux inséminés en fin de période de reproduction (Asworth et al. 1989a). De même, les brebis exposées à des températures ambiantes élevées donnent naissance à des agneaux de poids plus faible et présentant un plus grand risque de mortalité (Shelton 1964). La cause pourrait résider dans le fait que sous ces conditions, le sang se trouverait davantage dirigé vers la périphérie du corps que vers l'utérus chez la brebis (Reynolds et al. 1985) ou que l'hyperthermie serait responsable d'une diminution de l'appétit des mères (Wetteman et al. 1984).

La température peut également exercer un effet délétère sur la fécondation et la survie de l'embryon. Comparant la qualité des embryons obtenus chez des vaches de race Holstein dans deux environnements thermiques différents (12 à 25°C vs 26 à 39°C), certains auteurs observent une augmentation significative d'ovocytes non fécondés et d'embryons dégénérés lorsque les températures extérieures augmentent (Monty et Racowsky 1987). De même, l'insémination de génisses donneuses d'embryons soumises pendant l'oestrus à un stress thermique de 42°C et à un taux d'humidité de 75 %, réduit de 10 % le taux de fécondation et augmente de 56 % le nombre d'embryons dégénérés (Putney et al. 1989a, 1988d). A l'inverse, l'analyse de la viabilité d'embryons obtenus par superovulation et du pourcentage de gestation obtenu après transfert n'identifie aucun effet de températures extérieures comprises entre 0 et 43°C (Putney et al. 1988a). Comparant les résultats de récoltes d'embryons après inséminations réalisées dans deux environnements thermiques différents (15 à 20°C vs 44 à 53°C), Ryan n'observe pas d'effet négatif de la température sur le pourcentage de fécondation mais constate une augmentation de la fréquence de la mortalité embryonnaire au cours de la première semaine de gestation pendant la saison « froide » et au cours de la deuxième semaine pendant la saison « chaude » (Ryan et al. 1993 phc 10843) confirmant ce faisant les observations réalisées dans des régions tempérées par d'autres auteurs (Diskin et Sreenan 1980, Roche et al. 1981, Geisert et al. 1988).

L'effet de la température semble dépendre de sa durée et du stade de gestation auquel elle s'exerce. In vitro, il a été démontré que l'application aiguë d'un choc thermique (43°C pendant 20 minutes) avant la mise en culture d'embryons récoltés *in vivo* en augmentait le pourcentage de développement. A l'inverse, une coculture de 48 à 60 heures à une température de 40°C contribue à accroître le pourcentage d'embryons dégénérés (Ryan et al. 1992). L'embryon serait davantage sensible à une augmentation de la température au cours des 24 premières heures chez la vache (Ealy et al. 1993) et au cours des 48 premières heures chez la brebis et la truie (Dutt 1961, Omtvedt et al. 1967 in phc 10852). Plusieurs expériences en ont précisé le mécanisme. Ainsi, un stress thermique réduirait de 72 % la synthèse de trophoblastine par l'embryon et augmenterait celle de prostaglandines par l'endomètre et l'embryon (Putney et al. 1988b, 1988c). De même, l'application d'un stress thermique (37°C, avec un taux d'humidité relative comprise entre 27 et 38%) pendant la deuxième et troisième semaine de gestation s'accompagne d'une réduction du poids de l'embryon et de la concentration progestéronique (Biggers et al. 1987). A l'inverse, il a été démontré que dans diverses espèces animales, l'embryon peut acquérir une thermorésistance dès les premiers stades de son développement (Ealy et Hansen 1994, Ealy et al. 1993) avant même l'activation de son génome (Edwards et al. 1997) au stade 8 à 16 cellules (King et al. 1986). En effet, il est capable dans l'espèce bovine mais pas dans l'espèce porcine (Kojima et al. 1996) de synthétiser des substances protectrices contre une hyperthermie (HSP, Heat Shock Proteins) (Lindquist 1986, Burel et al. 1992 in 10852) dès le stade 2 à 8 cellules (Edwards et Hansen

1997) mais aussi au 17<sup>ème</sup> jour de gestation (Putney et al. 1988d).

Les implications pratiques de telles observations sont évidentes surtout dans les régions du monde confrontées à des étés chauds. Des recommandations pratiques ont été formulées. Elles consistent à rafraîchir les animaux au cours de la période péroestrale voire à leur administrer avant le 3<sup>ème</sup> jour de gestation du gluthation, agent connu pour avoir un effet protecteur contre l'hyperthermie (Hansen et al. 1992).

c. La palpation rectale

La palpation manuelle est classiquement utilisée pour effectuer un diagnostic de gestation. Habituellement cependant, ni le foetus ni les cotylédons ne peuvent être palpés jusqu'au 60<sup>ème</sup> voire 75<sup>ème</sup> jour de gestation (Roberts 1971). Avant cette période, le diagnostic se basera sur l'identification d'une distension de la corne par les liquides, ou sur le glissement des membranes fœtales ou la palpation de la vésicule amniotique (Roberts 1971, Wisnicky et Casida 1948, Zemjanis).

Divers facteurs liés à la palpation manuelle du tractus génital sont de nature à influencer la fréquence de la mortalité embryonnaire. Il existe des différences entre *troupeaux*. De même, l'expérience du clinicien est-elle à souligner. Ainsi, la fréquence de mortalité embryonnaire plus élevée habituellement observée dans les troupeaux suivis par des établissements universitaires pourrait résulter d'une manipulation plus intense voire plus répétée des animaux par des personnes moins expérimentées (Ball et Carroll 1963, White et al. 1989, Abbitt et al. 1978, Thompson et al. 1994).

Plus importants sont cependant la méthode de diagnostic et le stade de gestation.

La *méthode de diagnostic* utilisée peut influencer la fréquence de la mortalité embryonnaire ou d'avortement. Ainsi, le diagnostic de gestation basé sur le glissement des membranes fœtales, méthode plus facile d'application après qu'avant le 40<sup>ème</sup> jour de gestation (Roberts 1986), a été considéré comme un facteur de risque par certains auteurs (Abbitt et al. 1978, Hawk et al. 1955) mais pas par d'autres (Alexander et al. 1995, Vaillancourt et al. 1979). En effet, Alexander, utilisant simultanément le dosage d'une protéine spécifique de la gestation (PSPB, Pregnancy Specific Protein de type B) exclut un effet significatif d'un diagnostic manuel basé sur le glissement des membranes fœtales sur le risque de mortalité embryonnaire entre le 30<sup>ème</sup> et le 45<sup>ème</sup> jour de gestation (Alexander et al. 1995). De même, le risque de mortalité embryonnaire semblerait également plus important si la gestation est identifiée par palpation de la vésicule amniotique (Abbitt et al. 1978, Ball et Carroll 1963, Rowson et Dott 1963, Bellows et al. 1975, Dawson 1974) et à fortiori lorsque cette méthode est utilisée pour induire l'avortement avant le 70<sup>ème</sup> jour de gestation (Parmigiani et al. 1978). L'interprétation des différences observées doit prendre en compte le stade gestation auquel le diagnostic est posé.

Le *stade de gestation* exerce en effet une influence certaine. Indépendamment de la méthode utilisée, la plupart des auteurs confirment un plus grand risque de réforme ou de pertes embryonnaires voire fœtales chez les animaux examinés par palpation manuelle avant le 37<sup>ème</sup> (Warnick et al. 1995), 45<sup>ème</sup> (Paisley et al. 1978), (White et al. 1989), 48<sup>ème</sup> (Lemire et al. 1993) ou le 50<sup>ème</sup> jour de gestation (Vaillancourt et al. 1979). On a également observé un intervalle de vêlage significativement plus court chez les animaux examinés 51 à 56 jours après l'insémination par rapport à ceux examinés avant ou après ce stade (White et al. 1989, Mohammed et al. 1991). A l'inverse, une étude concernant 19411 vaches laitières constate une fréquence moins élevée de la mortalité embryonnaire entre le 28<sup>ème</sup> et le 35<sup>ème</sup> jour de gestation (8,3 %) qu'entre le 35<sup>ème</sup> et le 42<sup>ème</sup> jour de gestation (11,7 %) (Thurmond et Picanso 1993b). Il existe peu de raisons à cette observation mis à part une sensibilité moins élevée de l'embryon et de ses annexes à un stade où ils sont encore relativement mobiles et peu attachés à la paroi utérine.

Une analyse plus circonstanciée de l'effet de la méthode de diagnostic utilisée en fonction du stade de gestation conclut qu'un diagnostic basé sur le glissement des membranes fœtales engendre davantage de pertes que la palpation de la vésicule amniotique entre le 45<sup>ème</sup> et le 70<sup>ème</sup> jour de gestation (6,3 vs 4,3 %) tandis que cette seconde méthode induit plus de pertes entre le 30ème et le 44ème jour de gestation (5,1 vs 4,8 %) (Callahan 1969). De même, Vaillancourt observe également une fréquence de mortalité embryonnaire plus élevée lorsque le diagnostic de gestation est posé par l'identification du

glissement des membranes fœtales avant qu'après le 50<sup>ème</sup> jour de gestation (Vaillancourt et al. 1979). Comparant trois méthodes manuelles de diagnostic de gestation, Abbitt observe également une diminution de la fréquence de la mortalité embryonnaire avec le stade de gestation lorsque le diagnostic est basé sur l'identification de la présence de liquides associée à la palpation de la vésicule amniotique ou du glissement des membranes fœtales. A l'inverse un diagnostic basé uniquement sur l'identification de la présence de liquides ne s'accompagne d'aucune variation de la fréquence de la mortalité embryonnaire (Abbitt et al. 1978). La fréquence de la mortalité embryonnaire dépend davantage de la palpation conjointe des liquides, de la vésicule amniotique et du glissement des membranes fœtales entre le 42<sup>ème</sup> et le 46<sup>ème</sup> jour de gestation que de l'expérience du clinicien (Franco et al. 1987).

d. Les traitements hormonaux

● Les traitements de superovulation

Diverses expériences ont démontré que les traitements de superovulation réalisés au moyen d'eCG, de FSH étaient responsables d'une absence de fécondation et d'une augmentation de la fréquence d'embryons dégénérés récoltés (Moor et al. 1984). Il faut y voir l'effet des traitements hormonaux non seulement sur le transport du sperme dans les voies génitales (Saacke et al. 1994) mais aussi sur l'induction d'un profil hormonal anormal se caractérisant par une concentration plasmatique trop élevée en progestérone pendant l'œstrus induit et par une insuffisance de la libération préovulatoire d'hormone LH voire par l'ovulation prématuée d'un follicule dominant éventuellement présent lors de la mise en place du traitement de superovulation (Jensen et al. 1982, Goff et al. 1986), ces modifications hormonales modifiant la maturation nucléaire et cytoplasmique de l'ovocyte (Hyttel et al. 1991). On a par ailleurs observé que l'intervalle entre l'injection d'une prostaglandine et la lutéolyse était réduit de 20 heures chez les animaux superovulés (40h vs 60h) (Jensen et al. 1982). Malheureusement les traitements palliatifs proposés tels la ponction échoguidée du follicule dominant, l'injection d'oestrogènes, d'hCG, de GnRH ou de progestérone n'ont dans l'ensemble pas amélioré les résultats potentiels (Armstrong 1993, Madill et al. 1994).

● Les prostaglandines

Administrées par erreur à des animaux gestants, elles induisent une mortalité embryonnaire précoce ou tardive voire un avortement entre le 10<sup>ème</sup> et le 150<sup>ème</sup> jour de gestation. Au 15<sup>ème</sup> jour de gestation, leur effet lutéolytique et donc inducteur d'une mortalité embryonnaire peut être partiellement inhibé par l'administration de 9 mg de norgestomet 24 heures après leur injection (Lulai et al. 1994).

● Le zéranol

L'obtention d'une puberté précoce constitue un objectif de rentabilité économique bien démontré (Leismester et al. 1973). C'est notamment dans ce but qu'a été préconisée aux Etats-Unis notamment l'utilisation de promoteurs de croissance tels que le zéranol (King et al. 1992). Diverses études ont confirmé son effet négatif sur les performances de reproduction en général (Cohen et al. 1987, Kirkwood et al. 1991) et la mortalité embryonnaire entre le 25<sup>ème</sup> et le 53<sup>ème</sup> jour de gestation (King et al. 1994, King et al. 1995). Le mécanisme de cet effet a été peu investigué. Néanmoins, il n'est pas impossible de penser que la réduction du diamètre des cornes utérines induite par le zéranol (King et al. 1995) puisse contribuer à diminuer la surface de contact entre l'utérus et l'embryon et ainsi limiter l'absorption par ce dernier de substances nutritives (Izaike et al. 1991).

3.3.3. Pathogénie de la mortalité embryonnaire

a. Observations cliniques et expérimentales

L'implication de l'asynchronisme embryo-maternel dans la mortalité embryonnaire relève de deux types d'observations réalisées chez les animaux repeat-breeders d'une part et lors de transfert d'embryons d'autre part.

Plusieurs études ont identifié une fréquence plus grande de retard du développement embryonnaire chez les repeat-breeders que chez les animaux normaux (Albihn et al. 1989, Albihn et al. 1991c). Le manque de synchronisation œstrale et donc utérine entre la donneuse et la receveuse contribue à augmenter le risque de mortalité embryonnaire. Ainsi, qu'il soit réalisé par voie chirurgicale (Nelson et al. 1975, Newcomb et Rowson 1975, Betteridge et al. 1980) ou non-chirurgicale (Rowson et al. 1969, Brand et al. 1978, Lawson et al. 1975, Hahn et Hahn 1976, Jillella et Baker 1978), le transfert d'un embryon s'accompagne d'un taux de gestation plus faible s'il est réalisé au 3<sup>ème</sup> ou 4<sup>ème</sup> jour ou entre le 10<sup>ème</sup> et le 16<sup>ème</sup> jour qu'entre le 6<sup>ème</sup> et le 9<sup>ème</sup> jour du cycle de la receveuse. Tout écart de synchronisation supérieur à un jour entre la donneuse et la receveuse s'accompagne d'une diminution du pourcentage de gestation après le transfert de l'embryon (Rowson et al. 1969). Ce fait a été observé non seulement chez la vache (Pope 1988, Albihn et al. 1991b) mais également chez la brebis (Moore et Shelton 1964, Rowson et Moor 1966, Wilmut et Sales 1981) et la truie (Webel et al. 1970, Pope et al. 1982), cette dernière espèce étant plus sensible que d'autres (Wilmut et al. 1980).

L'absence d'inhibition de la lutéolyse par l'embryon constitue la principale conséquence du manque de synchronisme entre l'embryon et l'utérus (Geisert et al. 1988). Cependant son mécanisme est encore loin d'être élucidé. Il impliquerait une insuffisance primaire du développement de l'embryon ou secondaire imputable à des facteurs extérieurs tels un stress thermique connu pour réduire le développement embryonnaire quand il est appliqué entre le 8<sup>ème</sup> et le 16<sup>ème</sup> jour de gestation (Biggers et al. 1987, Putney et al. 1988) ou à des facteurs propres à l'environnement de l'oviducte et de l'utérus, celui-ci étant par ailleurs étroitement dépendant de l'activité lutéale. L'action de ces facteurs, concernerait davantage le bouton embryonnaire que la partie trophoblastique du conceptus (Albihn et al. 1991a).

b. Mécanisme

● L'interféron

Divers faits d'observation tendent à démontrer que l'interféron tau constitue un élément essentiel de la pathogénie de la mortalité embryonnaire. In vitro sa synthèse est réduite par l'application d'un stress thermique à l'embryon (Putney et al. 1988). L'injection intra-utérine au 7<sup>ème</sup> jour de gestation de trophoblastes provenant d'embryons âgés de 13 jours augmente le pourcentage d'animaux gestants 6 semaines après l'insémination (Heyman et al. 1987). Des brebis traitées du 11<sup>ème</sup> au 15<sup>ème</sup> jour suivant la fécondation au moyen d'interféron tau présentent un taux de gestation et de prolificité significativement supérieure à celui des brebis non traitées (Nephew et al. 1990). Chez les bovins, les effets secondaires observés tels l'hyperthermie n'en permettent cependant pas l'utilisation (Newton et al., Plante et al. 1991).

● L'insuffisance lutéale

Comme dans d'autres espèces domestiques, la progestérone est, chez la vache, essentielle au maintien de la gestation, une augmentation de la progestéronémie étant favorable au développement de l'embryon (Winterberger-Torres 1967, Garrett et al. 1988, Albihn et al. 1991b, Geisert et al. 1992b). Classiquement, l'insuffisance lutéale peut se traduire par une réduction de la durée de vie du corps jaune (SLP: Short Luteal Phase) (Odde et al. 1980, Hunter 1991) ou par une réduction de la synthèse de progestérone par le corps jaune (Pratt et al. 1982), ces deux manifestations pouvant résulter d'une croissance folliculaire inadéquate, d'une stimulation lutéotrophique insuffisante ou d'une libération prématuée de prostaglandines (Gaverick et al. 1992).

Diverses études expérimentales et essais thérapeutiques sont venus confirmer la relation entre la progestéronémie et le risque d'une mortalité embryonnaire.

Une association significative entre une faible concentration en progestérone au cours de la phase périovulatoire et le taux de survie embryonnaire a été observée chez la brebis (Ashworth et al. 1984) et la vache (Lee et Ax 1984). De même, il a été démontré qu'il existe une relation positive entre la réduction de l'intervalle entre le début des chaleurs et le pic de LH et l'importance de ce pic et le développement normal de l'embryon (Maurer et Echekamp 1982). Chez les repeat-breeders, les

concentrations en progestérone seraient inférieures (Erb et al. 1976) ou fort variables d'un individu à l'autre (Bulman et Lamming 1978). De même, l'augmentation de la progestéronémie apparaît plus tardivement et plus lentement chez les animaux subfertiles que chez les animaux normaux (Shelton et al. 1990). Pour certains auteurs, la concentration en progestérone est plus élevée chez les animaux qui deviennent gestants que chez les autres (Erb et al. 1976, Henricks et al. 1971, Linares et al. 1982, , Lukazewska et Hansel 1980, Thompson et al. 1980, Hansel 1981, Fonseca et al. 1983, Lee et al. 1985, Lamming et al. 1989, Maurer et Echternack 1982, Lee et Ax 1984). Cette relation n'a pas été constatée par d'autres auteurs (Shemesh et al. 1968, Pope et al. 1969, Robertson et Sarda 1971, Diskin et Sreenan 1980, Roche et al. 1981, Hasler et al. 1980). La concentration en progestérone 21 à 24 jours après l'insémination est inférieure chez les animaux qui présentent ultérieurement une mortalité embryonnaire que chez les animaux gestants (Franco et al. 1987).

L'implication possible de l'insuffisance lutéale dans la mortalité embryonnaire a conduit plusieurs auteurs à évaluer l'effet d'un apport exogène direct de progestérone (CIDR, PRID) ou endogène indirect via l'administration d'une hormone gonadotrope (HCG) ou d'une gonadolibérine (GnRH).

L'administration de progestérone par voie vaginale sous forme de PRID (Robinson et al. 1989) ou de CIDR (Mac Millan et al. 1991) contribue chez les vaches à augmenter le pourcentage de gestation. Chez les génisses par contre, un tel traitement administré entre le 7<sup>ème</sup> et le 13<sup>ème</sup> jour suivant l'insémination serait sans effet (Van Cleef et al. 1989). Aucune différence n'a été obtenue chez les animaux traités au moyen de progestagènes avant la période de régression lutéale soit 15 à 16 jours après l'insémination (Lulai et al. 1994, Stevenson et Mee 1991, Van Cleef et al. 1991, Mac Millan et al. 1991).

Il ne semble pas que l'administration d' HCG constitue une méthode alternative intéressante (Diskin et Sreenan 1986).

La majorité des études relatives à l'utilisation de la GnRH 4 à 14 jours après l'insémination ou une chaleur non accompagnée d'insémination concernent des animaux inséminés pour la 1<sup>ère</sup> ou 2<sup>ème</sup> fois (Humblot et Thibier 1981, Leslie et al. 1986, Mac Millan et al. 1986, Jubb et al. 1990, Ryan et al. 1991, Lajili et al. 1991, Rettmer et al. 1992a, Rettmer et al. 1992b). La divergence des résultats obtenus en rend difficile leur interprétation : ainsi, on observe une augmentation de fertilité de 5 à 16 % d'après certaines études et une réduction non significative de 2 à 7 % selon d'autres. Ce traitement a beaucoup moins souvent été évalué chez des repeat-breeders (Bentele et al. 1987).

La relation entre l'insuffisance progestéronique et la mortalité embryonnaire est encore incomplètement élucidée. Quelques pistes peuvent néanmoins être proposées eu égard aux découvertes récentes en ce domaine. On sait que la progestérone a entre autres effets celui de réduire le nombre de récepteurs à l'ocytocine (Lamming et Mann 1995). Il est donc logique de penser qu'une diminution de la concentration en progestérone est de nature à favoriser l'apparition plus précoce de récepteurs à l'ocytocine et par conséquent de favoriser la mise en place du processus lutéolytique. Une insuffisance lutéale peut également s'accompagner d'une libération plus importante d'hormone LH, responsable d'une synthèse plus importante d'œstradiol (Robertson et al. 1989). Celui-ci en retour va favoriser le développement de récepteurs à l'ocytocine et la synthèse de prostaglandines (Beard et Lamming 1994, Mann et Lamming Br.Vet.J In press). Les résultats d'essais thérapeutiques à base de progestagènes ou de gonadolibérine apparaissent fort variables. Aucun d'entre eux n'a évalué la progestéronémie des animaux traités au cours de la période critique c'est-à-dire entre le 10<sup>ème</sup> et le 17<sup>ème</sup> jour suivant l'insémination. A l'inverse, on ne peut négliger la possibilité d'un effet iatrogène induit par de tels traitements. En effet un apport trop important en progestérone est de nature à réduire la libération en hormone LH et par conséquent le support lutéotrophique indispensable au maintien du corps jaune (Diskin et Sreenan 1986). Une fois arrêtée l'administration de progestérone, celui peut être incapable de sécréter suffisamment de progestérone pour maintenir la gestation.

#### **4. Diagnostic**

Etant donné la diversité des facteurs étiologiques, le diagnostic précis du repeat-breeding sera toujours difficile à établir. La première étape sera de quantifier le problème au niveau du troupeau, la seconde de procéder à des examens complémentaires plus spécifiques au niveau individuel.

#### 4.1. Le diagnostic de troupeau

La collecte et l'analyse des documents d'élevage sur une période préalablement définie (en général 1 an) sont indispensables pour quantifier le problème par la détermination notamment du pourcentage de gestation en première insémination et du pourcentage de repeat-breeders c'est-à-dire d'animaux inséminés plus de deux fois. L'évaluation de ces deux paramètres prendra également en compte les animaux inséminés mais réformés non-gestants. La prise en compte des seuls animaux gestants est en effet de nature à sous-évaluer l'importance du problème. Ces paramètres peuvent dans un premier temps être évalués en fonction de l'âge de l'animal (génisses, primipares, pluripares) ou en fonction du temps (Cu Sum : voir chapitre relatif à la gestion de la reproduction bovine).

L'interprétation du problème suppose l'analyse des paramètres de détection des chaleurs, de la politique de première insémination (intervalle entre le vêlage et la première insémination), du niveau de production laitière, de la ration, de l'état corporel, de la situation sanitaire (vaccinations, traitements antiparasitaires).

#### 4.2. Le diagnostic individuel

Un examen plus spécifique pourra être réservé aux repeat-breeders pour identifier la présence éventuelle de lésions ou d'anomalies génitales.

##### 4.2.1. L'examen vaginal

L'examen vaginal permet d'identifier une cause majeure d'infertilité à savoir l'endométrite. Il sera préférentiellement réalisé pendant les chaleurs puisque c'est à ce moment que les endométrites dites du premier degré se manifestent sous la forme de glaires troubles renfermant quelques flocons de pus. Cet examen peut identifier également des lésions vaginales telles que le pneumo ou l'uro-vagin.

##### 4.2.2. L'examen transrectal

Chez les génisses, cet examen clinique peut identifier les cas d'aplasie, d'hypoplasie d'une ou de deux cornes utérines signes potentiels de free-martinisme ou maladie des génisses blanches.

La palpation des ovaires des repeat-breeders n'offre en général que peu d'informations. Les animaux présentant de l'aplasie ou de l'hypoplasie ovarienne ne sont en général pas cyclés. S'ils sont examinés en phase dioestrale ils présentent la plupart du temps un corps jaune puisque normalement cyclés et un follicule cavitaire dont la présence est normale à ce stade du cycle étant donné la dynamique folliculaire. Seuls des examens répétés toutes les 6 heures dès la fin des chaleurs permettraient d'identifier les cas de retard d'ovulation. Une telle démarche est peu applicable en pratique.

La palpation transrectale permet néanmoins d'identifier les lésions des oviductes et des bourses ovariennes telles que les salpingites qui encapsulent l'ovaire dans la bourse ovarique et en rendent l'identification plus difficile voire impossible. Certains cas d'épaississement de l'oviducte, de kystes ou d'hydrosalpinx sont également identifiables.

##### 4.2.3. Les examens complémentaires

Les *tests de perméabilité tubaire* ont déjà été présentés dans le chapitre relatif à la propédeutique de l'appareil reproducteur des ruminants.

*L'examen échographique* autorise un diagnostic plus précis que la palpation manuelle des structures ovariennes présentes et de leur évolution au cours du temps. Elle constitue ainsi un moyen d'identification des cas d'ovulation retardée ou de lutéinisation de follicule anovulatoire.

Le *dosage de la LH* s'avérerait intéressant pour identifier une insuffisance du pic préovulatoire. Cependant étant donné la libération pulsatile de cette hormone ainsi que sa demi-vie courte des prélèvements toutes les 4 heures s'avèrent indispensables et les rendent donc peu applicables en pratique.

Le *dosage de la progestérone* peut être intéressant pour confirmer indirectement l'état œstral de l'animal et vérifier ce faisant la qualité de la détection des chaleurs par l'éleveur.

L'évaluation de certains *paramètres biochimiques* peut permettre d'identifier des erreurs alimentaires. Ainsi une glycémie inférieure à 0,4 - 0,5 gr/litre est en général le reflet d'un déficit énergétique que le praticien pouvait suspecter par l'évaluation de l'état corporel ou par l'identification d'un faible taux protéique dans le lait. De même un taux élevé d'urée dans le sang ( $> 0,4$  g/litre) confirmera un excès d'apport protéique.

La *biopsie utérine* peut permettre d'évaluer les lésions de l'endomètre. Le prélèvement sera réalisé 5 cm environ en avant de la bifurcation des cornes et fixé dans du Bouin ou du formol à 10 %. Il semble cependant que seules les lésions histologiques graves (mètrites du 2ème et 3ème degré) assombrissent le pronostic de fertilité.

## 5. Traitements

### 5.1. Moyens de lutte au niveau du troupeau

Ils concernent l'intensification de la qualité de la détection des chaleurs, le respect de normes alimentaires adaptées au niveau et au statut de production des animaux, l'application de plans de prévention sanitaire et antiparasitaire adaptés à la situation et au statut de l'exploitation, voire le changement d'inséminateur. Ces principes généraux de base seront idéalement intégrés à un programme de gestion d'élevage. Basé sur des examens réguliers et précoces des animaux, il offre la possibilité au praticien de détecter et donc de traiter rapidement les animaux à problèmes et de renforcer l'observation des animaux par l'éleveur.

### 5.2. Moyens de lutte individuels

#### 5.2.1. Les traitements non-hormonaux

Les *endométrites* éventuellement manifestées par les repeat-breeders seront traitées par une injection intra-utérine d'antibiotiques au début de la phase œstrale ou mieux le lendemain de la saillie ou de l'insémination. Cette seconde méthode offre l'avantage de pouvoir confirmer l'ovulation des animaux. Une association de 1 million d'unités de pénicilline et d'un g de streptomycine a été recommandée. Certains cas d'*obstruction tubaire* partielle peuvent être traités par des injections répétées de PSP. Les cas les plus graves seront réformés.

#### 5.2.2. Les traitements hormonaux

L'implication possible de l'insuffisance lutéale dans la mortalité embryonnaire a conduit plusieurs auteurs à évaluer l'effet d'un apport exogène direct de progestérone (CIDR, PRID) ou endogène indirect via l'administration d'une hormone gonadotrope (HCG) ou d'une gonadolibérine (GnRH).

##### 5.2.2.1. Les progestagènes

Divers essais thérapeutiques ont confirmé la possibilité de maintenir la gestation en l'absence de corps jaunes endogènes. Ainsi, deux implants de 15 mg de norgestomet placés au 10<sup>ème</sup> jour de gestation, en assure le maintien après ovariectomie de l'animal. Le même effet est obtenu après l'administration de 1 mg de MGA par jour. Semblable effet est obtenu par l'administration journalière de 200 mg de progestérone après énucléation du corps jaune au 60<sup>ème</sup> jour de gestation (Butcher R.L. Maintenance of pregnancy in postpartum beef cows that have short-leaved corpora lutea. J. Anim. Sci. 1992 : 70 :3831-3837).

L'administration de *progestérone* par voie vaginale sous forme de PRID ou de CIDR contribue chez les

vaches à augmenter le pourcentage de gestation. Chez les génisses par contre, un tel traitement administré entre le 7<sup>ème</sup> et le 13<sup>ème</sup> jour suivant l'insémination serait sans effet. Aucune différence n'a été obtenue chez les animaux traités au moyen de progestagènes avant la période de régression lutéale soit 15 à 16 jours après l'insémination.

Le traitement des vaches infertiles au moyen de protocoles hormonaux recourant à de la progestérone administrée sous forme de PRID ou de CIDR a fait l'objet de plusieurs publications.

Une première étude (Kim UH, Suh GH, Hur TY, Kang SJ, Kang HG, Park SB, Kim HS, Kim IH comparison of two types of CIDR-based timed artificial insemination protocols for repeat-breeder dairy cows. *J. Reprod.Dev.* 2007, 53,3, 639-645) compare deux protocoles thérapeutiques chez 55 vaches infertiles de race Holstein inséminées 7 fois et se trouvant à 761 jours post-partum en moyenne. Le premier protocole consiste en la mise en place d'une spirale vaginale (1,9 g de progestérone). Ce traitement était associé lors de la mise en place d'une injection de 1 mg de benzoate d'œstradiol et de 50 mg de progestérone et d'une injection de prostaglandine F2alpha lors du retrait de la spirale. Au 8<sup>ème</sup> jour du traitement, une injection de 1mg de benzoate d'œstradiol était effectuée et une insémination systématique réalisée 30 heures plus tard. Dans le second protocole, l'injection de benzoate et de progestérone était remplacée par celle de 250 mcg de GnRH lors de la mise en place de la spirale, une seconde injection étant effectuée 48 heures après le retrait, une insémination systématique étant effectuée 17 heures plus tard. Aucune différence du taux de gestation n'est apparue entre les deux protocoles (27,6 vs 34,7 %, moyenne : 31,3 %). Ces valeurs sont nettement inférieures à celles observées chez des vaches normales (65 %) traitées au moyen d'un protocole semblable (Kim et al. 2005). La cause pourrait en être la présence d'une concentration suprabasale de progestérone durant la phase oestrale. En effet, le moment d'apparition d'une nouvelle vague de croissance folliculaire apparaît comparable lors des deux types de protocoles (4,4 et 2,6 jours respectivement), le diamètre du follicule dominant au 7<sup>ème</sup> jour du traitement c'est-à-dire au moment de l'injection de la prostaglandine F2alpha étant semblable. De même le moment de l'ovulation est apparu semblable (53 et 40h respectivement).

Une seconde étude (Alnimer MA, Husein MQ The effect of progesterone and oestradiol benzoate on fertility of artificially inseminated repeat-breeder dairy cows during summer. *Reprod. Dom.Anim.*, 2007, 42, 363-369) a été conduite sur 100 vaches de race Holstein inséminées plus de 3 à 6 fois. Le premier protocole thérapeutique consiste en la mise en place d'un CIDR (1,38 g de progestérone) durant 7 jours. Lors de la mise en place une injection de 2 mg de benzoate d'œstradiol est pratiquée. Une seconde injection de benzoate d'œstradiol est pratiquée 24 heures après le retrait du CIDR. Une PGF2a est injectée au moment du retrait. Une insémination artificielle est selon les cas systématiquement pratiquée 24 à 30 heures après la seconde injection de benzoate d'œstradiol (groupe 1) ou est réalisée sur chaleurs observées (groupe 2). Le troisième groupe est traité de la même façon que les deux premiers groupes mais une injection de GnRH est effectuée 48 heures après le retrait du CIDR c'est-à-dire au moment de l'insémination. Le dernier groupe sert de contrôle et ne reçoit pas de CIDR. Une injection de benzoate (2 mg) est réalisée au jour 0, celle de PGF2a au jour 7, une nouvelle injection de benzoate est effectuée au jour 8 et les animaux sont inséminés sur chaleurs détectées. Les concentrations journalières en progestérone et en œstradiol ont été déterminées pour chaque vache de chaque groupe.

Les concentrations maximales en progestérone et œstradiol sont observées, respectivement après 24 et 48 heures au sein de chaque groupe traité. Les taux de gestation constatés 28 et 45 jours après les inséminations se sont avérés être supérieurs, quoique de manière non significative dans les groupes traités au moyen du CIDR par rapport aux groupes témoins (52, 56 et 60 et 40 % au 28<sup>ème</sup> jour de gestation et 32, 44, 36 et 28 % au 45<sup>ème</sup> jour de gestation).

Une troisième étude (Villaruel et al. 2004 : Villaruel A, Martino A, BonDurant RH, Deletang F, Sischo WM. Effect of post-insemination supplementation with PRID on pregnancy in repeat-breeders Holstein Cows. *Theriogenology* , 2004, 61, 1513-1520) compare l'effet d'une administration de progestérone (Spirale vaginale PRID renfermant 1,55 g de progestérone sans capsule de benzoate d'œstradiol) à des vaches primipares et multipares (143 vaches traitées et 148 vaches témoins) durant 14 jours soit entre le 5<sup>ème</sup> et le 19<sup>ème</sup> jour suivant la 3<sup>ème</sup> voire le 6<sup>ème</sup> insémination. Le traitement n'induit une augmentation du pourcentage de gestation (RR 3,26) que chez les vaches en 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> lactation se

trouvant à plus de 180 jours du post-partum.

Il ne semble pas que l'administration d'*HCG* constitue une méthode alternative intéressante. La relation entre l'insuffisance progestéronique et la mortalité embryonnaire est encore incomplètement élucidée. Quelques pistes peuvent néanmoins être proposées eu égard aux découvertes récentes en ce domaine. On sait que la progestérone a entre autres effets celui de réduire le nombre de récepteurs à l'ocytocine. Il est donc logique de penser qu'une diminution de la concentration en progestérone est de nature à favoriser l'apparition plus précoce de récepteurs à l'ocytocine et par conséquent de favoriser la mise en place du processus lutéolytique. Une insuffisance lutéale peut également s'accompagner d'une libération plus importante d'hormone LH, responsable d'une synthèse plus importante d'œstradiol. Celui-ci en retour va favoriser le développement de récepteurs à l'ocytocine et la synthèse de prostaglandines. Les résultats d'essais thérapeutiques à base de progestagènes ou de gonadolibérine apparaissent fort variables. Aucun d'entre eux n'a évalué la progestéronémie des animaux traités au cours de la période critique c'est-à-dire entre le 10ème et le 17ème jour suivant l'insémination. A l'inverse, on ne peut négliger la possibilité d'un effet iatrogène induit par de tels traitements. En effet un apport trop important en progestérone est de nature à réduire la libération en hormone LH et par conséquent le support lutéotrophique indispensable au maintien du corps jaune. Une fois arrêtée l'administration de progestérone, celui peut être incapable de sécréter suffisamment de progestérone pour maintenir la gestation.

#### 5.2.2.2. *La gonadolibérine*

##### a. *Rappels physiologiques relatifs à la gonadolibérine*

La gonadolibérine encore appelée gonadotropin-releasing hormone ou GnRH est une neuro-hormone peptidique synthétisée au niveau de la zone antérieure de l'hypothalamus. Libérée de manière pulsatile, sa demi-vie est de quelques minutes. Son élimination est très rapide. En effet, une concentration sérique maximale est atteinte respectivement 5 et 15 à 30 minutes après une injection intraveineuse et intramusculaire tandis que le retour à une concentration basale est acquis après 2 heures et 4 à 8 heures. Comportant 10 acides aminés, sa structure est commune à toutes les espèces de mammifères étudiés.

La relative simplicité de cette structure en a rendu facile non seulement la synthèse mais également la mise au point de plusieurs dizaines d'analogues agonistes ou antagonistes dont les applications cliniques se multiplient de jour en jour tant que médecine humaine qu'en médecine vétérinaire. Ces agonistes sont doués d'une plus grande activité biologique et d'une plus grande affinité pour leurs récepteurs. Ils sont actifs par voie intraveineuse, sous-cutanée, intramusculaire, orale, intravaginale, intrarectale et intranasale. Plusieurs d'entre eux sont actuellement utilisés en médecine vétérinaire (Tableau 2). Leur pouvoir biologique mesuré après leur injection en phase dioestrale sur l'importance de la libération de l'hormone LH indépendante du stade de la phase lutéale est nettement supérieur à celui de la gonadolibérine. Ainsi, la buséréline a une activité 10 à 20 fois supérieure à l'acétate de fertiréline, molécule elle-même 4 à 10 fois plus puissante que la gonadolibérine. Ce pouvoir supérieur des agonistes de la GnRH est imputable à leur moins grande sensibilité aux endopeptidases hypophysaires.

La gonadolibérine agit par l'intermédiaire de récepteurs présents au niveau de l'hypophyse et du testicule. Leur nombre dépend de la GnRH elle-même (phénomène d'autorégulation) mais également des stéroïdes sexuels tels la progestérone et l'œstradiol. La GnRH agit surtout au niveau hypophysaire. Cette action dépend de la pulsatilité de la synthèse de la GnRH: une fréquence faible stimule davantage la libération de la FSH tandis qu'une fréquence élevée stimule plus celle de la LH. Cette pulsatilité varie au cours du cycle. Au cours de la phase lutéale, la libération de la GnRH se manifeste sous la forme de pics de faible fréquence, attribuables à l'effet inhibiteur de la progestérone (effet feed-back négatif). Au cours des heures suivant la lutéolyse c'est à dire au début de la phase de croissance folliculaire et en réponse à l'augmentation de l'œstradiol (effet feed-back positif) la fréquence de la libération pulsatile de la GnRH augmente passant d'un pic toutes les 4 heures à un pic toutes les 45 minutes. La libération de la GnRH augmente ensuite brutalement et s'accompagne d'une libération massive de l'hormone

lutéotrope (LH).

*b. Justifications physiologiques de l'application de la GnRH à l'amélioration de la fertilité*

L'amélioration de la fertilité constitue un des objectifs prioritaires de l'optimisation du potentiel de reproduction bovine. De nombreuses études préliminaires ont permis de mieux comprendre le rôle potentiel de la GnRH dans la pathogénie et le traitement de deux causes essentielles responsables d'infertilité à savoir l'absence de fécondation d'une part et la mortalité embryonnaire précoce d'autre part. Sur le plan clinique, ces deux causes d'infertilité se traduisent par ce que les auteurs anglo-saxons ont qualifiés de repeat-breeding c'est à dire l'absence de gestation après au moins deux inséminations réalisées chez des animaux présentant des chaleurs régulières sans lésions congénitales ou acquises cliniquement décelables du tractus génital. Ce syndrome concerne 15 à 25 % des animaux (Hewett 1968, Graden et al. 1968, Bartlett et al. 1986). Les facteurs responsables en sont encore mal définis. Ils sont habituellement regroupés en cinq grands groupes étiologiques comprenant les troubles génétiques ou acquis de l'ovocyte et du sperme, les phénomènes inflammatoires ou infectieux de l'utérus, les désordres endocriniens lors de l'ovulation ou du maintien de la gestation, les anomalies qualitatives ou quantitatives de la ration et les effets de la saison ainsi que les problèmes liés à la détection des chaleurs et à l'insémination (Ayalon et al. 1978, Sreenan et Diskin 1983, Ley 1985, Wilmut et al. 1986, Lafi et Kaneene 1988, King 1991, Bruyas et al. 1993).

Des pourcentages de fécondation compris entre 81 et 100 % ont été rapportés à l'encontre de la femelle bovine (Diskin et Sreenan 1980, Roche et al. 1981, Linares 1981, Ayalon 1981, Maurer et Chenault 1983). Ils sont compris entre 60 et 70 % chez les animaux repeat-breeders (Ayalon 1984, Gustaffson et Larsson 1983, O'Farrell et al. 1983, Tanabe et al. 1985). Cette absence de fécondation est également plus fréquente chez les repeat-breeders superovulés que chez les animaux normaux (Greve 1980).

La mortalité embryonnaire précoce détectée 8 à 18 jours après l'insémination concerne 20 à 30 % des animaux et représente 75 à 80 % des pertes embryonnaires et fœtales (Diskin et Sreenan 1980, Roche et al. 1981). Chez les repeat-breeders, elle apparaît dans 51 à 65 % des cas au cours des 34 premiers jours de la gestation (Tanabe et Casida 1949, Tanabe et Almquist 1953, Hawk et al. 1955). Avant de rappeler les applications cliniques de la GnRH en reproduction bovine (Hanzen et al. 1995), il nous a semblé opportun d'en préciser les mécanismes physiologiques justifiant son utilisation.

*c. Implication de la GnRH dans l'absence de fécondation*

Au cours de la phase pro œstrale, la GnRH stimule la libération de l'hormone FSH et par son intermédiaire influence la croissance folliculaire mais également la formation de récepteurs à l'hormone LH au niveau des cellules de la granuleuse (Richards et al. 1976), prérequis indispensable à la formation ultérieure du corps jaune et à la synthèse de progestérone.

La GnRH est impliquée directement dans le processus de l'ovulation puisqu'elle est responsable du pic préovulatoire de l'hormone LH (Karsh et al. 1992). La GnRH a également une action indirecte sur l'ovulation. Elle favorise en effet la libération de l'acide arachidonique (Minegishi et Leung 1985), précurseur des prostaglandines dont l'implication dans le processus de l'ovulation serait due à l'activation des fibroblastes assurant la transformation de la procollagénase en collagénase (Espey 1980).

L'absence de fécondation a été imputée à une séquence hormonale anormale au cours de l'oestrus. Elle se traduirait par un allongement de la période œstrale (Gustafsson et al. 1986, Albihn 1991, Albihn et al. 1991a) et plus particulièrement de l'intervalle entre le début des chaleurs et l'ovulation (Lee et al. 1983, Mac Millan et al. 1986, Rosenberg et al. 1991), effet cependant non unanimement rapporté (Hansel et al. 1960, De Kruif 1976). Il en résulterait une absence d'ovulation (Graden et al. 1968) ou une ovulation plus tardive (Leidl et al. 1979) voire la lutéinisation précoce du follicule (LUF syndrome: Luteinized unruptured follicle syndrome), phénomène décrit chez la femme (Donnez 1990) et la jument (Ginther 1992). Ce processus peut s'accompagner d'un trouble de la maturation ovocytaire (Tanabe et Casida 1949, Petr et al. 1991) bien que cette dernière hypothèse n'ait point été confirmée (Linares et al. 1980, Maurer et Echterkamp 1985). Enfin, à moyen terme il en résulterait un manque de synchronisme entre l'embryon et le milieu utérin, condition essentielle au maintien de la gestation (Albihn et al. 1991b) et

par conséquent un retard du développement embryonnaire (Gustafsson et Ploen 1986), phénomène plus fréquemment rencontré chez les repeat-breeders (Albihn et al. 1991c).

L'absence d'identification de récepteurs à la GnRH au niveau ovarien (Brown et Reeves 1983), donne à penser que son action est essentiellement due à l'hormone LH. Le nombre de récepteurs de cette hormone au niveau des cellules de la granuleuse demeure relativement constant jusqu'au début de sa libération. Leur nombre augmente ensuite de manière très importante jusqu'au moment de sa libération maximale (Ireland et Roche 1982). Au cours de cette période, l'androstènedione est convertie par une aromatase en œstradiol dans le follicule préovulatoire. Le pic de LH inhibe la synthèse d'œstradiol en bloquant l'activité de l'aromatase. Il s'ensuit une synthèse accrue de progestérone (Dieleman et Blankenstein 1984, Hansen et al. 1988).

La libération de la GnRH est soumise à l'influence de différents facteurs environnementaux ou alimentaires. Ainsi, elle peut être atténuée par les beta-endorphines (Brooks et al. 1986, Nett 1987) libérées en réponse à divers stress tels qu'une hyperthermie environnementale, la présence d'un veau au pis ou un niveau de production laitière élevé chez un animal en croissance. L'insuline a également été impliquée dans la libération de la FSH par la GnRH (Britt 1988). Son administration chez la truie contribue à en augmenter le taux d'ovulation (Cox et al. 1987). Les vaches hautes productrices (9000 litres) présentent habituellement 40 à 59 jours post-partum un déficit énergétique s'accompagnant d'une hypo-insulinémie (Smith et al. 1976, Butler et Smith 1989). Il est donc possible de croire que l'administration de GnRH à des animaux traversant une période à risque sur le plan de sa synthèse ou de sa libération puisse s'accompagner d'une augmentation du pourcentage de gestation.

Injectée en début ou en fin de phase œstrale à la dose de 100 µg, la GnRH induit dans les deux heures suivantes une augmentation de 43 et 153 % des concentrations de l'hormone LH (Mee et al. 1990). Cette injection peut donc contribuer à mieux synchroniser le moment de l'ovulation par rapport au début des chaleurs (Lee et al. 1985) et à prévenir l'absence d'ovulation (Fernandez-Limia et al. 1977, Coulson et al. 1980, Nakao et al. 1983) conditions pathologiques plus fréquemment rencontrées chez les repeat-breeders (De Kruif 1978). En effet, les animaux repeat-breeders ont un intervalle entre le début des chaleurs et le pic préovulatoire de LH plus long et un pic de moindre importance que les génisses normales (Gustafsson et al. 1986). Cependant, une double insémination pratiquée à 12 heures d'intervalle ne modifie pas de manière significative le pourcentage de gestation (Stevenson et al. 1990). L'hypothèse de l'induction avant ou après le pic préovulatoire de l'hormone LH observé au début de la phase œstrale d'un second pic de LH n'est pas à exclure (Stevenson et al. 1984) même si cette seconde libération est habituellement plus faible (Lucy et Stevenson 1986, Rosenberg et al. 1991). La raison de cette libération importante doit être cherchée dans la diminution de la production de 17béta œstradiol habituellement constatée après le pic préovulatoire de LH (Dieleman et al. 1983, Ireland et al. 1984) ou dans un état réfractaire de l'hypophyse (Kesner et al. 1981). L'importance du moment de l'injection de la GnRH par rapport au début des chaleurs ne peut être négligée. En effet, plusieurs auteurs ont observé une meilleure efficacité d'une injection en début d'oestrus associée à une insémination en fin d'oestrus (Mee et al. 1990, Rosenberg et al. 1991) surtout si elle concerne les animaux inséminés pour la seconde ou troisième fois (Stevenson et al. 1984). L'hypothèse d'un effet négatif d'une injection de GnRH réalisée en fin de période œstrale simultanément à l'insémination a été avancée mais est encore peu expliquée (Mee et al. 1990). Ces auteurs constatent une augmentation de l'hormone lutéotrope moins importante dans les deux heures suivant l'injection tardive de la GnRH et une progestéronémie 8 à 14 jours après l'oestrus plus faible chez les animaux traités et inséminés en fin d'oestrus que chez les animaux traités en début d'oestrus et inséminés en fin d'oestrus. Un effet secondaire de la GnRH injectée en fin d'oestrus sur la réduction du nombre de récepteurs lutéaux à la LH (Rodger et Stormshak 1986) et par conséquent de la synthèse de progestérone a été rapportée (Lucy et Stevenson 1986). Elle a été imputée à une déplétion des stocks hypophysaires en hormone LH. Cette action inhibitrice directe sur les cellules de la granuleuse (désensibilisation) est possible (Lee et al. 1985) mais peu recevable étant donné l'absence de récepteurs spécifiques (Brown et Reeves 1983) et l'incapacité de la GnRH à inhiber *in vitro* la synthèse de progestérone (Milvae et al. 1984). Enfin, une action sur l'ovocyte voire le follicule

ne peut être exclue (Mee et al. 1990).

Il apparaît donc que le choix du moment optimal de l'insémination par rapport à l'injection de GnRH nécessite des investigations complémentaires mais aussi le cas échéant, une intensification de la fréquence des périodes de détection des chaleurs de la part de l'éleveur.

*d. Implications de la GnRH dans la prévention de la mortalité embryonnaire précoce*

Le maintien de la gestation résulte d'un double mécanisme: lutéotrope d'une part et antilutéolytique d'autre part (Thatcher et al. 1989, Humblot 1991). L'identification des causes et conséquences potentielles d'une mortalité embryonnaire précoce résulte d'études hormonales de la gestation d'une part et morphologiques de l'embryon d'autre part.

La présence d'une progestéronémie plus élevée chez les animaux gestants que chez les animaux non-gestants au cours des premiers jours suivant l'insémination (Henricks et al. 1971, Erb et al. 1976, Lukaszewska et Hansel 1980, Linares et al. 1982, Maurer et Echternack 1982, Fonseca et al. 1983, Lee et al. 1985, Lamming et al. 1989) plaide en faveur d'un effet lutéotrope de l'embryon même si cette observation n'a pas été unanimement constatée (Bulman et Lamming 1978, Diskin et Sreenan 1980, Roche et al. 1985). Une augmentation de la progestéronémie est favorable au développement de l'embryon (Winterberger-Torres 1967, Garrett et al. 1988, Albihn et al. 1991b). Plus récemment (Starbuck GR, Darwash AO, Mann GE, Lamming GE. The detection and treatment of postinsemination progesterone insufficiency in dairy cows. In Fertility in the High Producing Dairy Cows. British Society of Animal Science Occasional publication 2001, 26,447-450), le contrôle journalier de la progestéronémie au cours des 5 premiers jours suivant l'insémination a confirmé l'impact de la progestéronémie sur les taux de gestation. Les vaches présentant une progestéronémie  $> 3$  ng/ml au 5<sup>ème</sup> jour de gestation avaient un taux de gestation compris entre 50 et 55 %. A l'inverse celles dont la progestéronémie était  $< 1$  ng/ml avaient un taux de gestation inférieur à 10. Une fois encore, il est difficile de distinguer la cause de l'effet. Chez les repeat-breeders, l'évolution de la progestéronémie est fort variable d'un animal à l'autre (Bulman et Lamming 1978) et les concentrations en progestéron seraient inférieures chez les repeat-breeders (Erb et al. 1976). L'augmentation de la progestéronémie apparaît plus tardivement et plus lentement chez les animaux subfertiles que chez les animaux normaux (Kimura et al. 1987, Shelton et al. 1990a). L'effet lutéotrope de l'embryon serait médié par la prostaglandine E2 (PGE2) (Shelton et al. 1990b) ou par le platelet activating factor (PAF) (Hansel et al. 1989). L'activité antilutéolytique exercée par le conceptus (embryon et ses enveloppes) a depuis longtemps été démontrée (Rowson et Moor 1967) et imputée à une trophoblastine (bTP1: bovine trophoblast protein type 1) (Helmer et al. 1987), synthétisée vers le 15<sup>ème</sup> jour de gestation environ (Geisert et al. 1988) et dont l'effet ne se manifeste chez la vache qu'entre le 16<sup>ème</sup> et le 20<sup>ème</sup> jour de gestation (Humblot et Dalla Porta 1984).

Plusieurs études ont identifié une fréquence plus grande de retard du développement embryonnaire chez les repeat-breeders que chez les animaux normaux (Albihn et al. 1989, Albihn et al. 1991c). Ce retard du développement morphologique ne s'accompagne habituellement pas d'un allongement du cycle. Ce fait laisse supposer une absence d'émission du signal embryonnaire ou l'impossibilité pour la mère de le recevoir. Cette diminution primaire de la taille du conceptus, ou secondaire à l'effet de facteurs extérieurs tels un stress thermique (Biggers et al. 1987, Putney et al. 1988) voire celle du nombre de cellules trophoblastiques réduirait la synthèse de la bTP1 et donc l'inhibition de la lutéolyse par l'embryon (Thatcher et al. 1984, Geisert et al. 1988). Cette relation entre trophoblaste et synthèse du signal embryonnaire pourrait cependant ne pas être exclusivement quantitative (Albihn et al. 1991c). On ne peut ignorer la participation possible du bouton embryonnaire même si l'injection de vésicules trophoblastiques est capable d'allonger l'intervalle entre chaleurs (Heyman et al. 1984). En effet, les modifications morphologiques enregistrées chez les repeat-breeders concernent davantage le bouton embryonnaire que la partie trophoblastique du conceptus (Albihn et al. 1991c).

Divers mécanismes ont été avancés pour expliquer l'effet potentiel de la GnRH sur le maintien de la gestation. Le *premier mécanisme* serait un effet lutéotrophique. Induisant en phase dioestrale au cours

des 15 minutes et pendant 4 heures environ une libération accrue des hormones LH et FSH (Rettmer et al. 1992), l'injection de GnRH entraîne une stimulation de la synthèse de progestérone (Hansel et Seifart 1967, Kittok et al. 1973, Zolman et al. 1974, Foster et al. 1980, Thompson et al. 1980, Mac Millan et al. 1985a, Lee et al. 1985, Rettmer et al. 1992). Ce type de réponse est dépendant de la dose injectée (Chenault et al. 1990). Elle est rapide puisque l'augmentation de la progestéronémie est observée au cours des 15 minutes suivant l'injection de GnRH. Elle est également de courte durée puisqu'elle ne se maintient que pendant 6 heures pour retrouver une concentration égale à celle enregistrée avant l'injection 24 heures environ après celle-ci (Rettmer et al. 1992, Bostedt et Okyere 1988). Une augmentation plus prolongée de progestérone a également été observée après l'administration d'agonistes de la GnRH (Milvae et al. 1984, Mac Millan et al. 1985a). La réponse à court terme serait imputable à la stimulation des petites cellules lutéales (SLC: Small Luteal cell) renfermant la majorité des récepteurs à l'hormone LH (Niswender et al. 1985, Farin et al. 1988, Farin et al. 1989). La réponse à long terme s'expliquerait par la transformation sous l'effet de la LH des petites cellules lutéales en grandes cellules lutéales dont le niveau de sécrétion est plus élevé (Niswender et al. 1985, Farin et al. 1988). Il est également possible que l'augmentation de la progestéronémie puisse résulter de la lutéinisation de follicules présents sur l'ovaire ainsi qu'en témoignent les changements histologiques (Schwartz et al. 1984) ou d'échogénicité observés (Rettmer et al. 1992, Thatcher et al. 1989, MacMillan et Thatcher 1991). Par ailleurs, aucun changement de taille du corps jaune n'a été observé après injection de GnRH (Rettmer et al. 1992). Pareille hypothèse n'est cependant pas retenue par Mac Millan étant donné la nature de la réponse progestéronique. Celle-ci est en effet trop rapide que pour être imputée à la formation d'un corps jaune secondaire (Mac Millan et al. 1985a).

Cet effet lutéotrope pourrait également se manifester à moyen terme après l'injection de la GnRH en phase cœstrale. Plusieurs études ont démontré que l'injection en phase cœstrale de la GnRH ne modifie pas (Coleman et al. 1988) ou augmente la progestéronémie chez les repeat-breeders gestants et non-gestants (Mee et al. 1993). Cet effet a été imputé à l'augmentation induite par l'injection de la GnRH de l'hormone LH qui orienterait davantage la formation de grandes que de petites cellules lutéales, les premières étant moins sensibles à l'effet lutéolytique de la prostaglandine F<sub>2</sub>α que les secondes (Howard et Britt 1990).

Le *second mécanisme* serait un effet lutéoprotecteur qui rendrait le corps jaune insensible à l'action des facteurs lutéolytiques. On a en effet observé que l'injection de GnRH 1 heure environ avant celle d'une prostaglandine retarde la chute de la progestérone, la régression du corps jaune et augmente le délai nécessaire à la réapparition d'un oestrus (Mac Millan et al. 1985b).

Le *troisième mécanisme* impliquerait un effet antilutéolytique médié par une action sur la dynamique de la croissance folliculaire (Thatcher et al. 1989, Rettmer et al. 1992). Des études histologiques ont en effet démontré qu'entre le 17ème et le 34ème jour, la gestation s'accompagne d'un recrutement plus important de follicules de taille comprise entre 0.16 et 0.67 mm vers des follicules de taille comprise entre 0.68 et 3.67 mm tout en limitant leur développement ultérieur (Guilbaut et al. 1986). De même, des études échographiques ont constaté vers le 22ème jour de gestation la présence en plus grand nombre sur l'ovaire ipsilatéral que contralatéral à la corne gestante de follicules de taille comprise entre 7 et 13 mm ou supérieur à 13 mm (Pierson et Ginther 1987). Chez l'animal non-gestant et donc sans doute gestant, les follicules non-ovulatoires présents au cours de la phase dioestrale sont impliqués dans le mécanisme de la lutéolyse. En effet, la cautérisation des follicules entre le 9ème et le 15ème jour du cycle en augmente la durée en retardant le moment de la lutéolyse (Villa-godoy et al. 1985, Hughes et al. 1987). Par ailleurs, cette manipulation entraîne une réduction de la concentration de l'œstradiol dans la veine utéro-ovarienne (Fogwell et al. 1985). L'action des follicules non-ovulatoires est médiée par l'œstradiol qu'ils secrètent. Cette hormone participe indirectement via la synthèse de récepteurs endométriaux à l'ocytocine, à la formation de prostaglandines (Mc Cracken et al. 1984) dont la synthèse est stimulée par l'ocytocine d'origine lutéale (Wathes et al. 1983).

Une réduction de la synthèse d'œstradiol par l'ovaire au cours des 8 à 12 jours suivant l'injection de GnRH a été récemment démontrée (Rettmer et al. 1992). Elle serait imputable à la lutéinisation des

follicules (Ireland et Roche 1982, Schwarz et al. 1984, MacMillan et al. 1991) ou à l'induction d'une ovulation (Berchtold et al. 1978, Thatcher et al. 1989, MacMillan et Thatcher 1991). Il semble bien que l'effet lutéotrope doive être préféré à l'effet ovulatoire puisque l'injection de GnRH en phase dioestrale n'est suivie d'aucune modification de nombre ou de taille des follicules présents (Rettmer et al. 1992).

e. Applications de la GnRH au traitement de l'infertilité

● Traitements des vaches lors de la première insémination du post-partum

L'utilisation de la GnRH lors de la première insémination au cours du post-partum, contribue dans la majorité des essais cliniques effectués à augmenter de manière significative de 6 à 34 % (Goldbeck 1976, Schels et Mostafawi 1978, Grunert et al. 1978, Leidl et al. 1979, Moller et Fielden 1981, Lee et al. 1983, Fielden et Moller 1983, Nakao et al. 1983, Ryan et al. 1991), ou de manière non significative de 1 à 14 % (Gunzler et al. 1974, Gunzler et al. 1976, Mori et Takahashi 1978, Von Holtenmoller 1979, Stevenson et al. 1984, Anderson et Malmo 1985) le pourcentage de gestation. Certains auteurs ont par ailleurs rapporté une réduction de la fertilité mais cet effet était non significatif (Vahdat et Whitmore 1980, Lewis et al. 1990, Chenault 1990, Rosenberg et al. 1991) (Tableau 3).

La disparité des résultats observés peut être le reflet de conditions expérimentales différentes ou traduire l'effet plus ou moins spécifique de l'un ou l'autre facteur. Il ne semble pas que le type de GnRH utilisée (naturelle ou de synthèse) soit de nature à modifier les résultats. La GnRH naturelle injectée en phase lutéale a un pouvoir biologique moindre que ses analogues de synthèse (Chenault et al. 1980). Semblable comparaison n'a cependant pas été effectuée en phase œstrale. Comparant l'acétate de fertiréline (25 à 100 µg) et la busereline (10 µg), une étude ne rapporte aucune différence du pourcentage de gestation après traitement des animaux lors de la première ou deuxième insémination (Chenault 1990).

L'augmentation de la dose d'acétate de fertiréline de 25 à 100 µg réduit mais non significativement le taux de gestation (43,6 % vs 39,4 %) (Chenault 1990).

L'effet de l'âge est controversé. Une amélioration significative du pourcentage de gestation après traitement unique ou répété à 12 jours d'intervalle au moyen de la GnRH a été observé chez les primipares mais pas chez les pluripares (Ryan et al. 1991). Cet effet de l'âge n'a pas été observé par d'autres études (Rosenberg et al. 1991, Lajili et al. 1991, Archbald et al. 1992) ou semble limité aux primipares et aux vaches en troisième lactation (Nakao et al. 1983).

Selon certains auteurs (Archbald et al. 1992; Bondurant et al. 1991), il existe une interaction entre la saison et le traitement. L'effet est supérieur lorsque le traitement est réalisé au cours des mois de janvier à mars par rapport aux autres mois de l'année. Il est possible d'y voir le reflet des différences d'activité folliculaire observée entre les saisons (Mc Natty et al. 1984).

L'effet du stade du post-partum est controversé. Sans effet pour certains (Moller et Fielden 1981, Anderson et Malmo 1985, Chenault 1990, Rosenberg et al. 1991, Archbald et al. 1992), il influencerait favorablement et de manière significative les résultats obtenus après l'injection unique ou répétée à 12 jours d'intervalle de la GnRH à des animaux inséminés pour la première fois 40 à 59 jours ou 80 à 99 jours après le vêlage (Ryan et al. 1991) ou au-delà du 100ème jour du post-partum (Nakao et al. 1983).

Il dépend du niveau de production laitière de l'animal lors de l'insémination, un effet favorable significatif de la GnRH ayant été observé chez les animaux produisant 26 à 30 kg de lait (Nakao et al. 1983). Cet effet de la production laitière n'est pas partagé par d'autres auteurs (Archbald et al. 1992) qui ne constatent par ailleurs aucun effet de l'état de l'enbompoint de l'animal lors du traitement (Archbald et al. 1992) ou de pathologies antérieures telles la métrite ou l'anoestrus présentées par l'animal sur les résultats de gestation obtenus après administration de la GnRH (Lajili et al. 1991).

L'effet d'une injection de GnRH peut dépendre également de la fertilité du troupeau. Ainsi si le taux de gestation en première insémination est inférieur à 40 %, on observe une augmentation significative du pourcentage de gestation après traitement tant chez les primipares (+ 34 %) que chez les pluripares (+ 23 %) (Rosenberg et al. 1991). Cette observation rejoue celle d'autres auteurs qui ne recommandent l'utilisation systématique de la GnRH en première insémination que dans les troupeaux à faible fertilité (Nakao et al. 1983, Coleman et al. 1988, Weaver et al. 1988, Chenault 1990).

Le rôle potentiel du moment de l'injection de la GnRH par rapport au moment de l'insémination ou de détection des chaleurs a fait l'objet d'études plus spécifiques (Stevenson et al. 1984, Pennington et al. 1985, Stevenson et al. 1989, Mee et al. 1990). Comparant l'effet d'une injection précoce (1 heure après la détection) ou tardive (12 à 16 heures après la détection) de GnRH au cours de l'oestrus induit par une prostaglandine, Mee n'observe aucune différence du taux de gestation en première insémination (Mee et al. 1990). D'autres études antérieures effectuées sur chaleurs naturelles (Stevenson et al. 1984, Pennington et al. 1985, Stevenson et al. 1989) semblent quant à elles insister davantage sur l'importance du moment du traitement tout au moins pour la première insémination réalisée au cours du post-partum. En effet, les animaux inséminés et traités en début d'oestrus ou inséminés et traités en fin d'oestrus ont des taux de gestation inférieurs aux animaux témoins. Une fertilité comparable est par contre obtenue si le traitement est réalisé en début d'oestrus et l'insémination 12 à 16 heures plus tard (Stevenson et al. 1989). Une amélioration de 6 % du pourcentage de gestation est également obtenue si l'insémination est réalisée plus de 6 heures après le traitement. A l'inverse, une réduction de 7 % du pourcentage de gestation est observée si l'insémination est effectuée moins dans les 6 heures précédant l'insémination (Pennington et al. 1985).

Les résultats relatifs à l'utilisation combinée d'une prostaglandine et d'une GnRH injectée 72 à 80 heures plus tard sont variables (Tableau 4).

Des améliorations significatives de 19 % et non significatives de 6 à 11 % du taux de gestation ont été obtenues. L'insémination sur chaleurs observées après induction par une prostaglandine (24 % de gestation) doit être préférée à celle réalisée de manière systématique 72 à 80 heures après l'injection d'une prostaglandine (18 % de gestation) à moins que l'insémination ne s'accompagne d'une injection de gonadolibérine (26 % de gestation). Les différences entre le second groupe et les deux autres se sont avérées être significatives (Archbald et al. 1992).

- Traitements des repeat-breeders

Chez les repeat-breeders, l'injection lors de l'oestrus d'une gonadolibérine ou d'un de ses analogues augmente de manière significative de 5 à 25 % le taux de gestation (Lee et al. 1983, Phatak et al. 1986, Stevenson et al. 1988, Roussel et al. 1988, Stevenson et al. 1990). D'autres études rapportent des améliorations non significatives de 4 à 15 % (Stevenson et al. 1984, Pennington et al. 1985, Stevenson et al. 1988, Bondurant et al. 1991). Enfin, une réduction non significative de 10 à 15 % a également été observée (Anderson et Malmo 1985, Young et Swanson 1988, Swanson et Young 1990, Lewis et al. 1990) (Tableau 5).

Divers facteurs d'influence potentiels ont été évalués.

L'amélioration observée est indépendante du taureau utilisé ou du technicien (Phatak et al. 1986). L'effet favorable de la réduction (<120 jours vs > 120 jours) de l'intervalle entre le vêlage et le traitement lors de la troisième insémination n'a été constaté que chez les pluripares (Bondurant et al. 1991). Lors du traitement spécifique des animaux inséminés pour la 3ème ou 4ème fois, on observe une augmentation respectivement de 4 (Bondurant et al. 1991) et 9 % (Phatak et al. 1986) du % de gestation.

Pas plus que le traitement à la GnRH, une double insémination pratiquée à 12 heures d'intervalle n'améliore le pourcentage de gestation (Wilcox et Pfau 1958, Graden et al. 1968, Foote et al. 1979, Stevenson et al. 1990). Le taux de gestation est également indépendant du moment de l'injection de la

GnRH par rapport à l'insémination (Stevenson et al. 1984). D'autres auteurs semblent néanmoins insister sur l'importance de ce facteur (Rosenberg et al. 1991). Il semble que chez les repeat-breeders, l'allongement de l'intervalle entre l'injection de GnRH et l'insémination contribue à augmenter le pourcentage de gestation (Pennington et al. 1985).

L'effet de la saison ne doit pas être négligé. En effet, le traitement à la GnRH des animaux inséminés pour la troisième fois au cours des mois différents de ceux de l'été entraîne une augmentation de 7 % du pourcentage de gestation (48,1 vs 41 % : P<0,1). A l'inverse, le traitement des mêmes animaux au cours des mois d'été s'accompagne d'une réduction de la fertilité (34,8 vs 36 %) (Bondurant et al. 1991). A notre connaissance, de tels effets de la saison sur la réponse à un traitement de GnRH n'a pas été rapportée à l'encontre d'animaux élevés dans des conditions tempérées. Cette possibilité mérirait d'être investiguée.

Des différences d'effet entre exploitations ont été enregistrées. Elles traduisent peut-être une amélioration indirecte de certains facteurs de gestion lors de l'essai clinique (Bondurant et al. 1991).

Pas plus que chez les animaux inséminés pour la 1ère ou 2ème fois (Mee et al. 1990, Archbald et al. 1992), l'injection de GnRH combinée à celle d'une prostaglandine 72 à 80 heures plus tôt n'améliore le pourcentage de gestation des repeat-breeders inséminés systématiquement c'est-à-dire sans détection des chaleurs (Lucy et al. 1986, Stevenson et al. 1988). Il semble donc qu'une fertilité normale ne puisse être obtenue que si l'animal manifeste des chaleurs après l'injection d'une prostaglandine et que le cas échéant elles soient détectées par l'éleveur.

Une solution alternative consisterait à traiter les animaux infertiles au moyen d'un protocole de synchronisation des ovulations de type Ovsynch ou de type Heatsynch (Kasimanickam et al. 2005). Le protocole Ovsynch consiste en l'injection successive de GnRH (J0) de PGF2a (J8) et de GnRH (J9). Dans le protocole de type Heatsynch, la seconde injection de GnRH est remplacée par une injection de 0,5 mg de cypionate d'oestradiol, 24 heures après la prostaglandine. Les animaux sont le plus souvent inséminés systématiquement (IAS) ou sur chaleurs détectées (IAD). D'un essai clinique impliquant 535 vaches inséminées pour la première fois et 186 vaches infertiles inséminées au moins 3 fois, il apparaît qu'une politique d'insémination sur chaleurs détectées s'accompagne d'une augmentation significative du pourcentage de gestation par rapport à une politique d'insémination systématique (34 vs 21 %). Quelque soit le protocole ou la politique d'insémination, les animaux infertiles ont un taux de gestation comparable à celui des animaux fertiles (25,8 vs 26,4 %). Indépendamment du numéro d'insémination, l'insémination sur chaleurs observées se traduit par une augmentation significative du taux de gestation quand les vaches ont été inséminées sur chaleurs observées après avoir été traitées au moyen du protocole Heatsynch (35 vs 17 %). Semblable différence n'est pas constatée après traitement des vaches au moyen du protocole Ovsynch (25 vs 24 %). Chez les animaux infertiles, l'insémination sur chaleurs observées après traitement au moyen du protocole Heatsynch se traduit par une augmentation du taux de gestation (33 vs 21 %). A l'inverse, semblable politique s'accompagne d'une diminution du taux de gestation après traitement des vaches au moyen du protocole Ovsynch (9 vs 24 %).

A la différence du protocole Ovsynch, le protocole de type Heatsynch s'accompagne d'une augmentation très nette du pourcentage de vaches détectées en chaleurs (59 vs 13 %). Double peut en être la raison. Le protocole Ovsynch pourrait s'accompagner d'un développement insuffisant du follicule dominant. Il en résulterait une synthèse moindre d'oestrogènes (Brantmeier et al. J.Dairy Sci. 1987). A l'inverse, le protocole de type Heatsynch comporte l'injection de cypionate d'oestradiol qui est de nature à stimuler les manifestations oestrales (Pancarci et al. J.Dairy Sci. 2002,85,122-131) mais aussi la tonicité utérine, la sécrétion de mucus et donc indirectement la fertilité. Compte tenu des résultats observés, ces auteurs recommandent de pratiquer une insémination des vaches détectées en chaleurs et le cas non échéant d'inséminer systématiquement les animaux infertiles ou non traitées au moyen du protocole Ovsynch ou Heatsynch.

● Traitements en phase dioestrale

La majorité des études relatives à l'utilisation de la GnRH 4 à 14 jours après l'insémination ou une chaleur non accompagnée d'insémination concernent des animaux inséminés pour la 1ère ou 2ème fois

(Humblot et Thibier 1981, Leslie et al. 1986, Mac Millan et al. 1986, Bostedt et Okyere 1988, Jubb et al. 1990, Ryan et al. 1991, Lajili et al. 1991, Rettmer et al. 1992a, Rettmer et al. 1992b). On observe une augmentation de fertilité de 5 à 16 % d'après certaines études et une réduction non significative de 2 à 7 % d'après d'autres études (Tableau 6). Ce traitement a beaucoup moins souvent été évalué chez des repeat-breeders (Bhosrekar et al. 1986, Bentele et al. 1987).

Divers facteurs d'interprétation des résultats doivent être pris en considération.

Le stade du cycle exerce une certaine influence, une augmentation du pourcentage de gestation n'étant habituellement observée que si le traitement est effectué entre le 11ème et le 13ème jour du cycle. Une étude plus spécifique de l'influence de ce facteur (Mac Millan et al. 1986) a même démontré que l'injection de 5 µg de busereline réalisée 1 à 6 jours après la dernière insémination réduisait le pourcentage de gestation de 10,1 %.

L'effet positif de la busereline est plus important lorsqu'elle fait suite à une insémination réalisée pendant l'oestrus induit au moyen d'une prostaglandine (Lajili et al. 1991).

La dose exerce également un effet pour un stade du cycle déterminé. Entre le 11ème et le 13ème jour du cycle, l'injection de 5 µg de Busereline exerce un effet négatif alors qu'une dose de 10 µg améliore significativement le taux de gestation de 11,5 % (Mac Millan et al. 1986). A l'inverse, aucune différence significative du pourcentage de gestation n'a été observée après injection de 100 ou 200 µg d'acétate de fertiréline à des génisses et des vaches de races viandeuses. Cet effet de la dose semble dépendre de l'exploitation (Rettmer et al. 1992a).

L'âge de l'animal pourrait exercer également une influence. En effet, une amélioration significative du pourcentage de gestation a été observée chez des primipares mais pas chez des pluripares (Ryan et al. 1991).

L'influence de l'intervalle entre le vêlage et la première insémination a également été étudiée (Ryan et al. 1991). Il apparaît que le double traitement des animaux lors de l'insémination et 12 jours plus tard n'améliore significativement le pourcentage de gestation que si les animaux ont été inséminés 40 à 59 jours (50,3 vs 36,5) ou 80 à 99 jours (55,4 vs 40,6) après le vêlage. Une telle influence n'est cependant pas unanimement rapportée (Leslie et al. 1986).

Enfin, la présence de différences entre exploitations laisse supposer l'intervention d'autres facteurs encore inconnus voire non maîtrisés (Rettmer et al. 1992a).

Plusieurs publications ont également fait état d'une amélioration du pourcentage de gestation lors de l'insémination réalisée au cours de l'oestrus suivant le traitement (Humblot et Thibier 1981, Thibier et al. 1985, Bhosrekar et al. 1986, Mac Millan et al. 1986). L'importance de cet effet semblerait dépendre de la dose de GnRH et du stade du cycle auquel le traitement a été réalisé. Il est à mettre en rapport avec la relation positive établie entre une progestéronémie élevée au cours de la phase dioestrale précédant l'insémination et le taux de gestation obtenu (Folman et al. 1973, Fonseca et al. 1983).

Une augmentation de 1 à 6 jours de la durée du cycle suite à l'injection de la GnRH en phase interoestrale a été rapportée par certains auteurs (Rettmer et al. 1992a, Milvae et al. 1984, Mac Millan et al. 1985, Mac Millan et al. 1986, Bostedt et Okyere 1988) mais non par d'autres (Seguin et al. 1977, Thibier et al. 1985). Cet allongement ne concerne que les injections réalisées après le 7ème (Mac Millan et al. 1986) ou le 10ème jour du cycle (Mac Millan et al. 1985).

Les résultats opposés rapportés dans la littérature remettent en question le bien fondé de l'utilisation de la GnRH dans le traitement curatif ou préventif de l'infertilité (Lewis et al. 1990). Cependant, certains auteurs estiment qu'une augmentation de 2 et 5 % d'un taux de gestation respectivement inférieur ou égal à 45 % et supérieur ou égal à 60 % est suffisante pour amortir le coût du traitement et autorise

dans le premier cas à traiter systématiquement les animaux lors de la première ou deuxième insémination et dans le second cas à réserver le traitement à la deuxième insémination ou aux inséminations ultérieures (Weaver et al. 1988).

## **6. Pour en savoir plus**

- Hanzen Ch., Drion PV, Lourtie O., Depierreux C., Christians E. La mortalité embryonnaire. 1. Aspects cliniques et facteurs étiologiques dans l'espèce bovine. Ann.Méd.Vét., 1999, 143, 91-118. <http://hdl.handle.net/2268/8978>

- Hanzen Ch., Lourtie O., Drion PV, Depierreux C., Christians E. La mortalité embryonnaire. 2. Implications hormonales. Ann.Méd.Vét., 1999, 143, 179-189. <http://hdl.handle.net/2268/8977>

- Propriétés physiologiques de la gonadolibérine (GnRH) Hanzen Ch. 1988. <http://hdl.handle.net/2268/13495>

- Hanzen Ch, Houtain JY, Laurent Y. Mise au point relative à l'utilisation de la gonadolibérine en reproduction bovine. 1. Justifications physiologiques de son application au traitement de l'infertilité. Le Médecin Vétérinaire du Québec. 1996, 26, 7-10. <http://hdl.handle.net/2268/13919>

Hanzen Ch, Houtain JY, Laurent Y. Mise au point relative à l'utilisation de la gonadolibérine en reproduction bovine. 2. Domaines d'applications cliniques. Le Médecin Vétérinaire du Québec. 1996, 26, 47-54. <http://hdl.handle.net/2268/13918>

Sur l'impact des radicaux libres sur les performances de reproduction : <http://www.inra.fr/productions-animales/an2002/num221/aurouss/ba221.htm>

Sur les protéines du stress : <http://www.inra.fr/productions-animales/an2001/num211/david/jd211.htm>

## 7. Tableaux

Tableau 1 : Fréquence de la mortalité embryonnaire tardive déterminée par échographie et par palpation manuelle.

N	Diagnostic/symptômes	Stade (J)	%	Références
	Echographie			
309	Echographie	NP	16	Humblot et Thibier 1984
34	Echographie	10-24	12	Kastelic et al. 1989
200	Echographie	16-31	30	Badtram et al. 1991
148	Echographie	21-33	16	Pieterse et al. 1990
100	Echographie	21-60	5	Chaffaux et al. 1986
201	Echographie	21-70	2	Taverne et al. 1985
304	Echographie	24-81	6	Hanzen et Delsaux 1987
85	Echographie	26-33	10	Willemse et Taverne 1989
1766	Echographie	26-70	9	Hanzen et Laurent 1991
	Palpation manuelle			
19411	GMF	28 - 77	8.4	Thurmond et Picanso 1993b
679	GMF	30 - 45	6.5	Alexander et al. 1995
1393	PVA	30 - 68	17	White et al. 1989
802		<35 J	5.8	Paisley et al. 1978
138	PFL	35 - 42	5.8	Abbitt et al. 1978
139	PFL+PVA	35 - 42	6.5	Abbitt et al. 1978
144	PFL+GMF	35 - 42	9.0	Abbitt et al. 1978
802		35-45 J	6	Paisley et al. 1978
482	GMF ou PVA ou PFL	35-51	8.5	Abbitt et al. 1978
341	GMF ou PVA ou PFL	37 - 43	7.3	Warnick et al. 1995
3022	PFL+CJ	42- 150	9.6	Lopez-Gatius et al. 1996
85	GMF+PVA+PFL	42 - 46	9.5	Franco et al. 1987
85	GMF+PVA+PFL	42 - 46	11.8	Franco et al. 1987
445	GMF ou PVA ou PFL	44 - 50	4.7	Warnick et al. 1995
802		> 45 J	0.9	Paisley et al. 1978
7500	GMF	<50 J	7.2	Vaillancourt et al. 1979
	GMF	> 50 J	5.6	Vaillancourt et al. 1979
385	GMF ou PVA ou PFL	51 - 57	3.1	Warnick et al. 1995
410	GMF ou PVA ou PFL	52-70	3.7	Abbitt et al. 1978
326	GMF ou PVA ou PFL	58 - 64	3.7	Warnick et al. 1995
180	GMF ou PVA ou PFL	65 - 71	2.7	Warnick et al. 1995
277	GMF ou PVA ou PFL	> 72	1.8	Warnick et al. 1995

GMF , glissement des membranes fœtales

PVA , palpation de la vésicule amniotique

PFL , palpation d'une fluctuation liquidienne

CJ : corps jaune

Tableau 2 : Types de gonadotrophine et d'agonistes utilisés en médecine vétérinaire

ND	Firme	Nom
Fertagyl	Intervet	Gonadotrophine
Cystorelin	Ceva	Gonadotrophine diacetate
Factrel	Ayerst	Gonadotrophine hydrochloride
Receptal	Hoechst	Buseréline
Ovalyse	Upjohn	Fertiréline acétate
Fertireline	Takeda	Fertiréline acétate

Gonadotrophine: GnRH naturelle, Buseréline, Fertiréline: GnRH de synthèse

Tableau 3 : Effet de la GnRH sur le pourcentage de gestation en première insémination réalisée sur chaleurs naturelles

N	GnRH	Dose ( $\mu$ g)	% G (5)	% G (6)	Diff	Références
1302	B	10	57	63	+ 6	S Fielden et Moller 1983
1194	F	100	50	57	+ 7	S Nakao et al. 1983
1533	B	10	42	49	+ 7	S Ryan et al. 1991 (1)
218	G	125	50	59	+ 9	S Schels et Mostafawi 1978
576	B	10	49	58	+ 9	S Moller et Fielden 1981
397	B	10	56	67	+ 11	S Leidl et al. 1979
278	G	1000	68	81	+ 13	S Grunert et al. 1978
214	G	1000	68	81	+ 13	S Goldbeck 1976
133	G	100	32	48	+ 16	S Lee et al. 1983
143 (3)	B	10	30-33	56-64	+ 23-34	S Rosenberg et al. 1991
	G	100-250				
546	G	100	52	52	0	NS Pennington et al. 1985
200	G	1000	55	56	+ 1	NS Gunzler et al. 1974
328	G	100	46	47	+ 1	NS Stevenson et al. 1984
3502	F	250	54	59	+ 5	NS Anderson et Malmo 1985
119	B	10	42	52	+ 10	NS Von Holtenmoller 1979
400	G	400	60	71	+ 11	NS Gunzler et al. 1976
187 (4)	B	10	63-67	52-68	+ 1-11	S Rosenberg et al. 1991
	G	100-250				
59	F	100	61	75	+ 14	NS Mori et Takahashi 1978
96	G	100	56	54	- 2	NS Vahdat et Whitmore 1980
258	G	100	47	44	- 3	NS Lewis et al. 1990
1500	B	10	48	41	- 7	NS Chenault 1990 (2)
	F	25-100				

G: Gonadolibérine (GnRH naturelle) F: Fertireline acetate (agoniste de la GnRH)

B: Buseréline (agoniste de la GnRH)

(1) Double traitement: lors de l'insémination et 12 jours plus tard

(2) Injection directement après l'insémination

(3) Groupe d'animaux à faible fertilité traités avec la Buseréline ou avec la Gonadolibérine

(4) Groupe d'animaux à bonne fertilité traités avec la Buseréline ou avec la Gonadolibérine

(5) % de gestation des animaux témoins

(6) % de gestation des animaux traités

Tableau 4 : Effet de la GnRH (G: Gonadolibérine, F: fertiréline) sur le pourcentage de gestation (% G) en première insémination réalisée après injection de prostaglandine

N	GnRH	Dose ( $\mu$ g)	% G (5)	% G (6)	Diff		Références
86	G	100	23	42	+ 19	S	Lucy et Stevenson 1986 (1)
86	F	50	71	77	+ 6	NS	Coleman et al. 1988 (2)
2352	G	100	28	26	- 2	NS	Archbald et al. 1992 (3)
325	G	100	38	36	- 2	NS	Mee et al. 1990 (4)

(1) Injection de la GnRH 72 h. après la prostaglandine (6 h. avant l'insémination)

(2) Injection de GnRH lors de l'insémination réalisée après détection de l'oestrus

(3) Traitement au moyen de la GnRH lors de l'insémination effectuée 72 à 80 h après injection d'une prostaglandine sans observation d'oestrus

(4) Oestrus induit par PGF mais insémination et traitement 1 h ou 12 à 16 h. après l'oestrus observé

(5) % de gestation des animaux témoins

(6) % de gestation des animaux traités

Tableau 5 : Comparaison de l'effet de l'administration de la GnRH le % de gestation (% G) chez des animaux repeat-breeders.

N	N° IA	GnRH	Dose ( $\mu$ g))	% G (3)	% G (4)	Diff		Références
1482	3 ou 4ème	G	100	33	40	+ 7	S	Stevenson et al. 1990 (1)
961	4ème	G	100	38	47	+ 9	S	Phatak et al. 1986
513	3 et 4ème	G	100	31	44	+ 13	S	Stevenson et al. 1988
283	4ème	G	100	40	56	+ 16	S	Roussel et al. 1988
346	>3	G	100	48	73	+ 25	S	Lee et al. 1983
963	3ème	G	100	39	43	+ 4	NS	Bondurant et al. 1991
92		G	100	46	55	+ 9	NS	Pennington et al. 1985 (2)
117	3ème	G	100	51	66	+ 15	NS	Stevenson et al. 1984
164	> 2	G	100	54	44	- 10	NS	Swanson et Young 1990
61	3ème	G	100	45	34	- 11	NS	Lewis et al. 1990
361	3ème	F	250	53	44	- 11	NS	Anderson et Malmo 1985
127	> 2	G	100	55	40	- 15	NS	Young et Swanson 1988

G: gonadolibérine, F: Fertiréline

(1) Simple ou double insémination réalisée de 12 à 16 heures d'intervalle

(2) Traitement des animaux 0 à 12 heures avant l'insémination

(3) % de gestation des animaux témoins

(4) % de gestation des animaux traités

Tableau 6 : Comparaison de l'effet d'une injection de gonadolibérine en phase dioestrale sur le pourcentage de gestation lors de l'insémination précédent ou suivant le traitement

N	N° IA		GnRH	µg	% G (8)	% G (9)	Diff	Références		
38	GV	1	J11-J13	F	200	58	58	+ 0	Rettmer et al. 1992b (1)	
113	VL	1	J7-J13	B	10	63	68	+ 5	S	Mac Millan et al., 1986
5										
153	VL	2	J12	B	20	54	59	+ 5	S	Bostedt et Okyere 1988
601	GV	1	J11-J14	F	100-200	43	50	+ 7	S	Rettmer et al. 1992a (2)
153	VL	1	J0+J12	B	10	42	50	+ 9	S	Ryan et al. 1991 (3)
3										
60	VL	2	J12	B	20	41	53	+ 12	S	Humblot et Thibier 1981 (4)
				G	1000					
81	VL	3	J13	B	20	34	48	+ 14	S	Bhosrekar, et al. 1986 (4)
210	VL	1,>1	J11-J14	B	10	44	60	+ 16	S	Lajili et al. 1991 (5)
149	VL	3	J9-J13	B	20	39	43	+ 4	NS	Bentele et al. 1987
185	VL	1	J4	G	250	56	54	- 2	NS	Leslie et al. 1986
145	VV	1	J13-J14	F	100-200	71	68	- 3	NS	Rettmer et al. 1992a (7)
200	VL	1	J1-J13	B	5	66	62	- 4	NS	MacMillan et al. 1986
1										
148		2	J9-J12	B	20	57	50	- 7	NS	Bentele et al. 1987

F: Acétate de Fertireline, B: Busereline, G: Gonadoreline

VV: Vaches viandeuses, VL, Vaches laitières, GV: Génisses viandeuses

(1) Synchronisation au moyen de deux injections de prostaglandines à 10 jours d'intervalle.

(2) Synchronisation au moyen d'acétate de mélengestrol (14 jours) et d'une prostaglandine au 17ème jour suivant la fin du traitement.

(3) Traitement des animaux lors de l'insémination ou lors de l'insémination et 12 jours plus tard.

(4) Pourcentage de gestation obtenu lors de l'insémination suivant le traitement réalisé 12 à 13 jours après la chaleur précédante.

(5) Insémination sur chaleurs naturelles ou induites par une injection de prostaglandine.

(6) Synchronisation au moyen d'un implant de norgestomet.

(7) Synchronisation au moyen d'une injection de prostaglandine.

(8) % de gestation des animaux témoins

(9) % de gestation des animaux traités

Tableau 7 : Effets de divers facteurs sur le risque de non-fécondation (NF) de mortalité embryonnaire précoce (Mep) ou tardive (Met) (Adapté de Hanzen et al. Ann.Méd.Vét., 1999a, 143, 91-118).

		NF	Mep	Met
<b>1. Facteurs propres à l'embryon</b>				
anomalies chromosomiques	altérations du caryotype ou chromosomique		+	
sexe de l'embryon	sexé mâle			+
nombre d'embryons	gemellité simple ou multiple		+	+
	transfert de plusieurs embryons		-	
<b>2. Facteurs parentaux</b>				
Facteurs paternels	qualité du sperme, FIV	+	+	
Environnement de l'oviducte	facteurs de croissance, motilité	+	+	
Environnement utérin	protéines, glucose, hormones, minéraux		+	+
Race de la mère	inbreeding		+	+
Age de la mère		?	?	?
Nombre d'inséminations	repeat-breeding		+	+
Timing de l'insémination	IA par rapport à l'ovulation		+	+
<b>3. La fécondation (F) in vitro</b>				
Transfert d'embryons in vitro			+	+
Congélation, clonage, sexage de l'embryon			+	+
Qualité de l'ovocyte	statut physiologique et diamètre du follicule, moment du prélèvement,	+	+	+
<b>4. Les facteurs biologiques</b>				
Endométrites, salpingites...		+	+	+
Contamination de l'ovocyte	BHV1, BVD	+		
Contamination de l'embryon	germes à tropisme génital		+	+
Contamination du matériel de la FIV	ovaires, oviductes, sperme, sérum		+	+
<b>5. Facteurs environnementaux</b>				
Alimentation	balance énergétique négative	+	+	
	urée	+	+	+
	balance énergétique positive (brebis)		+	+
	mycotoxines, séralénone		+	+
	gossypol		+	+
Température	régions tropicales	+	+	
Palpation rectale : méthode	glissement des membranes foetales			+
Palpation : stade de gestation	avant le 50 <sup>ème</sup> jour			+
Traitements de superovulation		+	+	
Prostaglandines			+	+
Zéranol				+